

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



1. Avsedd användning

För *in vitro* -diagnostisk användning. Testet RIDA®UNITY Norovirus I & II, som utförs på RIDA®UNITY-plattformen, är en multiplex direktanalys-RT-PCR för direkt kvalitativ detektering och differentiering av RNA från norovirus ur genogrupp I (GI) och II (GII) i obehandlade mänskliga avföringsprover från personer med tecken och symtom på akut gastroenterit.

Testet RIDA®UNITY Norovirus I & II är avsett att stödja differentialdiagnosen vid infektion med norovirus ur genogrupp I (GI) och genogrupp II (GII) hos patienter med symtom på gastroenterit i samband med andra kliniska fynd och laboratoriefynd.

Negativa resultat utesluter inte en norovirusinfektion och bör inte användas som enda grund för diagnos.

Produkten är avsedd för yrkesmässig användning.

2. Sammanfattning och förklaring av testet

Norovirus är en av världens vanligaste orsaker till icke-bakteriell gastroenterit hos människor i alla åldersgrupper och resulterar i cirka 70 000 till 200 000 dödsfall per år.⁽¹⁾ De svarar för cirka 20 % av alla fall av akut gastroenterit i världen. Mänskliga norovirus, tidigare kallade Norwalkvirus, identifierades första gången 1972 i avföringsprover som samlades in under ett utbrott av gastroenterit i Norwalk, Ohio, USA, vilket gör dem till de första viruspatogener som bevisligen orsakar gastroenterit.⁽²⁾

Norovirus tillhör familjen *Caliciviridae* och är små, icke-höljeförsedda virus med enkelsträngat RNA (ssRNA). Baserat på de genetiska sekvenserna av viralt RNA-beroende RNA-polymeras och kapsidproteinet delas norovirus in i 10 genogrunder (GI till GX), för närvarande med mer än 49 olika genotyper (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI och 1 genotyp vardera för GVII, GVIII, GIX [tidigare GII.15] och GX), och en mängd olika stammar. Genogrupperna I, II och ibland IV är de viktigaste när det gäller mänsklig patogenitet.⁽¹⁾ I USA orsakas mer än 99 % av alla utbrott av norovirus av GI- och GII-virus.⁽³⁾ Gastroenterit på grund av norovirus orsakas ofta av förekomsten av virioner i avföring och kräk, samtidigt som det bara behövs 10 smittsamma partiklar för att orsaka sjukdom. Den höga miljöstabiliteten och den låga infektionsdosen gör att norovirus i hög grad är smittosamt.⁽⁴⁾ Typiska symtom på norovirusinfektioner är diarré, kräkningar och illamående.⁽³⁾

3. Testprincip

Det multiplexa direktanalys-RT-PCR RIDA®UNITY Norovirus I & II är ett molekylärt diagnostik-PCR för direkt kvalitativ detektering och differentiering av norovirus ur genogrupp I (GI) RNA och norovirus genogrupp II (GII) och GIV RNA i mänskliga avföringsprover. Bearbetningen är helt automatiserad med RIDA®UNITY-systemet. Först extraheras nukleinsyrorerna med RIDA®UNITY Universal Extraction Kit och intern kontroll-satsen. Måsekvensen detekteras i RT-PCR-format i ett steg i realtid, dvs. omvänd transkription (RT) och efterföljande PCR utförs i en reaktionsflaska. I processen transkriberas det isolerade RNA:t till cDNA med hjälp av omvänt transkriptas. Genfragmenten som är specifika för norovirus GI och GII/GIV amplifieras sedan med användning av direktanalys-PCR.

De amplifierade måsekvenserna (ORF1/ORF2-övergångsregion) detekteras med användning av hydrolyssonderna som är märkta med quenchern i ena änden och med en fluorescerande signalfärg (fluorofor) i den andra änden. Sonderna hybridiseras till ampliconen i närvaro av en måsekvens. Under förlängningen separerar Taq Polymerase rapportören från quenchern. Rapportören avger en fluorescerande signal som detekteras av den optiska enheten i ett instrument för direktanalys-PCR. Den fluorescerande signalen ökar med mängden bildade ampliconer. RIDA®UNITY Internal Control Kit måste användas samtidigt för att kunna kontrollera provberedning och/eller potentiell PCR-inhibition.

