

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



1. Tiltenkt bruk

Til bruk ved *in vitro*-diagnostikk. RIDA®UNITY Norovirus I & II -testen, utført på RIDA®UNITY-plattformen, er en multiplex sanntids RT-PCR for direkte kvalitativ påvisning og differensiering av RNA fra norovirus av genogruppe I (GI) og II (GII) i ubehandlede humane avføringsprøver fra personer med tegn og symptomer på akutt gastrointestinal infeksjon.

RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen er tiltenkt for å støtte diagnostisering av infeksjoner fra norovirus av genogruppe I (GI) og II (GII) hos pasienter med symptomer på gastrointestinal infeksjon i forbindelse med andre kliniske funn og laboratoriefunn.

Negative resultater utelukker ikke norovirusinfeksjon, og bør ikke brukes som eneste grunnlag for diagnose.

Produktet er tiltenkt for profesjonell bruk.

2. Sammendrag og forklaring av testen

Norovirus er en av verdens vanligste årsaker til ikke-bakteriell gastroenteritt hos mennesker i alle aldersgrupper og resulterer i rundt 70 000 til 200 000 dødsfall hvert år.⁽¹⁾ De er ansvarlige for omtrent 20 % av alle tilfeller av akutt gastroenteritt over hele verden. Humane norovirus, tidligere kalt Norwalk-virus, ble først identifisert i 1972 i avføringsprøver samlet inn under et utbrudd av gastroenteritt i Norwalk, Ohio, USA, noe som gjør dem til de første viruspatogenene som har vist seg å forårsake gastroenteritt.⁽²⁾

Norovirus tilhører familien *Caliciviridae* og er små, nakne virus med enkelttrådet RNA (ssRNA). Basert på de genetiske sekvensene til viral RNA-avhengig RNA-polymerase og kapsidproteinet, er norovirus delt inn i 10 genogrupper (GI til GX), med for øyeblikket mer enn 49 forskjellige genotyper (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI og 1 genotype hver for GVII, GVIII, GIX [tidligere GII.15] og GX), og en rekke forskjellige stammer. Genogruppene I, II, og iblant IV, er de mest alvorlige når det gjelder patogenitet hos mennesker.⁽¹⁾ I USA er over 99 % av alle norovirusutbrudd forårsaket av GI- og GII-virus.⁽³⁾ Gastroenteritt forårsaket av norovirus skyldes ofte tilstedeværelsen av virioner i avføring og oppkast, mens det trengs bare 10 infeksjose partikler for å forårsake sykdom. Den høye miljøstabiliteten og den lave infeksjonsdosen gjør norovirusene til svært overførbare virus.⁽⁴⁾ Typiske symptomer på norovirusinfeksjoner er diaré, oppkast og kvalme.⁽³⁾

3. Testprinsipp

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II multiplex sanntids RT-PCR er en molekylær diagnostisk PCR for direkte kvalitativ påvisning og differensiering av RNA fra norovirus genogruppe I (GI) og RNA fra norovirus genogruppe II (GII) og RNA fra GIV i humane avføringsprøver. Behandlingen er fullstendig automatisert med RIDA[®]UNITY-systemet. Først ekstraheres nukleinsyrene ved hjelp av RIDA[®]UNITY Universal Extraction Kit og Internal Control Kit. Måsekvensen detekteres i et ett-trinns sanntids RT-PCR-format, det vil si at revers transkripsjon (RT) og påfølgende PCR utføres i ett reaksjonshetteglass. I prosessen transkriberes det isolerte RNA-et til cDNA ved hjelp av revers transkriptase. Genfragmentene spesifikke for norovirus GI og GII/GIV blir deretter amplifisert ved bruk av sanntids PCR.

