

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



1. Kullanım amacı

In vitro tanı amaçlı kullanım içindir. RIDA®UNITY platformu üzerinde gerçekleştirilen RIDA®UNITY Norovirus I & II testi, akut gastroenterit işaretleri ve belirtileri gösteren insanlardan alınan işlenmemiş insan gaita örneklerindeki gen grubu I (GI) ve II (GII) norovirüslerden RNA'nın doğrudan kalitatif olarak saptanmasına ve ayrıştırılmasına yönelik bir multiplex real-time RT-PCR testidir.

RIDA®UNITY Norovirus I & II testi, gastroenterit belirtileri olan hastalarda norovirüs gen grubu I (GI) ve II (GII) enfeksiyonlarının ayırıcı tanısını diğer klinik ve laboratuvar bulgularıyla bağlantılı olarak desteklemeye yöneliktir.

Negatif sonuçlar, norovirüs enfeksiyonu olasılığını ortadan kaldırmaz ve tanının tek temeli olarak kullanılmamalıdır.

Ürün, profesyonel kullanıma yöneliktir.

2. Testin özeti ve açıklaması

Norovirüsler, her yaş grubundan insan için bakteriyel olmayan gastroenteritin dünyadaki en yaygın nedeni olup her yıl yaklaşık 70.000 ila 200.000 ölümlerle sonuçlanmaktadır.⁽¹⁾ Dünya çapında tüm akut gastroenterit vakalarının yaklaşık %20'sinden sorumludurlar. Daha önce Norwalk virüsleri olarak bilinen insan norovirüsleri, ilk defa 1972 yılında, Norwalk, Ohio, ABD'deki bir gastroenterit salgını sırasında toplanmış olan gaita örneklerinde tanımlanarak gastroenterite neden oldukları kanıtlanmış ilk viral patojenler olmuşlardır.⁽²⁾

Norovirüsler, *Caliciviridae* ailesine aittir ve tek zincirli RNA'ya (ssRNA) küçük, zarfsız virüslerdir. Norovirüsler, viral RNA bağımlı RNA polimerazın genetik sekanslarına ve kapsit proteinine dayanarak, 10 gen grubuna (GI ila GX) ayrılabilirler ve şu anda 49 farklı genotip (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI ve her bir GVII, GVIII, GIX [eskiden GII.15] ve GX için 1 genotip) ve çeşitli suşları vardır. Gen grupları I, II ve bazen IV, insanlarda patojenlik bakımından en önemli olanlardır.⁽¹⁾ Birleşik Devletler'de, tüm norovirüs salgınlarının %99'dan fazlasına GI ve GII virüsleri nedeni olmaktadır.⁽³⁾ Norovirüslerden kaynaklanan gastroenterite çoğu zaman feçes ve kusmakta virionların varlığı nedeni olurken, hastalığın ortaya çıkması için yalnızca 10 enfeksiyöz partikül yeterlidir. Yüksek çevresel stabilite ve düşük enfeksiyon, norovirüsleri yüksek derecede bulaşıcı hale getirmektedir.⁽⁴⁾ Norovirüs enfeksiyonlarının tipik semptomları diyare, kusma ve mide bulantısıdır.⁽³⁾

3. Test prensibi

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR, insan gaita örneklerinde norovirüsün gen grubu I (GI) RNA'sı ve norovirüs gen grubu II (GII) ve GIV RNA'sının doğrudan kalitatif olarak saptanmasına ve ayrıştırılmasına yönelik bir moleküler tanısal PCR testidir. RIDA®UNITY System içerisinde işleme tam otomatiktir. Önce, RIDA®UNITY Universal Extraction Kit ve Internal Control Kit kullanılarak nükleik asitler ekstrakte edilir. Hedef sekans, tek adımlı bir real-time RT-PCR biçiminde saptanır, yani tersine transkripsiyon (RT) ve ardından PCR, tek bir reaksiyon flakonunda gerçekleşir. Bu işlemde, izole edilen RNA, ters transkriptaz yardımıyla cDNA'ya çevrilir. Norovirüs GI ve GII/GIV'e özgü gen parçacıkları, ardından real-time PCR kullanılarak çoğaltılır.