4. Reagenser som ingår

Reagenserna i satsen är tillräckliga för 96 fastställningar.*

Tab. 1: Reagenser som ingår

REF	Reagens	Mängd		Lockfärg
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	gul, klar för användning
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	röd, klar för användning
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 µL	blå, färdiga för användning
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 µL	vit, färdiga för användning

*Vid upprepad användning och i mindre serier kan antalet reaktioner minskas.

5. Förvaringsanvisningar

- Följ riktlinjerna för hantering i tabell 2 och förvara satsen direkt efter användning enligt den angivna informationen.
- Alla reagenser måste förvaras i ett mörkt utrymme i -16 °C till -28 °C och kan i oöppnat skick användas fram till utgångsdatumet på etiketten. Kvalitetsgarantin är inte längre giltig efter passerat utgångsdatum.
- Alla reagenser ska tinas försiktigt före användning (t.ex. i kylskåp vid 2 °C - 8 °C).
- Upprepad frysning och upptining upp till 8 gånger påverkar inte testegenskaperna.

Tab. 2: Förvaringsförhållanden och information

	Förvaringstemperatur	Maximal förvaringstid
oöppnad	-16 till -28 °C	Kan användas fram till angivet utgångsdatum
öppnad	-16 till -28 °C	8 frysnings- och upptiningscykler

6. Nödvändiga reagenser som inte medföljer

Testet RIDA[®]UNITY Norovirus I & II multiplex direktanalys-RT-PCR är endast avsett för användning med RIDA[®]UNITY System. Följande produkter är absolut nödvändiga för korrekt användning:

6.1 Reagenser

Följande reagenser behövs för att utföra testet RIDA[®]UNITY Norovirus I & II:

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

6.2 Laboratorieutrustning

Följande utrustning behövs för att utföra testet RIDA[®]UNITY Norovirus I & II:

Utrustning
RIDA [®] UNITY System; artikelnummer: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA [®] UNITY förbrukningsartiklar (spetsar, plattor, reaktionsflaskor, filmer). Se bruksanvisningen för RIDA [®] UNITY System, beställningsinformation för förbrukningsvaror.
Vortexblandare
Centrifug för bordsskiva
Puderfria engångshandskar

Extern brytare (möjlig systemförbättring)
CFX96 [™] Dx (Bio-Rad)

Satsen RIDA[®]UNITY Norovirus I & II kan användas tillsammans med andra kompatibla cykelenheter. Alternativa instrument för direktanalys-PCR måste verifieras/valideras av användaren. Vänligen kontakta R-Biopharm AG på pcr@r-biopharm.de för att kontrollera kompatibiliteten.

7. Varningar och försiktighetsåtgärder för användare

För *in vitro* -diagnostisk användning.

Det här testet får endast utföras av utbildad laboratoriepersonal. Riktlinjerna för arbete i medicinska laboratorier måste följas.

Följ alltid bruksanvisningen för detta test noggrant.

Pipettera inte prover eller reagenser med munnen. Undvik kontakt med skadad hud och slemhinnor.

Använd personlig skyddsutrustning (lämpliga handskar, labbrock, skyddsglasögon) vid hantering av reagenser och prover, och tvätta händerna efter avslutat test.

Rök, ät eller drick inte i områden där prover eller testreagenser hanteras.

Undvik att förorena proverna och komponenterna i kitet med mikrober och nukleaser (DNase/RNase).

Kliniska prover måste betraktas som potentiellt smittsamma och bortskaffas på lämpligt sätt, precis som alla reagenser och material som kommer i kontakt med potentiellt smittsamma prover.

Byt inte ut eller blanda komponenterna (Reaction Mix, Enzymmix, Positive Control, Negative Control) i en partisats med komponenterna i ett annat parti.

