

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



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

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



1. Utilizare preconizată

Se utilizează pentru diagnosticare *in vitro*. Testul RIDA[®]UNITY Norovirus I & II, efectuat pe platforma RIDA[®]UNITY, este un test multiplex RT-PCR în timp real pentru detecția calitativă directă și diferențierea ARN-ului de norovirus din genogrupurile I (GI) și II (GII) în probele coprologice umane netratate de la persoane cu semne și simptome de gastroenterită acută.

Testul RIDA[®]UNITY Norovirus I & II este destinat confirmării diagnosticului diferențial de infecție cu norovirus din genogrupul I (GI) și genogrupul II (GII) la pacienții cu simptome de gastroenterită, stabilit prin alte metode clinice și de laborator.

Rezultatele negative nu exclud infecția cu norovirus și nu trebuie folosite ca bază unică de diagnosticare.

Produsul este destinat doar utilizării profesionale.

2. Scurtă prezentare și explicare a testului

Norovirusurile se numără printre principalele cauze ale gastroenteritei nebacteriene, pentru toate grupele de vârstă, ducând anual la circa 70.000 până la 200.000 de decese în întreaga lume.⁽¹⁾ Reprezintă cauza a aproximativ 20 % din totalul cazurilor de gastroenterită acută din întreaga lume. Norovirusurile umane, cunoscute anterior ca virusuri Norwalk, au fost identificate pentru prima dată în anul 1972, în probe coprologice colectate în timpul epidemiei de gastroenterită din Norwalk, Ohio, SUA. Așadar, aceștia au fost primii patogeni virali care s-au dovedit a provoca gastroenterita.⁽²⁾

Norovirusurile aparțin familiei *Caliciviridae* și sunt virusuri mici, neînvelite, cu ARN monocatenar (ARNss). În funcție de secvențele genetice ale ARN polimerazei dependente de ARN viral și proteinei capsidului, norovirusurile cunoscute în prezent sunt împărțite în 10 genogrupuri (de la GI la GX), cu peste 49 de genotipuri (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI, câte 1 genotip pentru GVII, GVIII, GIX [fostul GII.15] și GX) și o varietate de tulpini. Genogrupurile I, II și, uneori, IV sunt cele mai importante în ceea ce privește patogenitatea la om.⁽¹⁾ În Statele Unite, mai mult de 99 % din toate infecțiile cu norovirus sunt cauzate de virusuri din grupurile GI și GII.⁽³⁾ Gastroenterita norovirală este cauzată adesea de prezența virionilor în fecale și vomă, fiind necesare doar 10 particule infecțioase pentru a induce boala. Stabilitatea ridicată a mediului și doza scăzută necesară infectării asigură transmisibilitatea ridicată a norovirusului.⁽⁴⁾ Simptomele tipice ale infecțiilor cu norovirus sunt diareea, vărsăturile și greața.⁽³⁾

3. Principiul testului

Testul RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR este un PCR de diagnostic molecular pentru detecția calitativă directă și diferențierea ARN-ului de norovirus din genogrupul I (GI) și a ARN-ului de norovirus din genogrupul II (GII) și GIV în probele coprologice umane. Procesarea cu RIDA®UNITY System este complet automată. În primul rând, acizii nucleici sunt extrași cu ajutorul RIDA®UNITY Universal Extraction Kit și Internal Control Kit. Secvența țintă este detectată într-un format RT-PCR în timp real într-un singur pas, adică transcripția inversă (RT) și, ulterior, PCR au loc în același flacon de reacție. În cadrul acestui proces, ARN-ul izolat este transcris în ADNc cu ajutorul transcriptazei inverse. Fragmentele de gene specifice norovirusului GI și GII/GIV sunt apoi amplificate prin PCR în timp real. Secvențele țintă amplificate (regiunea de joncțiune ORF1/ORF2) sunt detectate utilizându-se sondele de hidroliză etichetate care au un stingător într-un capăt și un colorant reporter fluorescent (fluorofor) în celălalt capăt. Probele hibridizează la amplicon în prezența unei secvențe țintă. În timpul extensiei, polimeraza Taq separă raportorul de stingător. Raportorul emite un semnal fluorescent, care este detectat de unitatea optică a unui instrument PCR în timp real. Semnalul fluorescent crește odată cu cantitatea de ampliconi formați. RIDA®UNITY Internal Control Kit trebuie utilizat simultan, pentru a putea să verifice pregătirea probei și/sau eventuala inhibare a PCR.