Çoğaltılan hedef sekanslar (ORF1/ORF2 birleşim bölgesi), bir ucunda bir söndürücü ve diğer ucunda bir floresan haberci boyayla (florofor) etiketlenmiş hidroliz problemleri kullanılarak saptanır. Problemler, bir hedef sekansın varlığında amplikonu hibridize etmektedir. Uzama sırasında, Taq polimerase haberciyi söndürücüden ayırmaktadır. Haberci, bir gerçek zamanlı PCR aletinin optik ünitesi tarafından saptanan bir floresan sinyal yaymaktadır. Floresan sinyal, oluşan amplikonların miktarını artırmaktadır. RIDA®UNITY Internal Control Kit, örnek hazırlığını ve/veya potansiyel PCR inhibisyonunu hususların kontrol edebilmek için aynı anda kullanılmalıdır.

4. Sağlanan reaktifler

Kitte sağlanan reaktifler 96 belirleme için yeterlidir.

Tab. 1: Sağlanan reaktifler

REF	Reaktif	Miktar	Kapak rengi
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 × 1935 µL	sarı, kullanıma hazır
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 × 350 µL	kırmızı, kullanıma hazır
UNZ1415PC	Positive Control	1 × 200 µL	mavi, kullanıma hazır
UNZ1415NC	Negative Control	1 × 450 µL	beyaz, kullanıma hazır

* Tekrarlı kullanımla ve küçük serilerde, reaksiyon sayısı azalabilir.

5. Saklama talimatları

- Lütfen Tablo 2'deki kullanma ilkelerini izleyin ve kiti kullandıktan hemen sonra belirtilen bilgilere göre saklayın.
- Tüm reaktifler güneş ışığından uzakta, -16 ila -28 °C'de saklanmalıdırlar ve açılmamış halde, etikette basılı son kullanma tarihine kadar kullanılabilirler. Kalite garantisi, son kullanma tarihinden sonra artık geçerli değildir.
- Tüm reaktifler kullanılmadan önce dikkatle çözülmelidir (örneğin, bir buzdolabında 2 - 8 °C'de).
- 8 defaya kadar tekrarlanan dondurmanın ve çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

Tab. 2: Saklama koşulları ve bilgileri

	Saklama sıcaklığı	Maksimum saklama süresi
açılmamış	-16 ila -28 °C	Basılı son kullanma tarihine kadar kullanılabilir
açılmış	-16 ila -28 °C	8 dondurma-çözme döngüsü

6. Gerekli olan ama sağlanmayan reaktifler

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR testi, yalnızca RIDA®UNITY System ile birlikte kullanılmaya yöneliktir. Aşağıdaki ürünler doğru kullanım için kesinlikle gereklidir:

6.1 Reaktifler

Aşağıdaki reaktifler RIDA®UNITY Norovirus I & II testini gerçekleştirmek için gereklidir:

Reaktifler	Madde numarası
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Laboratuvar ekipmanları

Aşağıdaki ekipmanlar RIDA®UNITY Norovirus I & II testini gerçekleştirmek için gereklidir:

Ekipman
RIDA®UNITY System; öge numarası: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY sarf malzemeleri (uçlar, plakalar, reaksiyon flaklonları, filmler). Sarf malzemelerinin sipariş bilgileri için, RIDA®UNITY System kullanım talimatlarına bakın.
Vorteks cihazı
Tezgahüstü santrifüj
Tek kullanımlık pudrasız eldivenler
Harici döngüleyici (olası sistem güçlendirmesi)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

RIDA®UNITY Norovirus I & II kiti, başka uyumlu döngüleyici cihazlarla birlikte kullanılabilir. Alternatif gerçek Zamanlı PCR aletleri, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır/onaylanmalıdır. Uyumluluğu kontrol etmek için, lütfen R-Biopharm AG'yi pcr@r-biopharm.de adresinden arayın.