De amplifiserte måsekvensene (ORF1/ORF2-forbindelsesregion) detekteres ved å bruke hydrolysesondene festet til en sluker i den ene enden og til et fluorescerende rapporteringsfargestoff (fluorofor) i den andre enden. Sondene hybridiserer til ampikonet i nærvær av en måsekvens. I løpet av forlengelsestrinnet separerer Taq Polymerase det rapporterende stoffet fra slukkeren. Det rapporterende stoffet sender ut et fluorescerende signal som detekteres av den optiske enheten på et sanntids-PCR-instrument. Det fluorescerende signalet øker med mengden av dannede ampikon. RIDA[®]UNITY Internal Control Kit må brukes samtidig for å kunne kontrollere prøveklargjøring og/eller potensiell PCR-hemning.

4. Medfølgende reagenser

Reagensene i settet er tilstrekkelige for 96 påvisninger.*

Tab. 1: Medfølgende reagenser

REF	Reagens	Mengde		Lokkfarge
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 x	1935 µL	gul, klar til bruk
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 x	350 µL	rød, klar til bruk
UNZ1415PC	Positive Control	1 x	200 µL	blå, klar til bruk
UNZ1415NC	Negative Control	1 x	450 µL	hvit, klar til bruk

* Ved gjentatt bruk og i mindre serier kan antall reaksjoner reduseres.

5. Oppbevaringsinstruksjoner

- Følg retningslinjene for håndtering i tabell 2, og plasser settet straks til oppbevaring etter bruk i henhold til angitt informasjon.
- Alle reagenser må oppbevares mørkt ved -16 °C til -28 °C og kan (hvis de er uåpnet) brukes frem til utløpsdatoen som er angitt på etiketten. Kvalitetsgarantien er ikke lenger gyldig etter utløpsdatoen.
- Alle reagenser bør tines forsiktig før bruk (f.eks. i kjøleskap ved 2-8 °C).
- Gjentatt frysing og tining opptil 8 ganger påvirker ikke testegenskapene.

Tab. 2: Oppbevaringsforhold og informasjon

	Oppbevaringstemperatur	Maksimal lagringstid
uåpnet	-16 til -28 °C	Kan brukes frem til den angitte utløpsdatoen
åpnet	-16 til -28 °C	8 fryse-tinesykluser

6. Nødvendige reagenser som ikke medfølger

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex sanntids RT-PCR-testen er utelukkende beregnet på bruk med RIDA®UNITY-systemet. Følgende produkter er absolutt nødvendige for riktig bruk:

6.1 Reagenser

Følgende reagenser er nødvendige for å utføre RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen:

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

6.2 Laboratorieutstyr

Følgende utstyr er nødvendig for å utføre RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen:

Utstyr
RIDA®UNITY-system; artikkelnummer: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY forbruksvarer (tupper, plater, reaksjonsflasker, film). Se bruksanvisningen for RIDA®UNITY-systemet, og bestill informasjon om forbruksartikler.
Vortexer
Bordplatesentrifuge
Pulverfrie engangshansker
Ekstern cyclus (mulig systemforbedring)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

RIDA®UNITY Norovirus I & II-settet kan brukes sammen med andre kompatible cyclere. Alternative sanntids-PCR-instrumenter må verifiseres/valideres av brukeren. Ta kontakt med R-Biopharm AG på pcr@r-biopharm.de for å verifisere kompatibiliteten.

7. Advarsler og forsiktighetsregler for brukerne

Til bruk ved *in vitro*-diagnostikk.

Denne testen må kun utføres av kvalifisert laboratoriepersonell. Retningslinjene for arbeid i medisinske laboratorier må følges.

Brukerhåndboken må alltid følges nøye ved utførelse av denne testen.

Ikke pipettér prøver eller reagenser med munnen. Unngå kontakt med ødelagt hud og slimhinner.

Bruk personlig verneutstyr (passende hansker, labfrakk, vernebriller) når du håndterer reagenser og prøver, og vask hendene etter at testen er fullført.

Ikke røyk, spis eller drikk i områder der prøver behandles.

Unngå å forurense prøvene og komponentene i settet med mikrober og nukleaser (DNase/RNase).