4. Reactivi furnizați

Reactivii din trusă sunt suficienți pentru 96 de determinări.*

Tab. 1: Reactivi furnizați

REF	Reactiv	Cantitate		Culoare
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1935 μL	galben, gata de utilizare
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 μL	roșu, gata de utilizare
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 μL	albastru, gata de utilizare
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 μL	alb, gata de utilizare

*În cazul utilizării repetate și al seriilor mai mici, numărul maxim de reacții poate fi mai mic.

5. Instrucțiuni de depozitare

- Vă rugăm să urmați instrucțiunile de manipulare din Tabelul 2 și să păstrați trusa după utilizare conform informațiilor specificate.
- Toți reactivii trebuie păstrați într-un loc ferit de lumină, la o temperatură între -16 °C și -28 °C. Dacă ambalajul nu a fost deschis, pot fi utilizați până la data expirării imprimată pe etichetă. Garanția de calitate nu mai este valabilă după data expirării.
- Înainte de utilizare, toți reactivii trebuie decongelați cu grijă (de ex., în frigider, la 2 - 8 °C).
- Congelarea și decongelația repetată de până la 8 ori nu afectează proprietățile testului.

Tab. 2: Condiții și informații pentru depozitare

	Temperatura de depozitare	Durata maximă de depozitare
nedeschis	Între -16 și -28 °C	Se poate utiliza doar până la data expirării
deschis	Între -16 și -28 °C	8 de cicluri de congelare-decongelație

6. Reactivi necesari care nu sunt furnizați

Testul RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR este destinat utilizării exclusiv cu RIDA®UNITY System. Pentru utilizarea corectă, sunt absolut necesare următoarele produse:

6.1 Reactivi

Sunt necesari următorii reactivi pentru efectuarea testului RIDA®UNITY Norovirus I & II:

Reactivi	Numărul articolului
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Echipamente de laborator

Pentru efectuarea testului RIDA®UNITY Norovirus I & II, sunt necesare următoarele echipamente:

Echipament
RIDA®UNITY System; număr de articol: ZUNITY (R-Biopharm AG)
Consumabile RIDA®UNITY (vârfuri, plăci, flacoane de reacție, pelicule). Consultați instrucțiunile de utilizare pentru RIDA®UNITY System și informațiile pentru comandarea consumabilelor.
Agitator
Centrifugă de masă
Mănuși de unică folosință, fără pudră de talc
Ciclor extern (posibilă îmbunătățire a sistemului)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

Kitul RIDA®UNITY Norovirus I & II poate fi utilizat în combinație cu alte cicluri compatibile. Instrumentele PCR în timp real alternative trebuie verificate/validate de către utilizator. Pentru verificarea compatibilității, contactați R-Biopharm AG la pcr@r-biopharm.de.

7. Avertismente și măsuri de precauție pentru utilizatori

Se utilizează pentru diagnosticare *in vitro*.

Acest test trebuie efectuat doar de personal de laborator calificat. Trebuie respectate regulile de lucru ale laboratoarelor medicale.

Respectați întotdeauna cu strictețe instrucțiunile de utilizare atunci când efectuați acest test.

Nu picurați cu pipeta probe sau reactivi folosind gura. Evitați contactul cu leziuni ale pielii și mucoase.

Purtați echipament de protecție personală (mănuși adecvate, halat de laborator, ochelari de protecție) când manipulați reactivii și probele. Spălați-vă pe mâini după finalizarea testului.

Nu fumați, nu mâncați și nu beți în zonele în care sunt manipulate probele.

Evitați contaminarea probelor și a componentelor trusei cu microbi și nucleaze (deoxiribonucleaza/ribonucleaza).