7. Kullanıcılar için uyarılar ve önlemler

In vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Bu test, sadece yetkili laboratuvar personeli tarafından gerçekleştirilmelidir. Tıbbi laboratuvarlarda çalışma yönergelerine uyulmalıdır.

Bu testi gerçekleştirirken kullanım talimatlarına her zaman kesinlikle uyun.

Örnekleri veya reaktifleri ağızınızı kullanarak pipetlemeyin. Yaralı ciltle veya mukoz membranlarla temasını önleyin.

Reaktifleri ve örnekleri kullanırken kişisel koruyucu ekipmanlar (uygun eldivenler, laboratuvar önlüğü, güvenlik gözlükleri) kullanın ve testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın.

Örneklerin kullanılmakta olduğu alanlarda sigara içmeyin, bir şey yemeyin veya içmeyin.

Örnekleri ve kit bileşenlerini mikroplarla ve nükleazlarla (DNase/RNase) kontamine etmekten kaçınin.

Klinik örnekler, potansiyel olarak enfeksiyöz kabul edilmeli ve potansiyel olarak enfeksiyöz örneklerle temas eden tüm reaktifler ve malzemeler gibi uygun şekilde bertaraf edilmelidir.

Bir kit lotunun bileşenlerini (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) başka bir lotun bileşenleriyle değiştirmeyin veya karışık olarak kullanmayın.

Test kiti, ilk kez açıldıktan sonra 8 hafta boyunca kullanılabilir (kit, 6 defaya kadar yeniden doldurulabilir). Test kitini, son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Bu spesifikasyonlar, RIDA®UNITY System tarafından da kontrol edilir.

Kullanıcılar, kullanıldıktan sonra tüm reaktiflerin ve materyallerin uygun şekilde bertarafından sorumludur. Bertaraf için, lütfen ulusal yönetmeliklere uyun.

Güvenlik Veri Formlarına (Safety Data Sheet, SDS) ilişkin daha fazla ayrıntı, <https://clinical.r-biopharm.com/search/> adresindeki öge numarasında bulunmaktadır.

Avrupa Birliği'ndeki kullanıcılar için: Ürünle ilişkili tüm ciddi advers olayları R-Biopharm AG ve uygun ulusal makamlara bildirin.

8. Örnekleri toplama ve saklama

RIDA®UNITY Norovirus I & II tahlilinin en iyi performansını sağlamak için taze örnek materyali kullanılması önerilir.

Örneği tekrar tekrar dondurmaktan ve çözmekten kaçının.

Gaita örneklerini, koruyuculu nakil ortam maddesi, hayvan serası, metal iyonları, oksitleyici ajanlar veya deterjanlar içeren nakil kaplarında toplamayın, çünkü bu maddeler RIDA®UNITY testleriyle etkileşime girebilirler.

Tekrarlanan çözme ve dondurmaya önlemek için örneklerin alikotlarının oluşturulması önerilir. Dondurulmuş örnekler, nükleik asitlerin bozulmasını önlemek için ekstraksiyondan hemen önce çözülmelidir.

Tablo 3 ile 6'daki örnek saklama talimatlarını izleyin.

Tab. 3: Örnek saklama - Norovirüs GI saptaması

Doğal örnekler - gaita		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤7 gün	≤9 gün	≤6 ay

Eluatta (gaitadan)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤24 saat	≤36 saat	≤1 ay

-20 / -80 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, gaita örneğini 5 defaya kadar tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

-20 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, eluatı (gaitadan) 3 defaya tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

Tab. 4: Örnek saklama - Norovirüs GII saptaması

Doğal örnekler - gaita		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤7 gün	≤9 gün	≤6 ay

Eluatta (gaitadan)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤24 saat	≤36 saat	≤1 ay

-20 / -80 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, gaita örneğini 5 defaya kadar tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

-20 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, eluatı (gaitadan) 3 defaya tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

8.1 Gaita örneklerinden DNA hazırlama

Gaita örneklerinden DNA'yı izole etmek için, RIDA®UNITY Universal Extraction Kit kullanın. RIDA®UNITY Universal Extraction Kit için kullanım talimatlarındaki doğru prosedürleri (Kısım: Gaita örneklerinden nükleik asit hazırlama) doğrudan izleyin.

