

Xpert[®] Norovirus

REF GXNOV-CE-10

Návod k použití

IVD CE

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Cepheid®, logo Cepheid, GeneXpert® a Xpert® jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

NÁKUPEM TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘEVODITELNÉ PRÁVO PRODUKT POUŽÍVAT V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. NEPŘEVÁDÍ SE ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA, A TO VÝSLOVNĚ, NEPŘÍMO ANI PODLE ZÁSADY ESTOPPEL. DÁLE SE S PRODEJEM TOHOTO PRODUKTU NEPŘEVÁDÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA OPAKOVANÝ PRODEJ.

© 2014-2023 Cepheid.

Podrobný popis změn naleznete v části 24, Historie revizí.

Xpert[®] Norovirus

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

1 Vlastnický název

Xpert[®] Norovirus

2 Běžný nebo obvyklý název

Xpert Norovirus

3 Určené použití

Test Cepheid Xpert[®] Norovirus prováděný na přístrojových systémech Cepheid GeneXpert[®] je kvalitativní *in vitro* diagnostický test pro detekci a diferenciaci RNA noroviru genoskupiny I a genoskupiny II ze surových nebo nekonzervovaných vzorků nezformované stolice odebraných od osob s příznaky akutní gastroenteritidy. Test k detekci RNA noroviru využívá automatizovanou polymerázovou řetězovou reakci s reverzní transkripcí (RT-PCR) v reálném čase. Test Xpert Norovirus je určen na pomoc při diagnóze infekce norovirem při použití společně s klinickým vyhodnocením, laboratorními nálezy a epidemiologickými informacemi. Test také pomáhá při detekci a identifikaci infekcí norovirem v kontextu epidemií.

4 Souhrn a vysvětlení

Noroviry jsou neobalené viry ssRNA (s jednovláknovou RNA) rodu *Norovirus*, čeledi *Caliciviridae*, které mohou způsobit akutní gastroenteritidu u lidí a dalších savců. První norovirus byl identifikován jako příčina epidemie gastroenteritidy v Norwalku, Ohio, v r. 1968.¹ Odhaduje se, že norovirus může být hlavní příčinou více než 23 milionů každoročních případů gastroenteritidy v USA, což představuje asi 60 % všech případů akutní gastroenteritidy.² Noroviry se klasifikují do pěti různých genoskupin, z nichž genoskupina I (GI) a genoskupina II (GII) způsobují většinu infekcí u lidí.

Noroviry jsou hlavní příčinou gastroenteritidy na celém světě. Postihují osoby v každém věku a jsou častou příčinou nákazy v kolektivních zařízeních, jako jsou domovy důchodců, nemocnice, denní stacionáře, vězení a výletní lodi.^{3–6} Příznaky infekce norovirem obvykle zahrnují průjem, zvracení, žaludeční křeče a horečku. Onemocnění je obvykle sebelimitující a příznaky a známky přetrvávají několik dní. U dětí, starých lidí a lidí s oslabenou imunitou může onemocnění ohrožovat život z důvodu dehydratace. Obvyklé názvy spojované s gastroenteritidou způsobenou norovirem jsou virus zimního zvracení, žaludeční chřipka, akutní nebakteriální gastroenteritida a virová gastroenteritida. Norovirus lze kultivovat pouze ve velice specializovaných systémech buněčné kultury.⁷ K přímé vizualizaci noroviru ve vzorcích stolice lze použít elektronovou mikroskopii, která však má slabou citlivost.⁸

Komerčně dostupné enzymatické imunoanalýzy (EIA) se v situacích epidemie noroviru ukázaly jako užitečné. Nicméně kvůli nízké citlivosti jsou komerčně dostupné EIA užitečné pouze v případech vysoké prevalence infekce norovirem. Kromě toho současně pokyny CDC doporučují, aby všechny negativní výsledky EIA byly potvrzeny molekulárními metodami.⁸ Je známo, že současně dostupné EIA mají nízkou citlivost (36–80 %) ve srovnání s metodami RT-PCR a nízkou až dobrou specificitu (47–100 %) v závislosti na testovacím prostředí.^{9–15} V Evropě a v Japonsku, kde existují komerčně dostupná molekulární stanovení, ale musí je provádět laboranti důkladně proškolení v molekulárních metodách a ze své podstaty jsou založena na testování v režimu šarží, což působí zpoždění při hlášení výsledků. Podle současných pokynů CDC se doporučuje, aby poskytovatelé zdravotní péče zvážili vývoj a přijetí protokolů, které umožní klinické a virologické potvrzení podezřelých případů symptomatické infekce norovirem při současném zavedení okamžitých kontrolních opatření ke snížení rozsahu potenciální epidemie noroviru.¹⁶ Stanovení Xpert Norovirus je rychlý, přesný molekulární test na vyžádání, usnadňující potvrzení a zahájení rychlých kontrolních opatření bez ohledu na míru prevalence.

5 Princip postupu

Test je automatizovaný a využívá automatizovanou polymerázovou řetězovou reakci s reverzní transkripcí (RT-PCR) v reálném čase k detekci specifických virových sekvencí genu spojených norovirem genoskupiny I a genoskupiny II. Vzorky stolice jsou odebrány od osob s příznaky akutní gastroenteritidy a přepraveny do laboratoře v čisté nádobě. Do vzorku stolice se vloží odběrový tampon, který se poté umístí do zkumavky obsahující vzorkovou reagenii. Po krátkém promíchání na třepačce vortex se eluovaný vzorek přenesení do vzorkové komůrky jednorázové kapalinové kazety (kazeta GeneXpert). Kazeta GeneXpert se založí na plošinu přístrojového systému GeneXpert, která provede samostatně automatické zpracování vzorku a RT-PCR v reálném čase za účelem identifikace a diferenciaci noroviru genoskupiny I a genoskupiny II.