Testsatsen kan användas i 8 veckor efter första öppnandet (satsen kan laddas om upp till 6 gånger). Använd inte testsatsen efter utgångsdatumet. Dessa specifikationer kontrolleras också av RIDA®UNITY System.

Användare är ansvariga för korrekt kassering av alla reagenser och material efter användning. Följ nationella förordningar om kassering.

Ytterligare information om säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet, SDS) finns under artikelnumret på <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

För användare i Europeiska unionen: Rapportera alla allvarliga biverkningar som är förknippade med produkten till R-Biopharm AG och relevanta myndigheter.

8. Insamling och förvaring av prover

Det rekommenderas att använda färskt provmaterial för att uppnå bästa möjliga prestanda för analysen RIDA®UNITY Norovirus I & II.

Undvik upprepad nedfrysning och upptining av provet.

Samla inte upp avföringsproverna i transportbehållare som innehåller transportmedier med konserveringsmedel, djurserum, metalljoner, oxiderande medel eller rengöringsmedel eftersom sådana ämnen kan störa testet RIDA®UNITY.

Vi rekommenderar att ni tar alikvoter av proverna för att undvika upprepad upptining och nedfrysning. Frysta prover ska tinas omedelbart före extraktion för att förhindra nedbrytning av nukleinsyran.

Följ förvaringsanvisningarna för prover i tabell 3 till 6.

Tab. 3: Provförvaring - detektion av norovirus GI

Naturliga prover - avföring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20/-80 °C
≤7 dagar	≤9 dagar	≤6 månader

I eluat (från avföring)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤24 timmar	≤36 timmar	≤1 månad

Vid en förvaringstemperatur på -20 °C/-80 °C påverkar upprepad nedfrysning/upptining av avföringsproverna i upp till 5 gånger inte testegenskaperna.

Vid en förvaringstemperatur på -20 °C påverkar inte upprepad fryssning/upptining av eluatet (från avföring) upp till 3 gånger testegenskaperna.

Tab. 4: Provförvaring - detektion av norovirus och GII

Naturliga prover - avföring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20/-80 °C
≤7 dagar	≤9 dagar	≤6 månader

I eluat (från avföring)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤24 timmar	≤36 timmar	≤1 månad

Vid en förvaringstemperatur på -20 °C/-80 °C påverkar upprepad nedfrysning/upptining av avföringsproverna i upp till 5 gånger inte testegenskaperna.

Vid en förvaringstemperatur på -20 °C påverkar inte upprepad fryssning/upptining av eluatet (från avföring) upp till 3 gånger testegenskaperna.

8.1 DNA-beredning från avföringsprover

För att isolera DNA från avföringsprover, använd RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Följ de direkta procedurerna i bruksanvisningen för RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (avsnitt: Beredning av nukleinsyra från avföringsprover).

9. Testprocedur

Placera både proverna och reagenserna i satsen RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel på RIDA®UNITY System i början av användningen.

Blanda i förväg **Reaction Mix**, **Negative Control** och **Positive Control** med hjälp av en vortexmixer. Mixa inte **Enzyme Mix**. Centrifugera därefter kort alla komponenter. PCR-rören för de prover som skall undersökas skall placeras i förväg i den integrerade PCR-cykelenheten.

Bärare finns tillgängliga för korrekt laddning av reagenser och förbrukningsvaror i systemet. Följ instruktionerna för RIDA®UNITY System för laddningsprocessen. Observera de relevanta avsnitten i handboken för RIDA®UNITY System (Avsnitt: Utföra en körning).

Testet RIDA®UNITY Norovirus I & II får endast användas i kombination med RIDA®UNITY Internal Control Kit. Detta möjliggör tidig igenkänning av potentiell PCR-inhibition, verifiering av reagensintegritet och bekräftelse av framgångsrik nukleinsyraextraktion. Proceduren beskrivs i bruksanvisningen för RIDA®UNITY Internal Control Kit (avsnitt: Testprocedur).