Kliniske prøver må betraktes som potensielt smittsomme og må avhendes på en hensiktsmessig måte, i likhet med alle reagenser og materialer som kommer i kontakt med potensielt smittefarlige prøver.

Ikke bytt ut eller kombiner komponentene (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) fra ett settparti med komponenter fra et annet parti.

Testsettet kan brukes i 8 uker lenge etter første åpning (settet kan lastes på nytt opptil 6 ganger). Ikke bruk testsettet etter utløpsdatoen. Disse spesifikasjonene kontrolleres også av RIDA®UNITY-systemet.

Brukerne er ansvarlige for riktig avhending av alle reagenser og materialer etter bruk. Følg nasjonale forskrifter for avhending.

Ytterligere informasjon om sikkerhetsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS) finner du under varenummeret på <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

For brukere i Den europeiske union: Rapportér alle alvorlige bivirkninger forbundet med produktet til R-Biopharm AG og de relevante nasjonale myndighetene.

8. Innsamling og oppbevaring av prøver

Det anbefales å bruke ferskt prøvemateriale for å oppnå best mulig ytelse av RIDA®UNITY Norovirus I & II-analysen.

Unngå gjentatt frysing og tining av prøven.

Ikke samle avføringsprøvene i transportbeholdere som inneholder transportmedier med konserveringsmidler, dyresera, metallioner, oksidasjonsagenter eller rengjøringsmidler, siden slike stoffer kan forstyrre RIDA®UNITY-testene.

Det anbefales å lage alikvoter av prøvene for å unngå gjentatt tining og frysing. Frosne prøver skal tines umiddelbart før ekstraksjon for å hindre nedbrytning av nukleinsyrene.

Følg instruksjonene for lagring av prøver i tabell 3 til 6.

Tab. 3: Oppbevaring av prøver - påvisning av norovirus GI

Opprinnelige prøver - avføring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 dager	≤ 9 dager	≤ 6 måneder

I eluat (fra avføring)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 timer	≤ 36 timer	≤ 1 måned

Ved en lagringstemperatur på -20 °C / -80 °C påvirkes ikke testegenskapene av gjentatt frysing/tining av avføringsprøven opptil 5 ganger.

Ved en lagringstemperatur på -20 °C påvirkes ikke testegenskapene av gjentatt frysing/tining av eluatet (fra avføring) opptil 3 ganger.

Tab. 4: Oppbevaring av prøver - påvisning av norovirus GII

Opprinnelige prøver - avføring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 dager	≤ 9 dager	≤ 6 måneder

I eluat (fra avføring)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 timer	≤ 36 timer	≤ 1 måned

Ved en lagringstemperatur på -20 °C / -80 °C påvirkes ikke testegenskapene av gjentatt frysing/tining av avføringsprøven opptil 5 ganger.

Ved en lagringstemperatur på -20 °C påvirkes ikke testegenskapene av gjentatt frysing/tining av eluatet (fra avføring) opptil 3 ganger.

8.1 DNA-preparering fra avføringsprøver

For å isolere DNA fra avføringsprøver, bruk RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Følg de korrekte prosedyrene i bruksanvisningen for RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (seksjon: Nukleinsyrepreparering fra avføringsprøver).

9. Testprosedyre

Plasser både prøvene og reagensene i RIDA®UNITY Norovirus I & II på RIDA®UNITY-systemet i begynnelsen av bruken.

Bland tilstrekkelig **Reaction Mix**, **Negative Control** og **Positive Control** på forhånd ved hjelp av en vortekser. Ikke virvle opp **Enzyme Mix**. Etterpå sentrifugeres alle komponentene kort.

PCR-rørene for prøvene som skal undersøkes, skal på forhånd plasseres i den integrerte PCR-cycleren.

Bærere er tilgjengelige for riktig lasting av systemet med reagenser og forbruksartikler. For lasteprosessen, følg instruksjonene til RIDA®UNITY-systemet. Følg de relevante avsnittene i håndboken til RIDA®UNITY-systemet (seksjon: Utføre en kjøring).

RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen kan bare brukes i kombinasjon med RIDA®UNITY Internal Control Kit. Dette muliggjør tidlig gjenkjenning av potensiell PCR-hemming, verifisering av reagensintegritet og bekreftelse av vellykket nukleinsyreekstraksjon. Prosedyren er beskrevet i bruksanvisningen til RIDA®UNITY Internal Control Kit (seksjon: Testprosedyre).

Automatisert behandling er beskrevet i RIDA®UNITY-systemhåndboken (seksjon: Utføre en kjøring).

9.1 Enhetsinnstillinger

9.1.1 Universal sanntids PCR-profil

For å harmonisere RIDA®UNITY-analysene, ble RIDA®UNITY Norovirus I & II-analysen verifisert eksklusivt i den universelle profilen. Dette gjør det mulig å kombinere DNA- og RNA-analyser med hverandre. Omvendt transkripsjon kommer derfor først i den universelle profilen.

Tab. 7: Universal sanntids-PCR-profil for RIDA®UNITY

<u>Omvendt transkripsjon</u>	10 min, 58 °C
Første denaturering	1 min, 95 °C
Sykluser	45 sykluser
<u>PCR</u> Denaturering	10 sek, 95 °C
Gløding/forlengelse	15 sek, 60 °C
Temperaturrendringshastighet/rampehastighet	Maksimal

Merk: Gløding og forlengelse skjer i samme trinn.

Tab. 8: Universell sanntids PCR-profil for CFX96™ Dx

<u>Omvendt transkripsjon</u>	10 min, 58 °C
Første denaturering	1 min, 95 °C
Sykluser	45 sykluser
<u>PCR</u> Denaturering	15 sek, 95 °C
Gløding/forlengelse	30 sek, 60 °C
Temperaturrendringshastighet/rampehastighet	Maksimal

Merk: Gløding og forlengelse skjer i samme trinn.

9.2 Innstilling av deteksjonskanal

Tab. 9: Valg av passende deteksjonskanaler

Sanntids-PCR-instrument	Deteksjon	Deteksjonskanal	Merk
R-Biopharm RIDA®UNITY	Norovirus GII	FAM	SEEK-kanal GGII
	Internkontroll	HEX	SEEK-kanal ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK-kanal GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Norovirus GII	FAM	SEEK-kanal GGII
	Internkontroll	VIC	SEEK-kanal ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK-kanal GGI

10. Kvalitetskontroll - Indikasjon på ustabilitet eller utløpte reagenser

Prøvene evalueres ved hjelp av RIDA®SEEK analytisk programvare fra RIDA®UNITY-systemet. **Negative Control** og **Positive Control** må vise de riktige resultatene (se tab. 9).

Positive Control er til stede i en konsentrasjon på 10^3 kopier/ μ L. Den brukes i en total mengde på 5×10^3 kopier i hver PCR-kjøring.

Negative Control inneholder allerede RIDA®UNITY Internal Control. Siden kontrollene ikke inneholder en mal, kan det ikke forventes noen signaler i målkanalene. Positive signaler i IC-kanalen som den interne kontrollen detekteres med, er avgjørende (se tab. 10).

Tab.10: En gyldig PCR-kjøring må oppfylle følgende vilkår:

Prøve	Resultat	IC Ct	Målggen Ct
Positiv kontroll	+	N/A*	Se analysesertifikatet (Certificate of Analysis, CoA)
Negativ kontroll	-	Ct > 20	0

*Under visse omstendigheter kan IC-kanalen ha et positivt signal i den positive kontrollen og bør derfor ikke evalueres.

Hvis den positive kontrollen ikke er i det angitte Ct-området, men den negative kontrollen er gyldig, må alle reaksjoner analyseres på nytt i PCR.

Hvis den negative kontrollen ikke er negativ, men den positive kontrollen er gyldig, må alle reaksjoner, inkludert kontrollene, analyseres på nytt i PCR.