Přístrojové systémy GeneXpert automatizují a integrují přípravu vzorku, extrakci a amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílové sekvence v jednoduchých nebo komplexních vzorcích pomocí reverzní transkripční polymerázové řetězové reakce (RT-PCR) a PCR stanovení v reálném čase. Systémy sestávají z přístroje, osobního počítače a předem načteného softwaru pro zpracování stanovení a zobrazení výsledků. Systémy vyžadují použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují reagenie RT-PCR a PCR a ve kterých probíhají procesy RT-PCR a PCR. Protože kazety jsou uzavřené a soběstačné, minimalizuje se tak zkřížená kontaminace mezi vzorky. Plný popis systémů naleznete v příslušné *Příručce obsluhy pro GeneXpert Dx (GeneXpert Dx Operator Manual)* nebo *Příručce obsluhy pro GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity Operator Manual)*.

Test Xpert Norovirus obsahuje reagenie pro detekci sekvencí nukleové kyseliny noroviru genoskupiny I a genoskupiny II ze surových nebo nekonzervovaných vzorků nezformované stolice odebraných od osob s příznaky akutní gastroenteritidy. Kazeta obsahuje také kontrolu zpracování vzorků (Sample Processing Control, SPC) a kontrolu sondy (Probe Check Control, PCC). SPC je určena ke kontrole adekvátního zpracování cílových virů a ke sledování přítomnosti inhibitorů v reakci PCR. PCC ověřuje rehydrataci suché reagenie, plnění PCR zkumavky v kazetě, neporušenost sondy a stabilitu barviva.

6 Reagenie a přístroje

6.1 Dodané materiály

Testovací souprava Xpert Norovirus (katalogové č. GXNOV-CE-10) obsahuje dostatečné množství reagenií na zpracování 10 vzorků nebo vzorků pro kontrolu kvality. Obsah soupravy:

Kazety Xpert Norovirus s integrovanými reakčními zkumavkami	10
<ul style="list-style-type: none"> • Perlička 1, perlička 2 a perlička 3 (sušené mrazem) • Eluční reagenie • Proplachovací reagenie • Vazebná reagenie (guanidinium thiokyanát) 	1 od každé na kazetu 1,5 ml na kazetu 1,0 ml na kazetu 2,7 ml na kazetu
Vzorková reagenie (guanidinium thiokyanát)	10 x 2,0 ml na láhev
CD	1 v každé soupravě
<ul style="list-style-type: none"> • Soubor definice analýzy (ADF) • Pokyny k importu ADF do softwaru • Návod k použití (příbalová informace) 	

Poznámka

Bezpečnostní listy (SDS) jsou k dispozici na adrese www.cepheid.com nebo www.cepheidinternational.com na kartě **PODPORA (SUPPORT)**.

Poznámka

Hovězí sérový albumin (BSA) v perličkách v tomto produktu byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států amerických. Zvířata nebyla krmena bílkovinami pocházejícími z přežvýkavců či jiných zvířat; zvířata prošla testy ante-mortem i post-mortem. V průběhu zpracování nedocházelo k žádnému směšování materiálů s jinými zvířecími materiály.

7 Skladování a manipulace

- Kazety a reagentie testu Xpert Norovirus skladujte při teplotách 2 °C–8 °C.
- Nepoužívejte reagentie nebo kazety s prošlým datem expirace.
- Víko kazety neotevírejte, dokud nejste připraveni k provedení testu.
- Kazetu použijte do 30 minut od otevření víka.

8 Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

- Přístroj GeneXpert Dx System nebo GeneXpert Infinity System (katalogová čísla se liší podle konfigurace): Přístroj GeneXpert, počítač s vlastnickou verzí softwaru GeneXpert Software 4.3 nebo vyšší, ruční skener čárového kódu a příručka uživatele.
- Tiskárna: Kontaktujte prodejního zástupce společnosti Cepheid Sales a sjednejte si s ním nákup doporučené tiskárny.
- Míchačka Vortex
- Jednorázové přenosové pipety
- Jednorázový suchý odběrový tampon s rajonovým hrotem (SPDS-120) nebo ekvivalentní pro přenos vzorků stolice ze vzorkové nádoby do láhve se vzorkovou reagentií
- Čistá vzorková nádoba bez konzervačních činidel

9 Dostupné materiály, které nejsou součástí dodávky

- ZeptoMetrix NATtrol™ Rotavirus Stock (katalogové č. NATROTA-6MC) jako externí negativní kontrola.
- ZeptoMetrix NATtrol™ Norovirus GI Stock a NATtrol™ Norovirus GII Stock (katalogové č. NATNOVI-6MC a NATNOVII-6MC) jako externí pozitivní kontroly.

10 Varování a bezpečnostní upozornění

10.1 Obecně

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet a reagentií, zacházejte jako se schopnými přenosu infekčních agens. Protože často není možné vědět, které vzorky mohou být infekční, se všemi biologickými vzorky je třeba zacházet se standardními bezpečnostními opatřeními. Pokyny pro manipulaci se vzorky jsou k dispozici od center pro kontrolu a prevenci onemocnění¹⁹ USA (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) a od Institutu pro klinické a laboratorní standardy (Clinical and Laboratory Standards Institute).²⁰
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je nutné považovat za schopné přenosu infekčních agens a vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagentií dodržujte postupy vašeho zdravotnického zařízení pro ekologickou likvidaci odpadu. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky chemického nebezpečného odpadu vyžadujícího dodržování specifických národních nebo regionálních postupů pro likvidaci. Pokud národní nebo regionální předpisy neobsahují jasné pokyny ke správné likvidaci, biologické vzorky a použité kazety je třeba likvidovat podle pokynů Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) k manipulaci se zdravotnickým odpadem a k jeho likvidaci. Ohledně správné likvidace použitých kazet a nepoužitých reagentií se poraďte s pracovníky vašeho zdravotnického zařízení odpovídajícími za ekologickou likvidaci odpadu.