Probele clinice trebuie considerate ca potențial infecțioase și trebuie aruncate în mod corespunzător, la fel ca toți reactivii și materialele care vin în contact cu probele potențial infecțioase.

Nu schimbați sau amestecați componentele (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) unui kit dintr-un lot cu componente ale altui lot.

Kitul de testare poate fi utilizat timp de 8 săptămâni de la prima deschidere (kitul poate fi reîncărcat de până la 6 ori). Nu utilizați trusa de testare după data expirării.

Aceste specificații sunt verificate și de RIDA®UNITY System.

Utilizatorii sunt responsabili pentru eliminarea corectă a tuturor reactivilor și materialelor după utilizare. Respectați reglementările naționale privind aruncarea deșeurilor.

Mai multe detalii despre Fișa cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) pot fi găsite sub numărul articolului la <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Pentru utilizatorii din Uniunea Europeană: Raportați toate evenimentele adverse grave asociate produsului către R-Biopharm AG și autoritățile naționale competente.

8. Colectarea și stocarea probelor

Pentru o performanță optimă a testului RIDA®UNITY Norovirus I & II, se recomandă utilizarea unei probe proaspăt colectate.

Evitați să congelați și să decongelați proba în mod repetat.

Nu colectați probele coprologice în recipiente de transport care conțin medii de transport cu conservanți sau fixatori, seruri animale, ioni de metale, agenți oxidanți sau detergenți, deoarece astfel de substanțe pot interfera cu testele RIDA®UNITY.

Se recomandă producerea unor alicote din probe, pentru a se evita decongelarea și recongelarea repetată a probelor. Probele congelate trebuie decongelate imediat înainte de extracție, pentru a se evita degradarea acizilor nucleici.

Urmați instrucțiunile de stocare a probelor din Tabelele 3 până la 6.

Tab. 3: Stocarea probelor - detecția norovirusului GI

Probe originale - coprologice		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20/-80 °C
≤ 7 zile	≤ 9 zile	≤ 6 luni

În eluat (din probă)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 de ore	≤ 36 de ore	≤ 1 lună

Dacă proba coprologică este păstrată la -20/-80 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de cel mult 5 ori nu afectează proprietățile testului.

Dacă eluatul (din probă) se păstrează la -20 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de 3 ori nu afectează proprietățile testului.

Tab. 4: Stocarea probelor - detecția norovirusului GII

Probe originale - coprologice		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20/-80 °C
≤ 7 zile	≤ 9 zile	≤ 6 luni

În eluat (din probă)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 de ore	≤ 36 de ore	≤ 1 lună

Dacă proba coprologică este păstrată la -20/-80 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de cel mult 5 ori nu afectează proprietățile testului.

Dacă eluatul (din probă) se păstrează la -20 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de 3 ori nu afectează proprietățile testului.

8.1 Pregătirea ADN-ului din probele coprologice

Pentru izolarea ADN-ului din probele coprologice, utilizați RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Urmați procedurile directe din instrucțiunile de utilizare pentru RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (Secțiunea: Pregătirea acidului nucleic din probele coprologice).

9. Procedura de testare

Pentru început, plasați atât proba, cât și reactivii RIDA®UNITY Norovirus I & II în RIDA®UNITY System.

În prealabil, amestecați bine **Reaction Mix**, **Negative Control** și **Positive Control** cu ajutorul unui agitator. Nu amestecați și **Enzyme Mix**. Apoi, centrifugați pentru scurt timp toate componentele.

Tuburile PCR pentru probele care urmează să fie examinate trebuie poziționate în prealabil în ciclul PCR integrat.

Sunt disponibile suporturi pentru încărcarea corectă a sistemului cu reactivi și consumabile. Pentru procesul de încărcare, urmați instrucțiunile pentru RIDA®UNITY System. Respectați secțiunile relevante din manualul RIDA®UNITY System (Secțiunea: Efectuarea unei testări).