Om de spesifiserte verdiene ikke oppnås, kontroller følgende elementer før du gjentar testen:

- Utløpsdatoen for de anvendte reagensene
- Funksjonaliteten til utstyret som brukes
- At testprosedyren ble gjennomført på riktig måte

Hvis betingelsene fortsatt ikke er oppfylt etter gjentatt test, må du kontakte produsenten eller din lokale R-Biopharm-forhandler.

11. Evaluering og tolkning

Prøveevaluering og tolkning gjøres ved hjelp av RIDA®UNITY-systemets analytiske programvare, RIDA®SEEK.

Det finnes ingen gjeldende internasjonalt anerkjent referansemetode eller referansemateriale for standardisering. Kontrollmaterialene kan spores metrologisk til interne R-Biopharm AG-standarder basert på spesifikke, syntetiske RNA-amplikoner.

For ytterligere informasjon om metrologisk sporbarhet, kontakt R-Biopharm AG.

Spesifiserte verdier, måleområder og ytterligere detaljer finnes i vedlagte analysesertifikat (Certificate of Analysis, CoA).

Tab.11: Tolkning av resultater*

Påvisning av			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Resultat
+	-	+/-	Norovirus GII ¹ påviselig
-	+	+/-	Norovirus GI påviselig
+	+	+/-	Norovirus GII ¹ og norovirus GI påviselige
-	-	+	Målgener ikke detekterbare
-	-	-	Ugyldig

*+= positiv

- = negativ

¹ se Metodens begrensninger (avsnitt 10).

En prøve er positiv hvis prøvens RNA og **Internal Control** viser et amplifikasjonssignal i deteksjonssystemet.

En prøve er også positiv hvis prøvens RNA viser et amplifikasjonssignal, men ingen amplifikasjonssignal for **Internal Control** vises i deteksjonssystemet. Deteksjon av **Internal Control** er ikke nødvendig i dette tilfellet, fordi høye amplikonkonsentrasjoner kan forårsake et svakt eller fraværende signal av **Internal Control**.

En prøve er negativ hvis prøvens RNA ikke viser et amplifikasjonssignal, men et amplifikasjonssignal for **Internal Control** er synlig i deteksjonssystemet. Inhibering av PCR-reaksjonen og tidligere ekstraksjon kan utelukkes ved påvisning av **Internal Control**.

En prøve er ugyldig hvis prøvens RNA og **Internal Control** ikke viser amplifikasjonssignal i deteksjonssystemet. Det er inhibitorer i prøven, eller det har oppstått en feil under ekstraksjonsprosessen.

12. Metodens begrensninger

1. RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen påviser RNA fra norovirus GI og norovirus GII i ubehandlede humane avføringsprøver. En sammenheng mellom nivået av den målte Ct-verdien og forekomsten eller alvorlighetsgraden av kliniske symptomer kan ikke utledes fra dette. Resultatet må alltid tolkes i kombinasjon med alle foreliggende kliniske symptomer.
2. Diagnosen skal ikke baseres på resultatet av den molekylærbiologiske analysen alene, men det skal alltid tas hensyn til pasientens medisinske anamnese og symptomer.
3. Denne testen er kun godkjent for automatisk behandling ved hjelp av RIDA®UNITY-systemet.
4. Denne testen er kun verifisert og validert for avføringsprøver.
5. Feil prøvetaking, transport, lagring og håndtering eller en patogenbelastning under testens analytiske følsomhet kan gi falskt negative resultater.
6. Tilstedeværelsen av PCR-inhibitorer kan føre til falskt negative eller ugyldige resultater.
7. Som for alle PCR-baserte *in vitro*-diagnostiske tester, kan det påvises ekstremt lave konsentrasjoner av målsekvensene som er under påvisningsgrensen (LoD 95 %). Resultatene som oppnås er ikke alltid reproducerbare.
8. Mutasjoner eller polymorfismer i primer- eller sondebindingsstedene kan forstyrre påvisningen av nye eller ukjente varianter og kan føre til falskt negative resultater ved bruk av RIDA®UNITY Norovirus I & II.
9. Et positivt testresultat indikerer ikke nødvendigvis forekomsten av levedyktige organismer. Et positivt resultat indikerer at målgenene (norovirus GI og norovirus GII; ORF1/ORF2-forbindingsregion) er tilstede.
10. Norovirus i genogruppe IV, som i svært sjeldne tilfeller også kan smitte mennesker, påvises også ved bruk av RIDA®UNITY Norovirus I & II.
11. Denne analysen bør utføres i samsvar med forskriften om god laboratoriepraksis (GLP). Brukere må følge produsentens instruksjoner nøyaktig når de utfører testen.