10.2 Vzorek

- Při přepravě vzorků dodržujte správné podmínky uchovávání, aby byla zajištěna celistvost vzorku (viz Část 12. Odběr, přeprava a skladování vzorků). Stabilita vzorku za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- Správný odběr, skladování a přeprava vzorků jsou nezbytné k získání správných výsledků.

10.3 Stanovení/reagencie

- Nenahrazujte reagencie testu Xpert Norovirus jinými reagenty.
- Neotevírejte víko kazety testu Xpert Norovirus, dokud nejste připraveni přidat vzorek.
- Nepoužívejte kazetu, která upadla po vyjmutí ze soupravy nebo byla protřepána po otevření víka kazety. Protřepání nebo upuštění kazety po otevření víka může způsobit falešné nebo neurčité výsledky.
- Štítek s ID vzorku neumísťujte na víko kazety ani na štítek s čárovým kódem.
- Nepoužívejte kazetu, pokud se zdá být vlhká nebo pokud se zdá, že je porušené těsnění víka.
- Vzorková reagencie je čirá, bezbarvá kapalina. Vzorkovou reagencii nepoužívejte, pokud je zakalená nebo zabarvená.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.
- Každá jednorázová kazeta testu Xpert Norovirus se používá ke zpracování jednoho testu. Použité kazety nepoužívejte opakovaně.
- Je nutné dodržovat správnou laboratorní praxi a vyměňovat rukavice při manipulaci mezi jednotlivými vzorky, abyste zabránili kontaminaci vzorků nebo reagentů. Pravidelně čistěte pracovní povrchy/oblasti 10% chlorovým bělídlem, poté povrch otřete znovu 70% etanolem nebo isopropylalkoholem, a to před a po zpracování vzorků Xpert Norovirus.
- Vzorky mohou obsahovat vysoké hladiny organismů. Zajistěte, aby se nádoby se vzorky navzájem nedotýkaly. Vyměňte si rukavice, pokud přijdou do přímého kontaktu se vzorkem a po zpracování každého vzorku, aby nedošlo ke kontaminaci dalších vzorků.

11 Chemická nebezpečí^{19, 20}

- Piktogram pro nebezpečí UN GHS 
- Signální slovo: VAROVÁNÍ
- **Věty o nebezpečnosti podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN:**
 - Zdraví škodlivý při požití.
 - Způsobuje mírné podráždění pokožky.
 - Způsobuje podráždění očí.
- Pokyny pro bezpečné zacházení podle Globálně harmonizovaného systému klasifikace OSN:
 - **Prevence**
 - Po manipulaci důkladně omyjte.
 - **Reakce**
 - Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
 - Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
 - **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ:** Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
 - Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
 - **Skladování a likvidace**
 - Obsah a/nebo nádobu zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.

12 Odběr, přeprava a skladování vzorků

1. Odeberte vzorek surové nebo nekonzervované nezformované stolice do čisté nádoby bez konzervačních činidel. Při odběru vzorků pro testování noroviru postupujte podle pokynů vašeho zdravotnického zařízení.
2. Nádobku se vzorkem označte jménem pacienta a ID vzorku a odešlete ji do laboratoře.
3. Vzorky skladujte při teplotě 2 °C–8 °C. Vzorek je stabilní až dva dny, pokud je skladován při teplotě 2 °C–8 °C.

13 Postup

13.1 Příprava kazety

Poznámka Test zahajte do 30 minut od přidání vzorkové reagentie do kazety.

Jak přidat vzorek do kazety:

1. Vyjměte kazetu a láhev se vzorkovou reagentií ze soupravy.
2. Namočte odběrový tampon do surového nebo nekonzervovaného vzorku nezformované stolice. Viz Obrázek 1, kde najdete správné množství vzorků pro použití s testem Xpert Norovirus.

Omotejte sterilní gázu kolem dřívku odběrového tamponu a uťte láhve, aby se na minimum omezilo riziko kontaminace. Nepokrývejte celou vláknitou špičku odběrového tamponu stolicí. Viz Obrázek 1. Příliš mnoho stolice může způsobit chyby a neplatné výsledky.

Poznámka

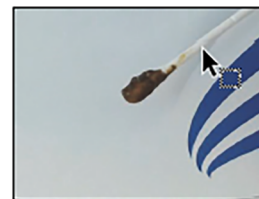
Příliš málo vzorku



Správné množství vzorku



Příliš mnoho vzorku



Obrázek 1. Odběr vzorku odběrovým tamponem

3. Po sejmutí víčka z láhve vzorkové reagentie vložte odběrový tampon se vzorkem stolice do láhve vzorkové reagentie.
4. Držte odběrový tampon za dřívík blízko okraje láhve. Zvedněte odběrový tampon několik milimetrů ode dna láhve a přehněte dřívík přes okraj láhve, aby se ulomil. Odběrový tampon musí být dostatečně krátký, aby se vešel do láhve, kterou pevně uzavřete víčkem.
5. Uzavřete víčko láhve vzorkové reagentie a promíchejte na třepače vortex při vysoké rychlosti deset sekund.
6. Otevřete víko kazety. Pomocí čisté přenosové pipety (není součástí balení) přeneste celý obsah láhve vzorkové reagentie do vzorkové komůrky kazety testu Xpert Norovirus. Viz Obrázek 2.
7. Uzavřete víko kazety a do 30 minut spusťte test.