9. Test prosedürü

RIDA®UNITY Norovirus I & II hem örnekleri ve hem de reaktifleri kullanımın başlangıcında RIDA®UNITY System üzerine yerleştirilir.

Öncesinde, **Reaction Mix**, **Negative Control** ve **Positive Control** ürünlerini bir vorteksleyici kullanarak yeterince karıştırın. **Enzyme Mix** ürününü vortekslemeyin. Bundan sonra, tüm bileşenleri kısa süreyle santrifüjleyin. İncelenecek örnekler için PCR tüpleri, entegre PCR döngüleyici cihazına önceden yerleştirilmelidir.

Sistemi reaktiflerle ve sarf malzemeleriyle doğru bir şekilde yüklemek için taşıyıcılar mevcuttur. Yükleme işlemi için, RIDA®UNITY System talimatlarını izleyin. RIDA®UNITY System kılavuzundaki ilgili kısımları izleyin (Kısım: Bir çalışma gerçekleştirme).

RIDA®UNITY Norovirus I & II testi, yalnızca RIDA®UNITY Internal Control Kit ile birlikte kullanılabilir. Bu, potansiyel PCR inhibisyonunun erkenden tanınmasını, reaktiflerin bütünlüğünü doğrulamayı ve başarılı nükleik asit ekstraksiyonunu doğrulamayı sağlar. Prosedür, RIDA®UNITY Internal Control Kit için kullanım talimatlarında (Kısım: Test prosedürü) açıklanmaktadır.

Otomatik işleme, RIDA®UNITY System kılavuzunda (Kısım: Bir çalışma gerçekleştirme) açıklanmaktadır.

9.1 Cihaz ayarları

9.1.1 Evrensel real-time PCR profili

RIDA®UNITY tahlillerini uyumlaştırmak için, RIDA®UNITY Norovirus I & II tahlili yalnızca evrensel profilde doğrulanmıştır. Bu, DNA ve RNA tahlillerini birbirleriyle birleştirmeyi olanaklı kılmaktadır. Genel olarak söylemek gerekirse, bu nedenle tersine transkripsiyon evrensel profilde önce gelmektedir.

Tab. 7: RIDA®UNITY evrensel real-time zamanlı PCR profili

<u>Tersine transkripsiyon</u>	10 dak, 58 °C
İlk denatürasyon	1 dak, 95 °C
Döngüler	45 döngü
<u>PCR</u> Denatürasyon	10 san, 95 °C
Tavlama/uzama	15 san, 60 °C
Sıcaklık geçiş hızı/rampa hızı	Maksimum

Not: Tavlama ve uzama aynı adımda gerçekleşir.

Tab. 8: CFX96™ Dx için evrensel real-time PCR profili

<u>Tersine transkripsiyon</u>	10 dak, 58 °C
İlk denatürasyon	1 dak, 95 °C
Döngüler	45 döngü
<u>PCR</u> Denatürasyon	15 san, 95 °C
Tavlama/uzama	30 san, 60 °C
Sıcaklık geçiş hızı/rampa hızı	Maksimum

Not: Tavlama ve uzama aynı adımda gerçekleşir.