Testul RIDA®UNITY Norovirus I & II poate fi utilizat doar împreună cu RIDA®UNITY Internal Control Kit. Astfel, este posibilă detectarea din timp a eventualei inhibări a PCR, verificarea integrității reactivilor și confirmarea extracției acidului nucleic. Procedura este descrisă în instrucțiunile de utilizare a RIDA®UNITY Internal Control Kit (Secțiunea: Procedura de testare).

Procesarea automată este descrisă în manualul RIDA®UNITY System (Secțiunea: Efectuarea unei testări).

9.1 Setările dispozitivului

9.1.1 Profilul universal al PCR în timp real

Pentru armonizarea testelor RIDA®UNITY, testul RIDA®UNITY Norovirus I & II a fost verificat exclusiv în profilul universal. Acest lucru face posibilă combinarea testelor ADN și ARN între ele. În general, transcrierea inversă are loc prima în profilul universal.

Tab. 7: Profilul universal al PCR în timp real pentru RIDA®UNITY

<u>Transcriere inversă</u>	10 min., 58 °C
Denaturare inițială	1 min., 95 °C
Cicluri	45 de cicluri
<u>PCR</u> Denaturare	10 s, 95 °C
Revenire/extensie	15 s, 60 °C
Rata tranziție temperatură/rată rampă	Durata de depozitare

Notă: Revenirea și extensia au loc în aceeași etapă.

Tab. 8: Profilul universal al PCR în timp real pentru CFX96™ Dx

<u>Transcriere inversă</u>	10 min., 58 °C
Denaturare inițială	1 min., 95 °C
Cicluri	45 de cicluri
<u>PCR</u> Denaturare	15 s, 95 °C
Revenire/extensie	30 s, 60 °C
Rata tranziție temperatură/rată rampă	Durata de depozitare

Notă: Revenirea și extensia au loc în aceeași etapă.

9.2 Setarea canalului de detecție

Tab. 9: Selectarea canalelor de detecție adecvate

Instrument PCR în timp real	Detecție	Canal detecție	Notă
R-Biopharm RIDA®UNITY	Norovirus GII	FAM	SEEK canal GGII
	Martor intern	HEX	SEEK canal ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK canal GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Norovirus GII	FAM	SEEK canal GGII
	Martor intern	VIC	SEEK canal ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK canal GGI

10. Controlul calității - indicarea instabilității sau a expirării reactivilor

Probele sunt evaluate cu ajutorul software-ului de analiză RIDA®SEEK al RIDA®UNITY System. **Negative Control** și **Positive Control** trebuie să arate rezultatele corecte (consultați Tab. 9).

Positive Control este disponibil într-o concentrație de 10^3 exemplare/ μ L. Se utilizează într-o cantitate totală de 5×10^3 exemplare la fiecare serie PCR.

Negative Control conține deja RIDA®UNITY Internal Control. Întrucât martorii nu conțin un șablon, nu trebuie să se anticipeze semnale în canalele țintă. Semnalele pozitive în canalul IC cu care este detectat martorul intern sunt esențiale (consultați Tab. 10).

Tab.10: O testare PCR validă trebuie să îndeplinească următoarele condiții:

Probă	Rezultat	Ct IC	Ct genă țintă
Martor pozitiv	+	Nu se aplică*	Consultați Certificatul de analiză (Certificate of Analysis, COA)
Martor negativ	-	Ct > 20	0

*În anumite circumstanțe, canalul IC poate avea un semnal pozitiv pentru martorul pozitiv și, prin urmare, nu trebuie evaluat.

Dacă martorul pozitiv nu este în intervalul Ct specificat, dar martorul negativ este valid, este necesară reanalizarea în PCR a tuturor reacțiilor, inclusiv a martorilor.

Dacă martorul negativ nu este negativ, dar martorul pozitiv este valid, este necesară reanalizarea în PCR a tuturor reacțiilor, inclusiv a martorilor.

Dacă valorile specificate nu sunt atinse, verificați următoarele aspecte înainte de a repeta testul:

- Data expirării reactivilor utilizați;
- Funcționalitatea echipamentului utilizat;
- Corectitudinea procedurii de testare;

Dacă, după repetarea testului, condițiile tot nu sunt îndeplinite, adresați-vă producătorului sau distribuitorului R-Biopharm local.