Ukázková komora
(velký otvor)

Obrázek 2. Kazeta Xpert Norovirus (pohled seshora)

13.2 Spuštění testu

Poznámka Před spuštěním testu se ujistěte, že do softwaru byl importován soubor definice analýzy pro test Xpert Norovirus. Tato část uvádí základní kroky při zpracování testu. Podrobné pokyny viz *Příručka obsluhy systému GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* nebo *Příručka obsluhy systému GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*, v závislosti na modelu použitého přístroje.

Poznámka Postup se může lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Zapněte přístroj GeneXpert:

- a) Pokud používáte přístroj GeneXpert Dx, nejprve zapněte přístroj a poté počítač. Software GeneXpert se spustí automaticky, nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu softwaru GeneXpert Dx na pracovní ploše systému Windows®.
nebo
- b) Pokud používáte přístroj GeneXpert Infinity, zapněte přístroj. Software GeneXpert se spustí automaticky, nebo může vyžadovat dvojité kliknutí na ikonu softwaru Xpertise na pracovní ploše systému Windows®.
2. Přihlaste se do přístrojovými systémy GeneXpert softwaru se svým uživatelským jménem a heslem.
3. V okně systému GeneXpert klikněte na **Vytvořit test (Create Test)** (GeneXpert Dx) nebo na **Objednávky (Orders)** a **Objednat test (Order Test)** (GeneXpert Infinity). Otevře se okno Vytvořit test (Create Test).
4. Naskenujte (nebo zadejte) ID pacienta (Patient ID) (volitelné). Pokud ID pacienta (Patient ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID pacienta (Patient ID) se zobrazuje na levé straně okna Zobrazit výsledky (View Results) a je spojeno s výsledky testu.
5. Naskenujte (nebo zadejte) ID vzorku (Sample ID). Pokud ID vzorku (Sample ID) zadáváte, dbejte, aby bylo zadáno správně. ID vzorku (Sample ID) se zobrazuje na levé straně okna Zobrazit výsledky (View Results) a je spojeno s výsledky testu.
6. Naskenujte čárový kód kazety testu Xpert Norovirus. Pomocí informací z čárového kódu software automaticky vyplní následující pole: Výběr rozboru (Select Assay), ID šarže reagentie (Reagent Lot ID), Sériové číslo kazety (Cartridge SN) a Datum expirace (Expiration Date).

Poznámka

Pokud se čárový kód na kazetě testu Xpert Norovirus neoskenuje, opakujte test s novou kazetou postupem podle části Postup při opakování testu.

7. Klikněte na **Zahájit test (Start Test)** (GeneXpert Dx) nebo na **Odeslat (Submit)** (GeneXpert Infinity).
Do zobrazeného dialogového okna zadejte své heslo.
8. U systému GeneXpert Infinity vložte kazetu na dopravníkový pás. Kazeta se založí automaticky, proběhne test a použitá kazeta vypadne do odpadové nádoby.
nebo
U přístroje GeneXpert Dx:
 - a) Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a založte kazetu.
 - b) Zavřete dvířka. Spustí se test a zelené světlo přestane blikat. Po dokončení testu světlo zhasne.
 - c) Před otevřením dvířek modulu a vyjmutím kazety počkejte, až systém uvolní zámek dvířek.
 - d) Použité kazety zlikvidujte do vhodné odpadové nádoby na vzorky podle standardní praxe vašeho zdravotnického zařízení.

14 Zobrazení a tisk výsledků

Tato část uvádí základní kroky při zobrazení a tisku výsledků. Podrobnější pokyny k zobrazení a tisku výsledků viz *Příručka obsluhy systému GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)* nebo *Příručka obsluhy systému GeneXpert Infinity (GeneXpert Infinity System Operator Manual)*.

1. Výsledky zobrazíte kliknutím na ikonu **Zobrazení výsledků (View Results)**.
2. Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Zpráva (Report)** v okně Zobrazení výsledků (View Results) pro zobrazení a/ nebo generování PDF souboru zprávy.

15 Kontrola kvality

15.1 Vestavěné kontroly kvality

Každý test zahrnuje kontrolu zpracování vzorku (Sample Processing Control, SPC) a kontrolní systém sondy (Probe Check Control, PCC).

- **Kontrola zpracování vzorku (SPC):** Zajišťuje správné zpracování vzorku. SPC obsahuje Armored RNA®, která je součástí každé kazety pro ověření adekvátního zpracování vzorku. SPC ověřuje, zda došlo k uvolnění RNA z viru, zda je přítomen organismus a zda je zpracování vzorku adekvátní. Tato kontrola navíc detekuje inhibiční reakcí RT-PCR a PCR

související se vzorkem. SPC musí být pozitivní v negativním vzorku a může být negativní nebo pozitivní v pozitivním vzorku. SPC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.

- **Systém kontroly sondy (PCC):** Před zahájením PCR reakce měří přístrojový systém GeneXpert Dx nebo GeneXpert Infinity fluorescenční signál ze sond (SPC, QC1 a QC2, jedna pro každou ze dvou reagenčních perliček) a monitoruje rehydrataci perliček, plnění reakční zkumavky, neporušenost sondy a stabilitu barviva. Kontrola sondy je úspěšná, když splní předepsaná kritéria pro přijetí.

15.2 Externí kontroly

- Externí kontroly: ZeptoMetrix NATrol Rotavirus Stock (katalogové č. NATROTA-6MC) jako externí negativní kontrola a ZeptoMetrix NATrol Norovirus GI Stock a NATrol Norovirus GII Stock (katalogové č. NATNOVI-6MC a NATNOVII-6MC) jako externí pozitivní kontroly mohou být použity v souladu s místními, státními a federálními akreditujícími organizacemi, podle potřeby.