13. Ytelsesegenskaper

13.1 Kliniske ytelsesegenskaper

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex sanntids PCR ble sammenlignet i et eksternt laboratorium med en CE-merket referansetest basert på 237 avføringsprøver fra pasienter med symptomer på gastrointestinal infeksjon.

Resultatene viser høy følsomhet og spesifisitet for påvisning av norovirus GI eller GII i humane avføringsprøver.

Tab. 12: Påvisning av norovirus GI

		Referanse-PCR		Totalt
		Positiv	Negativ	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Positiv	33	0	33
	Negativ	3	201	204
	Totalt	36	201	237

Relativ følsomhet (95 % CI)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Relativ spesifisitet (95 % CI)	100 % (98,2 % - 100 %)

Tab. 13: Påvisning av norovirus GII

		Referanse-PCR		Totalt
		Positiv	Negativ	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Positiv	126	0	126
	Negativ	4	107	111
	Totalt	130	107	237

Relativ følsomhet (95 % CI)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Relativ spesifisitet (95 % CI)	100 % (96,6 % - 100 %)

13.2 Analytiske ytelsesegenskaper

13.2.1 Påvisningsgrense (LoD 95%)

En positiv prøve (negative avføringsbasseng, tilsatt positive kliniske avføringsprøver) ble målt i fem fortynningstrinn (i 0,25-loggtrinn) for hvert mål med 20 replikater per trinn i ett parti for å bestemme LoD. Dette ble etterfulgt av en probitanalyse. Deretter ble den beregnede LoD bekreftet med 20 replikater per målgen for det beregnede fortynningstrinnet/konsentrasjonen.

For påvisning av RNA fra norovirus GI og norovirus GII med bruk av RIDA®UNITY Norovirus I & II-analysene på UNITY-systemet, ble følgende påvisningsgrenser (LoD) fastslått.

Resultatene av disse målingene er vist i tabell 15.

Tab. 15: Resultater av påvisningsgrensen for RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for parametrene norovirus GI og norovirus GII i avføringsprøver

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

(*) Relativ fortynning av stammekonsentrasjonen. Positiv klinisk prøve med Ct-område 26-27

(**) Relativ fortynning av stammekonsentrasjonen. Positiv klinisk prøve med Ct-område 30-31

LoD for parameteren norovirus GI i avføringsprøver ble fastsatt til 4.85E-04 [fortynningsfaktor].

LoD for parameteren norovirus GII i avføringsprøver ble fastsatt til 5.98E-05 [fortynningsfaktor].

For den forbedrede arbeidsflyten ved hjelp av CFX96™ Dx, ble disse LoD-verdiene bekreftet under forutsetning av at vi holder oss i et 2-3 ganger LoD-område.

13.2.2 Analytisk spesifisitet

Interfererende stoffer

Tilstedeværelsen av PCR-inhibitorer og interfererende stoffer kan føre til falskt negative eller ugyldige resultater. Derfor ble effekten av ulike stoffer som kan forekomme på grunn av utbredt bruk for gastrointestinale infeksjoner eller utbredt forekomst i de tilsvarende prøvene undersøkt.