11. Evaluare și interpretare

Evaluarea și interpretarea probei se efectuează cu ajutorul software-ului de analiză al RIDA®UNITY System, RIDA®SEEK.

Nu există în prezent o metodă de referință recunoscută la nivel internațional sau un material de referință pentru standardizare. Materialele de control pot fi urmărite metrologic față de standardele interne R-Biopharm AG cu ajutorul unor ampliconi ARN specifici sintetici.

Pentru informații suplimentare despre trasabilitatea metrologică, vă rugăm să contactați R-Biopharm AG.

Valorile specificate, fluctuațiile și alte detalii pot fi găsite în Certificatul de analiză (Certificate of Analysis, COA).

Tab.11: Interpretarea rezultatului*

S-a detectat			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Rezultat
+	-	+/-	Norovirus GII ¹ detectabil
-	+	+/-	Norovirus GI detectabil
+	+	+/-	Norovirus GII ¹ și norovirus GI detectabil
-	-	+	Genele țintă nu sunt detectabile
-	-	-	Nevalid

*+ = pozitiv

- = negativ

¹ Consultați Limitări ale metodei (Secțiunea 10).

O probă este considerată pozitivă dacă ARN-ul acesteia și **Internal Control** arată un semnal de amplificare în sistemul de detecție.

O probă este tot pozitivă dacă ARN-ul acesteia arată un semnal de amplificare, dar nu se vede niciun semnal de amplificare pentru **Internal Control** în sistemul de detecție. Detecția **Internal Control** nu este necesară în acest caz, deoarece concentrațiile mari de amplicon pot produce un semnal slab sau absent de la **Internal Control**.

O probă este considerată negativă dacă ARN-ul acesteia nu arată niciun semnal de amplificare, dar se vede un semnal de amplificare pentru **Internal Control** în sistemul de detecție. Inhibarea reacției PCR și a extracției anterioare poate fi exclusă prin detecția de **Internal Control**.

O probă este nevalidă dacă ARN-ul acesteia și **Internal Control** nu arată niciun semnal de amplificare în sistemul de detecție. Inhibitorii sunt prezenți în probă sau a apărut o eroare în timpul procesului de extracție.

12. Limitări ale metodei

1. Testul RIDA[®]UNITY Norovirus I & II detectează ARN-ul de norovirus GI și norovirus GII din probele coprologice umane netratate. Nu înseamnă, însă, că există o corelație între valoarea Ct determinată și apariția simptomelor clinice severe. Rezultatele obținute trebuie interpretate întotdeauna în combinație cu simptomele clinice complete.
2. Diagnosticul nu trebuie să se bazeze doar pe rezultatul analizei biologice moleculare, ci trebuie să ia întotdeauna în considerare istoricul medical și simptomele pacientului.
3. Acest test este aprobat doar pentru procesarea automată cu RIDA[®]UNITY System.
4. Acest test este verificat și validat doar pentru probe coprologice.
5. Prelevarea, transportul, depozitarea și manipularea necorespunzătoare a probelor sau o cantitate de patogen prea mică pentru sensibilitatea analitică a testului pot determina rezultate fals negative.
6. Prezența inhibitorilor PCR poate duce la rezultate fals negative sau nevalide.
7. Ca în cazul tuturor testelor de diagnosticare *in vitro* bazate pe PCR, pot fi detectate concentrații extrem de scăzute ale secvențelor țintă, aflate sub limita de detecție (LoD 95 %). Rezultatele obținute nu sunt întotdeauna reproductibile.
8. Mutațiile sau polimorfismele din locurile de pregătire a amestecului sau a probei pot împiedica detecția unor variante noi sau necunoscute și pot conduce la rezultate fals negative obținute cu RIDA[®]UNITY Norovirus I & II.
9. Un rezultat pozitiv al testului nu indică neapărat prezența unor organisme viabile. Un rezultat pozitiv indică faptul că genele țintă (norovirus GI și GII, regiunea de joncțiune ORF1/ORF2) sunt prezente.
10. Norovirusurile din genogrupul IV, care, în cazuri foarte rare, pot infecta și oamenii, sunt detectate, de asemenea, cu RIDA[®]UNITY Norovirus I & II.
11. Acest test trebuie efectuat în conformitate cu regulamentul privind bunele practici de laborator (BPL). Utilizatorii trebuie să urmeze cu strictețe instrucțiunile producătorului atunci când efectuează testul.