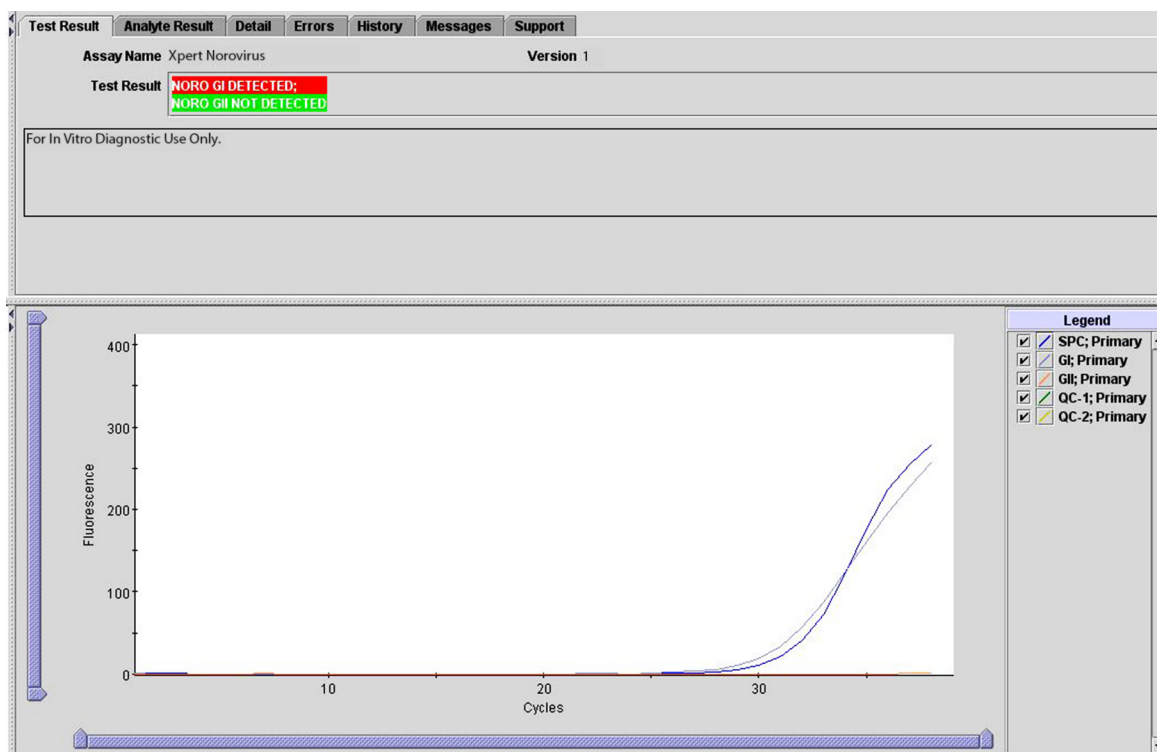
16 Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpretovány přístrojovými systémy GeneXpertz naměřených fluorescenčních signálů a vestavěných výpočetních algoritmů a budou uvedeny v okně Zobrazení výsledků (View Results). Možné výsledky uvádí Tabulka 1.

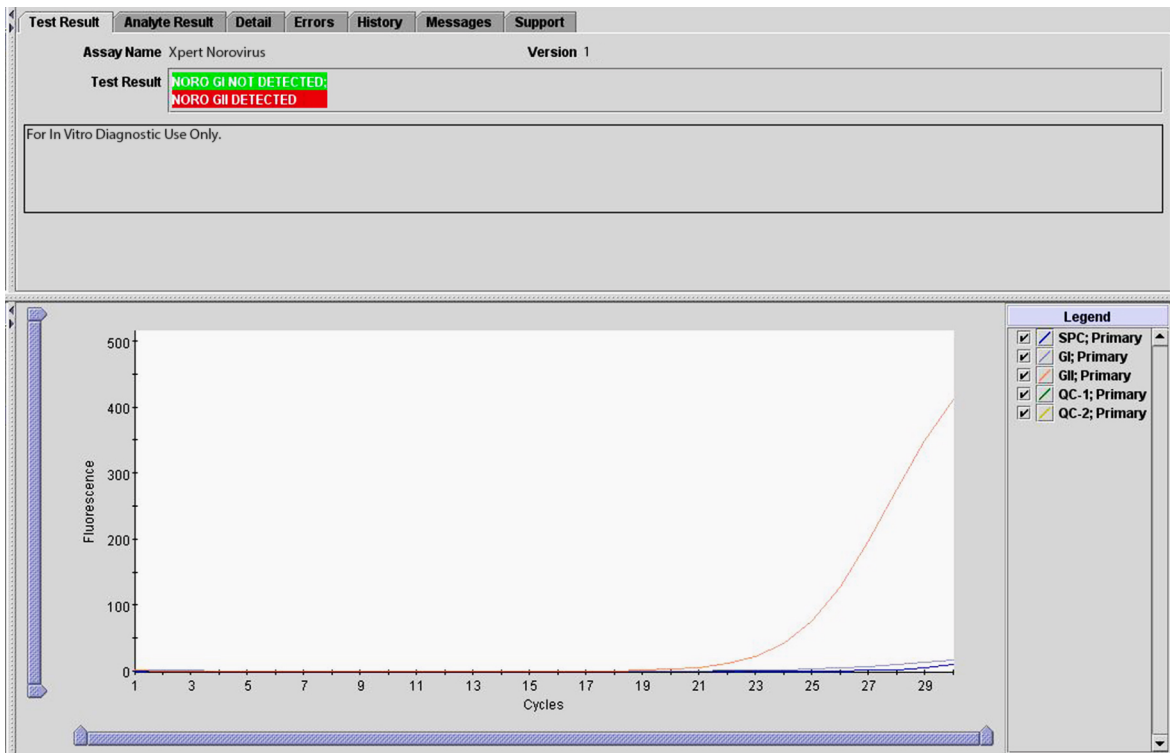
Tabulka 1. Výsledky a interpretace Xpert Norovirus