Automatiserad bearbetning beskrivs i bruksanvisningen för RIDA®UNITY System (Avsnitt: Utföra en körning).

9.1 Enhetsinställningar

9.1.1 Universell profil för direktanalys-PCR

För att harmonisera RIDA®UNITY-analyserna verifierades analysen av RIDA®UNITY Norovirus I & II i den universella profilen. Detta gör det möjligt att kombinera DNA- och RNA-analyser med varandra. I stort sett kommer omvänd transkription därför först i den universella profilen.

Tab. 7: Universell profil för direktanalys-PCR för RIDA®UNITY

<u>Omvänd transkription</u>	10 min, 58 °C
Initial denaturering	1 min, 95 °C
Cykler	45 cykler
<u>PCR</u> Denaturering	10 sek, 95 °C
Glödning/förlängning	15 sek, 60 °C
Övergångshastighet för temperatur/ ramphastighet	Maximal

Obs: Glödning och förlängning sker i samma steg.

Tab. 8: Universell Realtids-PCR-profil för CFX96™ Dx

<u>Omvänd transkription</u>	10 min, 58 °C
Initial denaturering	1 min, 95 °C
Cykler	45 cykler
<u>PCR</u> Denaturering	15 sek, 95 °C
Glödning/förlängning	30 sek, 60 °C
Övergångshastighet för temperatur/ ramphastighet	Maximal

Obs: Glödning och förlängning sker i samma steg.

9.2 Inställningar för detekteringskanal

Tab. 9: Val av lämpliga detekteringskanaler

Instrument för direktanalys-PCR	Detektering	Detekteringskanal	Observera
R-Biopharm RIDA®UNITY	Norovirus GII	FAM	SEEK kanal GGII
	Intern kontroll	HEX	SEEK kanal ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanal GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Norovirus GII	FAM	SEEK kanal GGII
	Intern kontroll	VIC	SEEK kanal ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanal GGI

10. Kvalitetskontroll - indikation på reagensernas instabilitet eller utgångsdatum

Proverna utvärderas med hjälp av den analytiska programvaran RIDA®SEEK för RIDA®UNITY System. **Negative Control** och **Positive Control** måste visa rätt resultat (se flik. 9).

Positive Control finns i en koncentration på 10^3 kopior/ μ L. Det används i en total mängd av 5×10^3 kopior i varje PCR-körning.

Negative Control innehåller redan RIDA®UNITY Internal Control. Eftersom kontrollerna inte innehåller någon mall ska inga signaler förutses i målkanalerna. Positiva signaler i IC-kanalen med vilken den interna kontrollen detekteras är väsentliga (se flik. 10).

Tab.10: En giltig PCR-körning måste uppfylla följande villkor:

Prov	Resultat	IC Ct	Målgen Ct
Positive control	+	Ej tillämpligt *	Se analyscertifikatet (Certificate of Analysis, CoA)
Negativ kontroll	-	Ct >20	0

*Under vissa omständigheter kan IC-kanalen ha en positiv signal i plusreglaget och bör därför inte utvärderas.

Om den positiva kontrollen inte ligger inom det specificerade Ct-intervallet men den negativa kontrollen är giltig, måste alla reaktioner analyseras på nytt i PCR:et, inklusive kontrollerna.

Om den negativa kontrollen inte är negativ men den positiva kontrollen är giltig, måste alla reaktioner analyseras på nytt i PCR:et, inklusive kontrollerna.

Om de angivna värdena inte uppfylls, kontrollera följande punkter innan du upprepar testet:

- Utgångsdatum för de reagenser som används
- Funktionaliteten hos den utrustning som används
- Korrekt testprocedur

Om villkoren fortfarande inte är uppfyllda efter upprepning av testet, kontakta tillverkaren eller din lokala R-Biopharm-distributör.

11. Utvärdering och tolkning

Utvärdering och tolkning av prover görs med den analytiska programvaran för RIDA®UNITY System - RIDA®SEEK.