9.2 Saptama kanalı ayarı

Tab. 9: Uygun saptama kanallarını seçme

Gerçek Zamanlı PCR aleti	Saptama	Saptama kanalı	Not
R-Biopharm RIDA®UNITY	Norovirus GII	FAM	SEEK kanalı GGII
	Dahili Kontrol	HEX	SEEK kanalı ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanalı GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Norovirus GII	FAM	SEEK kanalı GGII
	Dahili Kontrol	VIC	SEEK kanalı ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanalı GGI

10. Kalite kontrol - Reaktif instabilitesi veya son kullanma tarihinin dolması göstergesi

Örnekler, RIDA®UNITY System için RIDA®SEEK analitik yazılımı kullanılarak değerlendirilir. **Negative Control** ve **Positive Control** doğru sonuçları göstermelidir (bkz. Tab. 9).

Positive Control 10^3 kopya/ μ L konsantrasyonunda mevcuttur. Her PCR çalışmasında toplam 5×10^3 kopya miktarında kullanılır.

Negative Control, RIDA®UNITY Internal Control'ü zaten içerir. Kontrollerde bir şablon bulunmadığı için, hedef kanallarda hiçbir sinyal beklenmez. Dahili kontrol saptandığı IC kanalında pozitif sinyaller saptanması zorunludur (bkz. Tab. 10).

Tab.10: Geçerli bir PCR çalışması aşağıdaki koşulları karşılamalıdır:

Örnek	Sonuç	IC Ct	Hedef gen Ct
Pozitif kontrol	+	Yok*	Analiz Sertifikasına (Certificate of Analysis, CoA) bakın
Negatif kontrol	-	Ct >20	0

*Belirli durumlarda, IC kanalında pozitif kontrolde bir pozitif sinyal olabilir ve bu nedenle, bu değerlendirilmemelidir.

Pozitif kontrol, belirtilen Ct aralığında değilse, fakat negatif kontrol geçerliyse, kontroller dahil tüm reaksiyonların yeniden PCR'de yeniden analiz edilmeleri gerekir.

Negatif kontrol negatif değilse, fakat pozitif kontrol geçerliyse, kontroller dahil tüm reaksiyonların PCR'de yeniden analiz edilmeleri gerekir.

Belirtilen değere ulaşamıyorsa, testi tekrarlamadan önce aşağıdaki hususları kontrol edin:

- Kullanılan reaktiflerin son kullanma tarihi
- Kullanılan ekipmanın fonksiyonelliği
- Doğru test prosedürü

Test tekrarlandıktan sonra koşullar yine karşılanmıyorsa, lütfen üreticiye veya yerel R-Biopharm distribütörünüze başvurun.

11. Değerlendirme ve yorumlama

Örnek değerlendirme ve yorumlama, RIDA®UNITY System analiz yazılımı olan RIDA®SEEK kullanılarak yapılır.

Standartlaştırma için uluslararası olarak kabul edilmiş hiçbir güncel referans yöntem veya referans maddesi yoktur. Kontrol materyalleri, özgül, sentetik RNA amplikonlarına dayanarak dahili R-Biopharm AG standartlarına metrolojik olarak izlenebilir.

Metrolojik izlenebilirliğe ilişkin daha fazla bilgi için, lütfen R-Biopharm AG'yi arayın.

Belirtilen değerler, aralıklar ve diğer ayrıntılar, Analiz Sertifikasında (Certificate of Analysis, CoA) bulunmaktadır.

Tab.11: Sonuç yorumlama*

Saptama			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Sonuç
+	-	+/-	Norovirüs GII ¹ saptanabilir
-	+	+/-	Norovirüs GI saptanabilir
+	+	+/-	Norovirüs GII ¹ ve Norovirüs GI saptanabilir
-	-	+	Hedef genler saptanabilir değil
-	-	-	Geçersiz

*+ = pozitif

- = negatif

¹ Yöntemin sınırlamaları kısmına (Kısım 10) bakın.

Bir örnek, örnek RNA'sı ve **Internal Control** saptama sisteminde bir çoğalma sinyali gösterdiğinde pozitifdir.

Bir örnek, örnek RNA'sı bir çoğalma sinyali gösteriyorsa, fakat **Internal Control** için saptama sisteminde bir çoğalma sinyali görülemiyorsa yine pozitif şeklinde değerlendirilir. **Internal Control** saptama bu durumda gerekli değildir, çünkü yüksek amplikon konsantrasyonları, **Internal Control** için sinyalin zayıf olmasına veya hiç olmamasına neden olabilir.