Výsledek	Interpretace
<p>NORO GI DETEKOVÁN, NORO GII NEDETEKOVÁN (NORO GI DETECTED, NORO GII NOT DETECTED)</p> <p>Viz Obrázek 3.</p>	<p>Je detekována sekvence RNA Noroviru genoskupiny I (GI).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cílová sekvence RNA Noroviru genoskupiny I (GI) má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou prahovou hodnotou. • SPC – NEUPLATŇUJE SE (NA); SPC se ignoruje, protože amplifikace cíle noroviru může konkurovat této kontrole. • PCC - ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
<p>NORO GI NEDETEKOVÁN, NORO GII DETEKOVÁN (NORO GI NOT DETECTED, NORO GII DETECTED)</p> <p>Viz Obrázek 4.</p>	<p>Je detekována sekvence RNA Noroviru genoskupiny II (GII).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cílová sekvence RNA Noroviru genoskupiny II (GII) má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou prahovou hodnotou. • SPC – NEUPLATŇUJE SE (NA); SPC se ignoruje, protože amplifikace cíle noroviru může konkurovat této kontrole. • PCC - ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
<p>NORO GI DETEKOVÁN, NORO GII DETEKOVÁN (NORO GI DETECTED, NORO GII DETECTED)</p> <p>Viz Obrázek 5.</p>	<p>Je detekována sekvence RNA Noroviru genoskupiny I (GI) a sekvence RNA Noroviru genoskupiny II (GII).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cílová sekvence RNA Noroviru genoskupiny I (GI) má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou prahovou hodnotou. • Cílová sekvence RNA Noroviru genoskupiny II (GII) má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou prahovou hodnotou. • SPC – NEUPLATŇUJE SE (NA); SPC se ignoruje, protože amplifikace cíle noroviru může konkurovat této kontrole. • PCC - ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
<p>NORO GI NEDETEKOVÁN, NORO GII NEDETEKOVÁN (NORO GI NOT DETECTED, NORO GII NOT DETECTED)</p> <p>Viz Obrázek 6.</p>	<p>Cílové sekvence RNA Noroviru nedetekovány.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cílové sekvence RNA Noroviru nedetekovány. • SPC – ÚSPĚŠNÁ (PASS); SPC má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr nad nastavenou prahovou hodnotou. • PCC - ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.

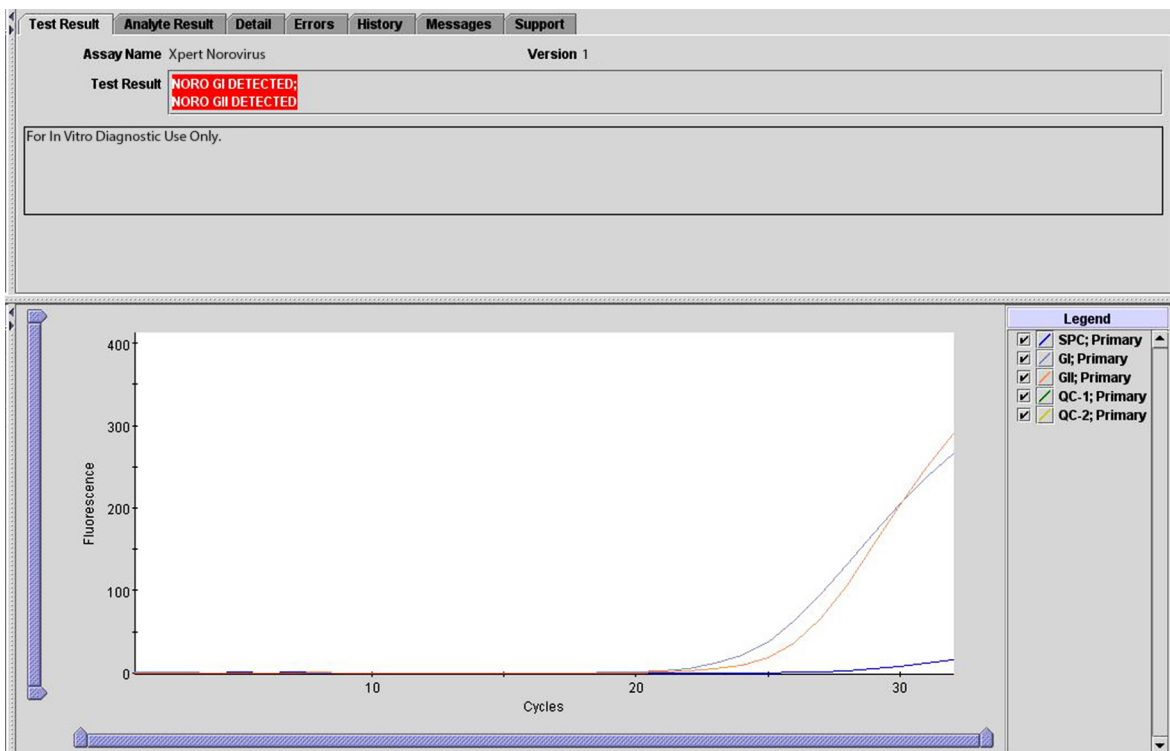
Výsledek	Interpretace
NEPLATNÝ (INVALID) Viz Obrázek 7.	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí RNA noroviru nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 17.2. <ul style="list-style-type: none"> Norovirus GI – NEPLATNÝ (INVALID) Norovirus GII – NEPLATNÝ (INVALID) SPC – NEÚSPĚŠNÁ (FAIL); SPC nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový parametr pod nastavenou prahovou hodnotou.. PCC - ÚSPĚŠNÁ (PASS); všechny výsledky kontroly sondy byly úspěšné.
CHYBA (ERROR)	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí RNA noroviru nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 17.2. <ul style="list-style-type: none"> Norovirus GI – CHYBA (ERROR) Norovirus GII – CHYBA (ERROR) PCC - NEÚSPĚŠNÁ* (FAIL); jeden nebo všechny výsledky kontroly sondy byly neúspěšné. <p>* Pokud kontrola sondy proběhla úspěšně, je chyba způsobena maximálním limitem tlaku přesahujícím přijatelný rozsah.</p>
ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí RNA noroviru nelze stanovit. Opakujte test podle pokynů, které uvádí Část 17.2. ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení. <ul style="list-style-type: none"> Norovirus GI – ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) Norovirus GII – ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT) PCC - Neuplatňuje se (NA).