Stoffer som potensielt kan påvirke prøvingsresultatene i betydelig grad, ble først undersøkt ved høye konsentrasjoner (tredoblet daglig dose eller simulering av det verste tilfellet) i en interferensskjerm.

Det ble ikke funnet interferens for stoffene oppført i tabell 16.

Tab. 16: Potensielt forstyrrende stoffer

Potensielt forstyrrende stoff	Konsentrasjon
Ciprofloxacin-ratiopharm® 500 mg filmdrasjerte tabletter (ciprofloxacin)	0,375 % [w/v]
Etanol	5 % basert på eluatet
Guanidiniumhydroklorid	5 % basert på eluatet
Humant blod	5 % [v/v]
Muciner	5 % [w/v]
Stearin-/palmitinsyre	40 % [w/v]

Kryssreaksjoner

Forskjellige organismer (bakterier, parasitter og virus) som er vanlig å finne i avføringsmatrisen ble undersøkt. Mikroorganismene som ble undersøkt for denne analysen ble valgt fordi de enten forekommer naturlig i avføringsprøver, eller de forårsaker tilsvarende symptomer som gastrointestinale patogener. Til analysene ble det brukt bakteriekulturer (mellom 10^7 og 10^9 CFU/mL) og soppkulturer eller viral isolering (fra positive avføringsprøver) for de bestemte organismene.

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II multiplex sanntids RT-PCR er spesifikk for norovirus GI og norovirus GII. Ingen kryssreaktivitet med følgende arter ble påvist (se tabell 17:

Tab. 17: Potensielt kryssreaktive organismer.

Organisme	Testresultat*	
	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 Presisjon

Presisjonen til RIDA®UNITY Norovirus I & II sanntids PCR-testen ble fastslått for følgende vurderingsnivåer.

Intra-assay-presisjon: Bestemmelse av 5 kontrollprøver ved bruk av 20 replikater hver på RIDA®UNITY under identiske forhold.

Inter-assay-presisjon: Bestemmelse av 5 kontrollprøver i 20 kjøringar i to eksemplarer over 10 arbeidsdager (2 kjøringar per dag) utført av forskjellige teknikere under reproduerbare forhold.

Testing for *intra*-og *inter-assay* presisjon ble utført ved hjelp av tre forskjellige partier.

De oppnådde variasjonskoeffisientene for de respektive målingene tatt ved bruk av RIDA®UNITY Norovirus I & II sanntids-PCR-testen var ikke mer enn 4,82 % på RIDA®UNITY og ikke mer enn 3,25 % på CFX96™ Dx.

Tab. 18: Resultater for presisjonen til RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for norovirus GI (RIDA®UNITY-systemet)

Ct gjennoms nittsverdi/ CV	<i>Intra-assay</i>			<i>Inter-assay</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Settparti 1	Settparti 2	Settparti 3	Settparti 1	Settparti 2	Settparti 3	Settparti 1-3	
1	Ct	25,6	24,1	24,3	30,5	29,6	29,4	29,8
	CV (%)	1,27	0,58	0,97	2,97	1,51	2,16	3,04
2	Ct	29,5	29,2	29,3	29,1	28,4	28,3	28,6
	CV (%)	0,42	1,06	0,99	3,11	2,40	2,69	3,10
3	Ct	34,8	33,3	34,1	26,4	25,5	25,4	25,8
	CV (%)	1,11	1,00	1,44	3,01	1,77	2,40	3,14
4	Ct	33,0	33,5	31,9	29,7	28,8	28,7	29,1
	CV (%)	1,50	1,30	0,93	3,17	2,34	2,75	3,35
5	Ct	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 19: Resultater for presisjonen til RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for norovirus GI (CFX96™ Dx)