Bir örnek, örnek RNA'sı bir çoğalma sinyali göstermiyorsa, fakat **Internal Control** için saptama sisteminde bir çoğalma sinyali görülebiliyorsa, negatif şeklinde değerlendirilir. PCR reaksiyonunun inhibisyonu ve önceki ekstraksiyon, **Internal Control** saptamasıyla dışarıda bırakılabilir.

Örnek, örnek RNA'sı ve **Internal Control** saptama sisteminde bir çoğalma sinyali göstermediğinde geçersizdir. Örnekte inhibitörler vardır veya ekstraksiyon işlemi sırasında bir hata oluşmuştur.

12. Yöntemin sınırlamaları

1. RIDA®UNITY Norovirus I & II testi, işlenmemiş insan gaita örneklerinde norovirüs GI ve norovirüs GII RNA'sını saptar. Bundan, belirlenmiş Ct değerinin düzeyi ve şiddetli klinik semptomların ortaya çıkışı arasında bir bağlantı çıkarılamaz. Elde edilen sonuçlar, her zaman tüm klinik semptomlarla birlikte yorumlanmalıdır.
2. Tanı, tek başına moleküler biyolojik analize dayandırılmamalı, fakat hastanın tıbbi öyküsünü ve semptomlarını da her zaman dikkate almalıdır.
3. Bu test, yalnızca RIDA®UNITY System üzerinde otomatik işleme için onaylanmıştır.
4. Bu test, geçerli yalnızca gaita örnekleri için doğrulanmış ve onaylanmıştır.
5. Uygun olmayan örnekleme, taşıma, saklama ve kullanma veya testin analitik hassasiyetinin altındaki bir patojen yükü, yalancı negatif sonuçlara neden olabilir.
6. PCR inhibitörlerinin varlığı, yalancı negatif veya geçersiz sonuçlara neden olabilir.
7. Tüm PCR tabanlı *in vitro* tanısal testlerde olduğu gibi, hedef sekansların saptama sınırının (LoD %95) altında olan son derece düşük konsantrasyonları saptanabilir. Elde edilen sonuçlar her zaman yeniden üretilebilir değildir.
8. Primer veya prob bağlanan bölgelerdeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen varyantların saptanmasıyla etkileşebilir ve RIDA®UNITY Norovirus I & II kullanıldığında yalancı negatif sonuçlara neden olabilir.
9. Bir pozitif sonucu, yaşayabilir organizmaların varlığı olasılığını her zaman belirtmez. Bir pozitif sonuç, hedef genlerin (norovirüs GI ve GII; ORF1/ORF2 birleşme bölgesi) var olduğunu belirtir.
10. Çok nadir vakalarda insanları da enfekte edebilen gen grubu IV norovirüsleri de benzer şekilde RIDA®UNITY Norovirus I & II kullanılarak saptanabilir.
11. Bu tahlil, iyi laboratuvar uygulamalarına (GLP) ilişkin yönetmeliğe uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Kullanıcılar, testi gerçekleştirirken üretici firmanın talimatlarına kesinlikle uymalıdır.

13. Performans özellikleri

13.1 Klinik performans özellikleri

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time PCR testi, bir harici laboratuvarında, CE işaretli bir referans testle, gastrointestinal enfeksiyon belirtileri olan hastalardan alınan 237 gaita örneğine dayanarak karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar, insan gaita örneklerinde GI veya GII saptaması için yüksek bir duyarlılık ve özgüllük göstermiştir.