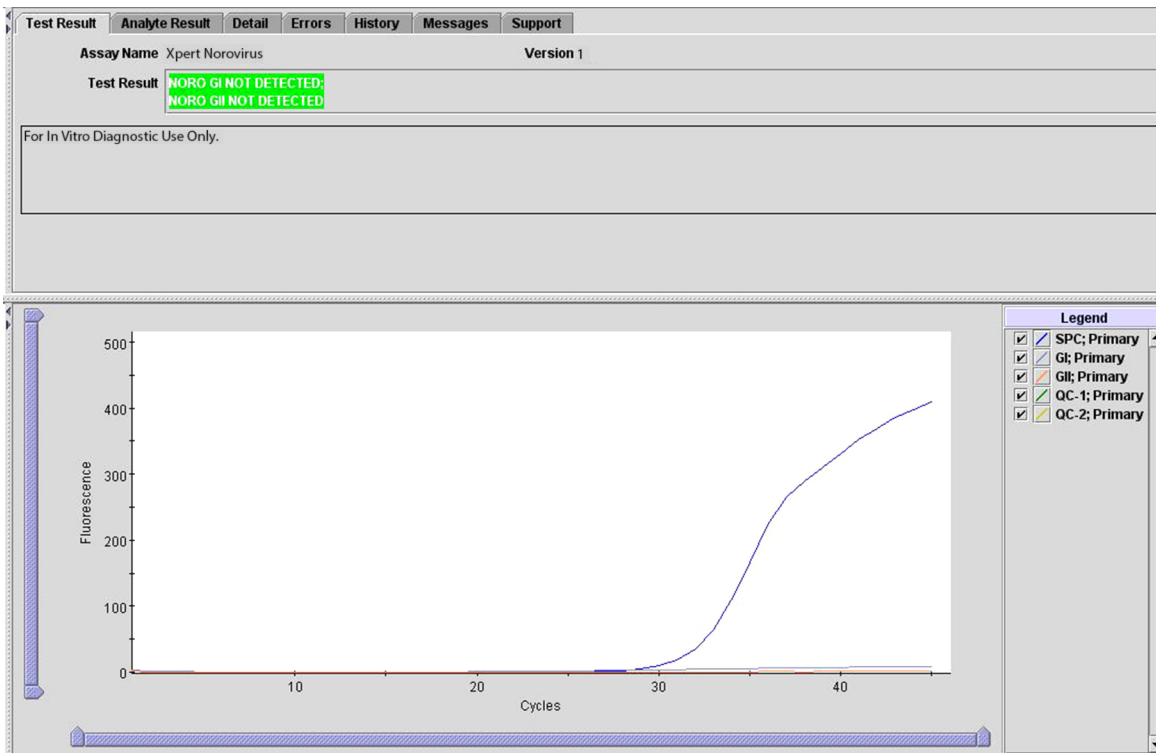
Obrázek 3. Norovirus GI detekován; Norovirus GII nedetekován



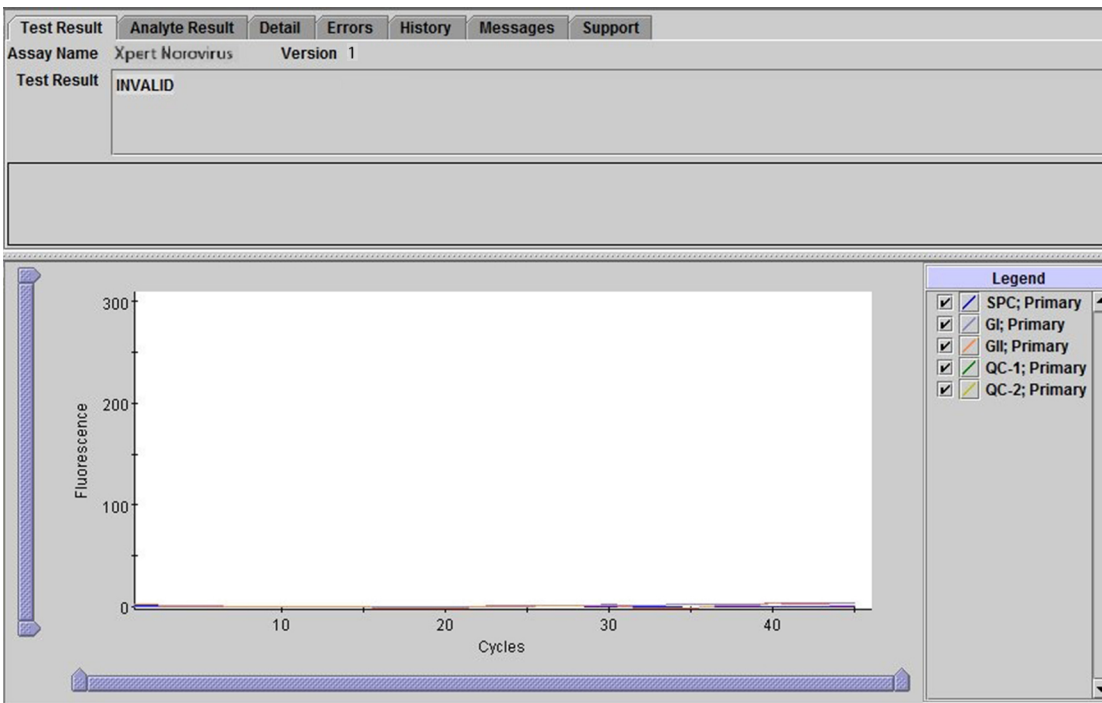
Obrázek 4. Norovirus GI nedetekován; Norovirus GIJ detekován