Det finns ingen aktuell internationellt erkänd referensmetod eller referensmaterial för standardisering. Kontrollmaterialet är metrologiskt spårbart från interna R-Biopharm AG-standarder baserat på specifika, syntetiska RNA-amplikoner.

För ytterligare information om metrologisk spårbarhet, kontakta R-Biopharm AG.

De angivna värdena, intervallen och ytterligare detaljer finns i analyscertifikatet (CoA).

Tab.11: Resultattolkning*

Detektering av			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Resultat
+	-	+/-	Norovirus GII ¹ påvisbart
-	+	+/-	Norovirus GI påvisbart
+	+	+/-	Norovirus GII ¹ och Norovirus GI påvisbart
-	-	+	Målgener kan inte påvisas
-	-	-	Ogiltigt

*+= positivt

- = negativt

¹ se Metodens begränsningar (avsnitt 10)

Ett prov klassificeras som positivt om provets RNA och den **Internal Control** visar en förstärkningssignal i detekteringssystemet.

Ett prov klassificeras som negativt om provets RNA inte visar någon förstärkningssignal, men en förstärkningssignal för den **Internal Control** kan hittas i detektionssystemet. Detektering av den **Internal Control** är inte nödvändig i detta fall eftersom höga amplikonkoncentrationer kan orsaka en svag eller frånvarande signal i den **Internal Control**.

Ett prov klassificeras som negativt om provets RNA inte visar någon förstärkningssignal, men en förstärkningssignal för den **Internal Control** kan hittas i detektionssystemet. Inhibition av PCR-reaktionen och tidigare extraktion kan uteslutas genom detektering av **Internal Control**.

Ett prov är ogiltigt om provets RNA och **Internal Control** inte visar någon förstärkningssignal i detekteringssystemet. Inhibitorer finns i provet eller så uppstod ett fel under extraktionsprocessen.

12. Metodens begränsningar

1. Testet RIDA®UNITY Norovirus I & II detekterar norovirus GI och norovirus GII i obehandlade mänskliga avföringsprover. En korrelation mellan nivån av det fastställda Ct-värdet och förekomsten av allvarliga kliniska symtom kan inte härledas från detta. De resultat som uppnås måste alltid tolkas i kombination med alla kliniska symtom.
2. Diagnosen får inte enbart baseras på resultatet av den molekylärbiologiska analysen, utan bör alltid ta hänsyn till patientens sjukdomshistoria och symtom.
3. Detta test är endast godkänt för automatisk bearbetning med RIDA®UNITY System.
4. Detta test är endast verifierat och validerat för avföringsprover.
5. Felaktig provtagning, transport, förvaring och hantering eller en patogenbelastning som ligger under testets analytiska känslighet kan leda till falskt negativa resultat.
6. Förekomst av PCR-inhibitorer kan leda till falskt negativa eller ogiltiga resultat.
7. Liksom för alla PCR-baserade *in vitro*-diagnostiska tester kan extremt låga koncentrationer av målsekvenser, som ligger under detektionsgränsen (LoD 95 %), påvisas. De erhållna resultaten är inte alltid reproducerbara.
8. Mutationer eller polymorfismer på primer- eller sondbindningsställena kan störa detekteringen av nya eller okända varianter och kan leda till falskt negativa resultat vid användning av RIDA®UNITY Norovirus I & II.
9. Ett positivt testresultat indikerar inte nödvändigtvis förekomsten av livskraftiga organismer. Ett positivt resultat indikerar att målgenerna (norovirus GI och norovirus GII, ORF1/ORF2 övergångsregion) är närvarande.
10. Norovirus i genogrupp IV, som i mycket sällsynta fall också kan smitta människor, påvisas också med RIDA®UNITY Norovirus I & II.
11. Denna analys ska utföras i enlighet med förordningen om god laboratoriesed (GLP). Användarna måste följa tillverkarens anvisningar exakt när de utför testet.