Tab. 12: Norovirüs GI saptaması

		Referans PCR		Toplam
		Pozitif	Negatif	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Pozitif	33	0	33
	Negatif	3	201	204
	Toplam	36	201	237

Görelî hassasiyet (%95 CI)	%91,7 (%77,5 - %98,2)
Görelî özgüllük (%95 CI)	%100 (%98,2 - %100)

Tab. 13: Norovirüs GII saptaması

		Referans PCR		Toplam
		Pozitif	Negatif	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Pozitif	126	0	126
	Negatif	4	107	111
	Toplam	130	107	237

Görelî hassasiyet (%95 CI)	%96,9 (%92,3 - %99,2)
Görelî özgüllük (%95 CI)	%100 (%96,6 - %100)

13.2 Analitik performans özellikleri

13.2.1 Saptama sınırı (LoD %95)

Bir pozitif örnek (negatif gaita havuzu, pozitif klinik gaita örnekleriyle zenginleştirilmiş), LoD'u belirlemek amacıyla her bir hedef için beş seyreltme adımında (0,25-log adımlarla), tek bir lotta adım başına 20 replikatla ölçülmüştür. Bunun ardından bir probit analizi yapılmıştır. Daha sonra, hesaplanan LoD, hesaplanan seyreltme adımı/konsantrasyon için hedef başına 20 replikatla doğrulanmıştır.

RIDA®UNITY Norovirus I & II tahlili, UNITY System üzerinde kullanılarak norovirüs GI ve norovirüs GII RNA'sını saptamak için, aşağıdaki saptama sınırları (LoD) belirlenmiştir.

Bu ölçümlerin sonuçları Tablo 15'de gösterilmektedir.

Tab. 15: Gaita örneklerinde Norovirüs GI ve norovirüs GII parametreleri için RIDA®UNITY Norovirus I & II testinin saptama sınırı sonuçları

	Norovirus GI	Norovirus GII
LoD	4.85E-04 [seyreltme faktörü]**	5.98E-05 [seyreltme faktörü]*

(*) Stok konsantrasyonunun görece seyreltmesi. 26 - 27 Ct aralığıyla pozitif klinik örnek

(**) Stok konsantrasyonunun görece seyreltmesi. 30 - 31 Ct aralığıyla pozitif klinik örnek

Gaita örneklerinde norovirüs GI parametresi için LoD, 4.85E-04 [seyreltme faktörü] olarak belirlenmiştir.

Gaita örneklerinde norovirüs GII parametresi için LoD, 5.98E-05 [seyreltme faktörü] olarak belirlenmiştir.

CFX96™ Dx kullanılan zenginleştirilmiş iş akışı için, bu LoD değerleri, 2-3-katlık bir LoD aralığında kaldığımız varsayımıyla doğrulanmıştır.

13.2.2 Analitik özgüllük

Etkileşen maddeler

PCR inhibitörlerinin ve etkileşen maddelerin varlığı, yalancı negatif veya geçersiz sonuçlara neden olabilir. Bu nedenle, gastrointestinal enfeksiyonlar için yaygın kullanımları nedeniyle çeşitli maddelerin var olabilecek etkileri veya ilgili örneklerde yaygın ortaya çıkışları araştırılmıştır.

Test sonuçlarını potansiyel olarak önemli ölçüde etkileyebilecek maddeler, bir etkileşim taramasında başlangıçta yüksek konsantrasyonlarda (günlük dozun üç katı veya en kötü durum simülasyonu) incelenmiştir.

Tablo 16'da listelenen maddeler için hiçbir etkileşim bulunamamıştır.

Tab. 16: Potansiyel olarak etkileşen maddeler

Potansiyel olarak etkileşen madde	Konsantrasyon
Ciprofloxacın-ratiopharm® 500 mg film kaplı tablet (siprofloksasin)	%0,375 [w/v]
Etanol	Eluata dayanarak %5
Guanidinium hidroklorit	Eluata dayanarak %5
İnsan kanı	%5 [v/v]
Müsinler	%5 [w/v]
Stearik/palmitik asit	%40 [w/v]

Çapraz reaksiyonlar

Gaita matrisinde yaygın olarak bulunan çeşitli organizmalar (bakteriler, parazitler ve virüsler) araştırılmıştır. Bu tahlil için araştırılacak mikroorganizmalar, ya gaita örneklerinde doğal olarak ortaya çıkmaları ya da gastrointestinal patojenler olarak ilgili semptomlara neden olmaları nedeniyle seçilmiştir. Analizler için, ilgili organizmalar için bakteri kültürleri (10^7 ve 10^9 CFU/mL arasında) ve mantar kültürleri veya viral izolatlar (pozitif gaita örneklerinden) kullanılmıştır.