13. Caracteristici de performanță

13.1 Caracteristici de performanță clinică

Testul RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time PCR a fost comparat într-un laborator extern cu un test de referință marcat CE pe baza a 237 de probe coprologice de la pacienți cu simptome de infecție gastrointestinală.

Rezultatele au arătat valori ridicate ale sensibilității și specificității pentru detecția norovirusului GI sau GII în probele coprologice umane.

Tab. 12: Detecția norovirusului GI

		PCR referință		Total
		Pozitiv	Negativ	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Pozitiv	33	0	33
	Negativ	3	201	204
	Total	36	201	237

Sensibilitate relativă (95 % CI)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Specificitate relativă (95 % CI)	100 % (98,2 % - 100 %)

Tab. 13: Detecția norovirusului GII

		PCR referință		Total
		Pozitiv	Negativ	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Pozitiv	126	0	126
	Negativ	4	107	111
	Total	130	107	237

Sensibilitate relativă (95 % CI)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Specificitate relativă (95 % CI)	100 % (96,6 % - 100 %)

13.2 Caracteristici de performanță analitică

13.2.1 Limita de detecție (LoD 95%)

Pentru stabilirea LoD, a fost măsurată o probă pozitivă (probă coprologică negativă cu vârfuri dintr-o probă clinic pozitivă) în cinci pași de diluare (la intervale de 0,25) pentru fiecare țintă, cu 20 de replici per pas în același lot. Apoi, a urmat o analiză probit. Apoi, LoD calculată a fost confirmată cu 20 de replici per țintă pentru etapa/concentrația de diluție calculată.

Pentru detecția ARN-ului de norovirus GI și de norovirus GII folosindu-se testul RIDA®UNITY Norovirus I & II pe UNITY System, au fost identificate limitele de detecție (LoD) care urmează.

Rezultatele acestor măsurători sunt prezentate în Tabelul 15.

Tab. 15: Limita de detecție a testului RIDA®UNITY Norovirus I & II pentru parametrii norovirus GI și norovirus GII în probele coprologice.

	Norovirus GI	Norovirus GII
LoD	4.85E-04 [factor de diluție]**	5.98E-05 [factor de diluție]*

(*) Diluția relativă a concentrației stocului. Probă pozitivă clinic cu intervalul Ct de 26 - 27

(**) Diluția relativă a concentrației stocului. Probă pozitivă clinic cu intervalul Ct de 30 - 31

LoD pentru parametrul norovirus GI din probele coprologice a fost stabilită la 4.85E-04 [factor de diluție].

LoD pentru parametrul norovirus GII din probele coprologice a fost stabilită la 5.98E-05 [factor de diluție].

Pentru fluxul de lucru îmbunătățit care utilizează CFX96™ Dx, aceste valori LoD au fost confirmate în ipoteza în care ne menținem într-un interval LoD dublu sau triplu.

13.2.2 Specificitatea analitică

Substanțe interferente

Prezența inhibitorilor PCR și a substanțelor interferente poate conduce la rezultate fals negative sau nevalide. Prin urmare, au fost investigate posibilele efecte ale mai multor substanțe, având în vedere frecvența utilizării lor în cazul infecțiilor gastrointestinale sau a apariției lor în probele prelevate.

Substanțele care ar putea influența semnificativ rezultatele testului au fost examinate inițial la concentrații mari (triplul dozei zilnice sau simularea celui mai rău caz) într-un ecran de interferență.

Nu a fost găsită nicio interferență pentru substanțele menționate în Tabelul 16.