Ct gjennoms nittsverdi/ CV	<i>Intra-assay</i>			<i>Inter-assay</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Settparti 1	Settparti 2	Settparti 3	Settparti 1	Settparti 2	Settparti 3	Settparti 1-3	
1	Ct	26,7	26,1	25,4	29,6	29,0	28,7	29,1
	CV (%)	0,97	0,94	0,93	2,49	1,62	1,50	2,44
2	Ct	30,3	30,0	29,6	28,2	27,4	27,2	27,6
	CV (%)	0,72	0,90	0,51	2,20	1,75	1,66	2,66
3	Ct	33,1	32,6	32,5	25,7	25,2	25,0	25,3
	CV (%)	0,81	0,74	0,82	1,91	1,40	1,48	2,13
4	Ct	32,4	31,9	31,7	28,9	28,3	28,0	28,4
	CV (%)	1,16	0,74	0,64	2,83	1,95	1,98	2,72
5	Ct	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 20: Resultater for presisjonen til RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for norovirus GII (RIDA®UNITY-systemet)

Ct gjennoms nittsverdi/ CV	<i>Intra-assay</i>			<i>Inter-assay</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Settparti 1	Settparti 2	Settparti 3	Settparti 1	Settparti 2	Settparti 3	Settparti 1-3	
1	Ct	23,4	21,7	21,7	28,4	26,9	26,8	27,4
	CV (%)	1,12	0,39	1,00	4,02	1,98	2,64	4,46
2	Ct	27,9	26,8	26,8	30,6	29,4	29,2	29,7
	CV (%)	0,76	0,77	0,75	3,42	2,33	2,64	3,69
3	Ct	33,6	31,6	32,3	23,7	22,6	22,4	22,9
	CV (%)	1,43	0,85	1,43	3,93	2,16	2,63	4,31
4	Ct	31,7	31,4	30,1	27,3	25,8	25,7	26,3
	CV (%)	1,45	1,31	0,96	4,30	2,86	3,34	4,82
5	Ct	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 21: Resultater for presisjonen til RIDA®UNITY Norovirus I & II-testen for norovirus GII (CFX96TM Dx)

Ct gjennoms nittsverdi/ CV	<i>Intra-assay</i>			<i>Inter-assay</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Settparti 1	Settparti 2	Settparti 3	Settparti 1	Settparti 2	Settparti 3	Settparti 1-3	
1	Ct	24,2	23,4	22,7	27,7	27,2	26,8	27,2
	CV (%)	1,07	1,02	1,23	3,19	2,06	1,91	2,94
2	Ct	28,6	28,3	27,8	29,1	28,3	28,1	28,5
	CV (%)	0,93	0,65	0,83	2,23	1,65	1,93	2,70
3	Ct	32,0	31,4	31,2	22,9	22,4	22,2	22,5
	CV (%)	0,85	0,90	0,61	2,28	1,42	1,57	2,45
4	Ct	30,8	30,2	30,0	26,6	26,1	25,8	26,2
	CV (%)	1,11	0,69	0,85	3,25	2,27	2,23	3,03
5	Ct	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

13.2.4 Analytisk reaktivitet

Reaktiviteten til RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex sanntids RT-PCR-testen ble undersøkt på et definert panel av forskjellige norovirusgenotyper av genogruppe I, II og IV (se tabell 22).

Tab. 22: Analytisk reaktivitetstesting

Stamme	Resultat*	
	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	-	+

*+ = positiv (minst 2 av 3 positive replikater)










- = negativt

14. Versjonshistorikk

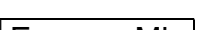

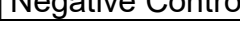
Versjonsnummer	Avsnitt og betegning
2022-08-09	Utgivelsesversjon

15. Symbolforklaring

Generelle symboler

	Til bruk ved <i>in vitro</i> -diagnostikk
	Følg bruksanvisningen
	Batchnummer
	Brukes innen
	Oppbevaringstemperatur
	Artikkelnummer
	Antall tester
	Produksjonsdato
	Produsent

Testspesifikke symboler

	Reaksjonsmik
	Enzymblanding
	Negativ kontroll
	Positiv kontroll

16. Referanser

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).