13. Prestandaegenskaper

13.1 Kliniska prestandaegenskaper

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex direktanalys-PCR jämfördes i ett externt laboratorium med ett CE-märkt referenstest baserat på 237 avföringsprover från patienter med symtom på gastrointestinal infektion.

Resultaten visar hög känslighet och specificitet för detektion av norovirus GI eller GII i mänskliga avföringsprover.

Tab. 12: Detektion av norovirus GI

		Referens-PCR		Totalt
		Positivt	Negativt	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Positivt	33	0	33
	Negativt	3	201	204
	Totalt	36	201	237

Relativ känslighet (95 % KI)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Relativ specificitet (95 % KI)	100 % (98,2 % - 100 %)

Tab. 13: Detektion av norovirus GII

		Referens-PCR		Totalt
		Positivt	Negativt	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Positivt	126	0	126
	Negativt	4	107	111
	Totalt	130	107	237

Relativ känslighet (95 % KI)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Relativ specificitet (95 % KI)	100 % (96,6 % - 100 %)

13.2 Analytiska prestandaegenskaper

13.2.1 Detektionsgräns (LoD 95%)

Ett positivt prov (negativa avföringsprov, spetsade med positivt kliniska avföringsprover) mättes i fem utspädningssteg (i 0,25-loggade steg) för varje mål med 20 replikat per steg i en sats för att bestämma LoD. Detta följdes av en probitanalys. Därefter bekräftades beräknad LoD med 20 replikat per mål för det beräknade spädningssteget/koncentrationen.

För detekteringen av norovirus GI och norovirus GII RNA med hjälp av RIDA®UNITY Norovirus I & II-analyser på UNITY-systemet fastställdes följande detektionsgränser (LoD).

Resultaten av dessa mätningar visas i tabell 15.

Tab. 15: Resultat av detektionsgränsen för testet RIDA®UNITY Norovirus I & II för parametrarna norovirus GI och norovirus GII i avföringsprover

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

* Relativ utspädning av stamkoncentrationen. Positivt kliniskt prov med Ct- intervall 26-27

(**) Relativ utspädning av stamkoncentrationen. Positivt kliniskt prov med Ct- intervall 30-31

LoD för parametern norovirus GI i avföringsprover fastställdes till 4.85E-04 [spädningsfaktor].

LoD för parametern norovirus GII i avföringsprover fastställdes till 5.98E-05 [spädningsfaktor].

För det förbättrade arbetsflödet med CFX96™ Dx bekräftades dessa LoD-värden under antagandet att vi håller oss inom ett 2-3-faldigt LoD-område.

13.2.2 Analytisk specificitet

Störande ämnen

Förekomsten av direkta PCR-inhibitorer och interfererande ämnen kan leda till falskt negativa eller ogiltiga resultat. Därför undersöktes effekterna av olika substanser som kan förekomma på grund av deras utbredda användning för gastrointestinala infektioner eller utbredd förekomst i motsvarande prover.

Ämnen som potentiellt skulle kunna ha en betydande inverkan på testresultaten undersöktes initialt vid höga koncentrationer (tre gånger den dagliga dosen eller simulering av det värsta fallet) i en interferensbild.

Ingen interferens hittades för de ämnen som förtecknas i tabell 16.

Tab. 16: Potentiellt störande ämnen

Potentiellt störande ämne	Koncentration
Ciprofloxacin-ratiopharm® 500 mg filmdragerade tabletter (ciprofloxacin)	0,375 % [w/v]
Etanol	5 % baserat på eluatet
Guanidiniumhydroklorid	5 % baserat på eluatet
Människoblod	5 % [v/v]
Mucin	5 % [w/v]
Stearin-/palmitinsyra	40 % [w/v]

Korsreaktioner

Olika organismer (bakterier, parasiter och virus) som är vanligt förekommande i avföringsmatrisen undersöktes. De mikroorganismer som ska undersökas för denna analys valdes eftersom de antingen förekommer naturligt i avföringsprover, eller för att de orsakar motsvarande symtom som gastrointestinala patogener. För analyserna användes bakteriekulturer (mellan 10^7 och 10^9 CFU/mL) och svampkulturer eller virusisolater (från positiva avföringsprov) för de givna organismerna.