Tab. 16: Substanțe potențial interferente

Substanțe potențial interferente	Concentrație
Ciprofloxacin-ratiopharm® 500 mg, comprimate filmate (ciprofloxacină)	0,375 % [w/v]
Etanol	5 % în funcție de eluat
Clorhidrat de guanidină	5 % în funcție de eluat
Sânge	5 % [v/v]
Mucine	5 % [w/v]
Acid stearic/palmitic	40 % [w/v]

Reacții încrucișate

Au fost investigate diferite organisme (bacterii, paraziți și virusuri) care se pot găsi, în mod obișnuit, în matricea coprologică. Microorganismele investigate pentru acest test au fost alese deoarece fie apar în mod obișnuit în probele coprologice, fie provoacă simptome corespunzătoare patogenilor gastrointestinali. Pentru analize, s-au folosit culturi bacteriene (între 10^7 și 10^9 CFU/mL) și culturi fungice sau de virusuri izolate (din probele coprologice pozitive) ale organismelor respective.

Testul RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time PCR este special pentru norovirusul GI și norovirusul GII. Nu au fost detectate reactivități încrucișate cu următoarele specii (consultați Tab. 17):

Tab. 17: Organisme potențial reactive încrucișat.

Organism	Rezultat test*	
	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> (serotip Enteritidis)	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serotip 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 Precizie

Precizia testului RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time PCR a fost stabilită pentru nivelurile prezentate în continuare.

Precizia *Intra-test*: Testarea a 5 probe de control, de câte 20 de ori, pe RIDA®UNITY, în condiții identice.

Precizia *Inter-teste*: Testarea a 5 probe de control în 20 de serii, în dublu exemplar, în 10 zile lucrătoare (2 serii pe zi), efectuată pe diferite instrumente, în condiții reproductibile.

Testarea pentru stabilirea preciziei *intra-* și *inter-test* a fost efectuată folosindu-se trei loturi.

Abaterile măsurătorilor respective efectuate cu testul RIDA®UNITY Norovirus I & II real-time PCR au fost mai mici de 4,82 % pentru RIDA®UNITY și de 3,25 % pentru CFX96™ Dx.

Tab. 18: Precizia testului RIDA®UNITY Norovirus I & II pentru norovirusul GI (RIDA®UNITY System)

Valoare medie Ct/CV	<i>Intra-test</i>			<i>Inter-test</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 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: Precizia testului RIDA®UNITY Norovirus I & II pentru norovirusul GI (CFX96™ Dx)

Valoare medie Ct/CV	<i>Intra-test</i>			<i>Inter-test</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 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: Precizia testului RIDA®UNITY Norovirus I & II pentru norovirusul GII (RIDA®UNITY System)

Valoare medie Ct/CV	<i>Intra-test</i>			<i>Inter-test</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 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: Precizia testului RIDA®UNITY Norovirus I & II pentru norovirusul GII (CFX96™ Dx)

Valoare medie Ct/CV	<i>Intra-test</i>			<i>Inter-test</i>			<i>Inter-lot</i>	
	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 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 Reactivitate analitică

Reactivitatea testului RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR a fost examinată cu ajutorul anumitor genotipuri de norovirus din genogrupurile I, II și IV (consultați Tab. 22).

Tab. 22: Testarea reactivității analitice

Tulpină	Rezultat*	
	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	-	+

*+ = pozitiv (cel puțin 2 din 3 replici pozitive)










- = negativ

14. Istoricul versiunilor


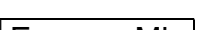

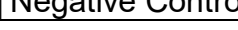
Numărul versiunii	Secțiune și denumire
2022-08-09	Versiunea

15. Explicația simbolurilor

Simboluri generale

	Se utilizează pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Respectați instrucțiunile de utilizare
	Numărul lotului
	A se utiliza înainte de
	Temperatura de depozitare
	Numărul articolului
	Număr de teste
	Data producerii
	Producătorul

Simboluri specifice testului

	Amestec de reacție
	Amestec de enzime
	Martor negativ
	Martor pozitiv

16. Referințe

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).