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time PCR testi, norovirüs GI ve norovirüs GII'ye özgüdür Aşağıdaki türlerle hiçbir çapraz reaktivite saptanmamıştır (bkz. Tab. 17):

Tab. 17: Potansiyel olarak çapraz reaktiviteli organizmalar.

Organizma	Test sonucu*	
	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 Kesinlik

RIDA® UNITY Norovirus I & II real-time PCR testi için kesinlik, aşağıdaki düzeyler için belirlenmiştir.

Tahlil *içi* kesinlik: RIDA®UNITY üzerinde aynı koşullarda her birinde 20 replikat olmak üzere 5 kontrol örneğinin belirlenmesi.

Tahlil *arası* kesinlik: Yeniden üretilebilir koşullarda, farklı aletler üzerinde, 10 iş gününde çift halinde 20 çalışmada (günde 2 çalışma) 5 kontrol örneğinin belirlenmesi.

Tahlil *arası* ve tahlil *içi* kesinlik testi, üç farklı lot kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

RIDA®UNITY üzerinde RIDA®UNITY Norovirus I & II real-time PCR testi kullanılarak yapılan her bir ölçümden elde edilen varyasyon katsayısı, %4,82'den fazla olmamıştır ve CFX96™ Dx üzerinde %3,25'ten fazla olmamıştır.

Tab. 18: Norovirüs GI için RIDA®UNITY Norovirus I & II testi kesinlik sonuçları (RIDA®UNITY System).

Ct ortalama değer/CV	Tahlil <i>içi</i>			Tahlil <i>arası</i>			Lot <i>arası</i>
	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1-3
1 Ct	25,6	24,1	24,3	30,5	29,6	29,4	29,8
1 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
2 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
3 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
4 CV (%)	1,50	1,30	0,93	3,17	2,34	2,75	3,35
5 Ct	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
5 CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 19: Norovirüs GI için RIDA®UNITY Norovirus I & II testi kesinlik sonuçları (CFX96™ Dx).

Ct ortalama değer/CV	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası	
	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 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	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 20: Norovirüs GII için RIDA®UNITY Norovirus I & II testi kesinlik sonuçları (RIDA®UNITY System).

Ct ortalama değer/CV	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası	
	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 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	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tab. 21: Norovirüs GII için RIDA®UNITY Norovirus I & II testi kesinlik sonuçları (CFX96™ Dx).

Ct ortalama değer/CV	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası	
	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 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	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

13.2.4 Analitik reaktivite

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR testinin reaktivitesi, tanımlanmış bir çeşitli norovirüs gen grubu I ve II gen tipleri paneli üzerinde incelenmiştir (bkz. Tab. 22).

Tab. 22: Analitik reaktivite testi

Suş	Sonuç*	
	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	-	+

* + = pozitif (en az 3 replikattan 2'si pozitif)










- = negatif

14. Sürüm geçmişi

Sürüm numarası	Bölüm ve adlandırma
2022-08-09	Yayın sürümü

15. Simgelerin açıklamaları

Genel simgeler

	<i>In vitro</i> tanı amaçlı kullanım içindir
	Kullanma talimatlarını izleyin
	Parti numarası
	Son kullanma tarihi
	Saklama sıcaklığı
	Madde numarası
	Test sayısı
	Üretim tarihi
	Üretici firma

Teste özel simgeler

	Reaksiyon Karışımı
	Enzim Karışımı
	Negatif kontrol
	Pozitif kontrol

16. Referanslar

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).