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex direktanalys-RT-PCR är specifik för norovirus GI och norovirus GII. Inga korsreaktiviteter med följande arter påvisades (se tabell 17):

Tab. 17: Potentiellt korsreaktiva organismer.

Organism	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-foster</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> (serotyp Enteritidis)	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serotyp 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 Precision

Precisionen för testet RIDA®UNITY Norovirus direktanalys-RT-PCR fastställdes för följande nivåer av överväganden.

Intra-analysprecision: Bestämning av 5 kontrollprover med 20 replikat vardera i RIDA®UNITY under identiska förhållanden.

Inter-analysprecision: Bestämning av 5 kontrollprov i 20 omgångar i duplikat under 10 arbetsdagar (2 omgångar per dag) som utförs med olika instrument under reproducerbara förhållanden.

Tester av *intra*- och *inter*-analysprecision utfördes med tre olika partier.

De erhållna variationskoefficienterna för respektive mätningar som gjorts med RIDA®UNITY Norovirus I & II direktanalys-PCR-test var högst 4,82 % på RIDA®UNITY och högst 3,25 % på CFX96™ Dx.

Tab. 18: Resultaten för precisionen hos testet RIDA®UNITY Norovirus I & II för norovirus GI (RIDA®UNITY System)

Ct- medelvärde/CV	<i>Intra</i> -analys			<i>Inter</i> -analys			<i>Inter</i> -parti	
	Kit - parti 1	Kit - parti 2	Kit - parti 3	Kit - parti 1	Kit - parti 2	Kit - parti 3	Kit - partier 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	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 19: Resultaten för precisionen hos testet RIDA®UNITY Norovirus I & II för norovirus GI (CFX96™ Dx)

Ct- medelvär de/CV	<i>Intra-analys</i>			<i>Inter-analys</i>			<i>Inter-parti</i>	
	Kit - parti 1	Kit - parti 2	Kit - parti 3	Kit - parti 1	Kit - parti 2	Kit - parti 3	Kit - partier 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	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 20: Resultaten för precisionen hos testet RIDA®UNITY Norovirus I & II för norovirus GII (RIDA®UNITY System)

Ct- medelvär de/CV	<i>Intra-analys</i>			<i>Inter-analys</i>			<i>Inter-parti</i>	
	Kit - parti 1	Kit - parti 2	Kit - parti 3	Kit - parti 1	Kit - parti 2	Kit - parti 3	Kit - partier 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	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 21: Resultaten för precisionen hos testet RIDA®UNITY Norovirus I & II för norovirus GII (CFX96™ Dx).

Ct- medelvär de/CV	<i>Intra-analys</i>			<i>Inter-analys</i>			<i>Inter-parti</i>	
	Kit - parti 1	Kit - parti 2	Kit - parti 3	Kit - parti 1	Kit - parti 2	Kit - parti 3	Kit - partier 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	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt	Negativt
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

13.2.4 Analytisk reaktivitet

Reaktiviteten för testet RIDA[®]UNITY Norovirus I & II multiplex direktanalys-RT-PCR undersöktes på en definierad panel av olika norovirusgenotyper av genogrunder I och II (se tabell 22).

Tab. 22: Analytisk reaktivitetstestning

Stam	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 replikat positiva)










- = negativ

14. Versionshistorik





Versionsnummer	Avsnitt och benämning
2022-08-09	Utgivningsversion

15. Symbolförklaringar

Allmänna symboler

	För <i>in-vitro</i> -diagnostisk användning
	Följ bruksanvisningen
	Batchnummer
	Använd före
	Förvaringstemperatur
	Artikelnummer
	Antal tester
	Tillverkningsdatum
	Tillverkare

Testspecifika symboler

	Reaktionsblandning
	Enzymmix
	Negativ kontroll
	Positiv kontroll

16. Referenser

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).