Obrázek 5. Norovirus GI detekován; Norovirus GIJ detekován



Obrázek 6. Norovirus GI nedetekován; Norovirus GII nedetekován



Obrázek 7. NEPLATNÝ (INVALID)

17 Opakované testy

17.1 Důvody k opakování stanovení

Pokud se objeví kterýkoli z níže uvedených výsledků testu, test opakujte podle pokynů, které uvádí Část 17.2. Postup při opakování testu.

- **NEPLATNÝ (INVALID)** výsledek znamená, že selhala SPC. Vzorek nebyl správně zpracován, PCR byla inhibována nebo nebyl vzorek odebrán správně.
- Výsledek **CHYBA (ERROR)** by mohl být způsoben mimo jiné selháním PCC nebo překročením limitů maximálního tlaku.
- **ŽÁDNÝ VÝSLEDEK (NO RESULT)** znamená, že nebylo shromážděno dostatečné množství údajů. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku proudu.

17.2 Postup při opakování testu

Pro opakování testu vzorků s výsledkem **INVALID (NEPLATNÝ)**, **ERROR (CHYBA)** nebo **NO RESULT (ŽÁDNÝ VÝSLEDEK)** použijte novou kazetu (kazetu nepoužívejte opakovaně) a novou láhev vzorkové reagensie.

1. Vyjměte kazetu a láhev vzorkové reagensie z testovací soupravy Xpert Norovirus.
2. Po sejmutí víčka z láhve vzorkové reagensie rychle ponořte odběrový tampon do vzorku nezformované stolice Viz Obrázek 8, kde najdete správné množství vzorků pro použití s testem Xpert Norovirus.

Poznámka

Omotejte sterilní gázu kolem dřívku odběrového tamponu a ústí láhve, aby se na minimum omezilo riziko kontaminace. Nepokrývejte celou vláknitou špičku odběrového tamponu stolicí. Viz Obrázek 8. Příliš mnoho stolice může způsobit chyby a neplatné výsledky.



Obrázek 8. Odběr vzorku odběrovým tamponem

3. Po sejmutí víčka z láhve vzorkové reagensie vložte odběrový tampon se vzorkem stolice do láhve vzorkové reagensie.
4. Držte odběrový tampon za dřívík blízko okraje láhve. Zvedněte odběrový tampon několik milimetrů ode dna láhve a přehněte dřívík přes okraj láhve, aby se ulomil. Odběrový tampon musí být dostatečně krátký, aby se vešel do láhve, kterou pevně uzavřete víčkem.
5. Uzavřete víčko láhve vzorkové reagensie a promíchejte na třepačce vortex při vysoké rychlosti deset sekund.
6. Otevřete víko kazety. Pomocí čisté přenosové pipety (není součástí balení) přeneste celý obsah vzorkové reagensie do vzorkové komůrky kazety testu Xpert Norovirus. Viz Obrázek 2.
7. Uzavřete víko kazety a do 30 minut spusťte test.

18 Omezení

- Pouze pro diagnostické použití in vitro .
- Funkčnost testu Xpert Norovirus byla ověřena pouze pomocí postupů uvedených v této příbalové informaci.
- Úpravy těchto postupů mohou ovlivnit funkčnost testu. Výsledky testu Xpert Norovirus by měly být interpretovány společně s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- Při nesprávném odběru, manipulaci nebo skladování vzorků či při jejich záměně nebo při příliš nízkém počtu organismů ve vzorku na to, aby jej mohl test detekovat, může dojít k chybným výsledkům testu. Aby se zabránilo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat pokyny v této příbalové informaci.
- U surových nebo nekonzervovaných vzorků nezformované stolice lze pozorovat interferenci v přítomnosti síranu barnatého (≥ 1 % hm./hm.) a benzalkoniumchloridu ve všech testovaných koncentracích (1 % hm./obj., 0,2 % hm./obj. a 0,04 % hm./obj.).
- Mutace nebo polymorfismy v regiorech vázání primerů nebo sond mohou ovlivnit detekci nových nebo neznámých variant noroviru, což může vést k falešně negativním výsledkům.
- V případě smíšené infekce Norovirem GI a GII, kde titr jedné genoskupiny je vyšší než titr druhé genoskupiny, genoskupina s vyšším titrem z těchto dvou infekcí bude hlášena jako detekovaná, genoskupina s nižším titrem může být hlášena jako nedetekovaná.

19 Očekávané hodnoty

V klinické studii testu Xpert Norovirus bylo zařazeno celkem 914 prospektivně odebraných, čerstvých, surových nebo nekonzervovaných vzorků nezformované stolice ze sedmi studijních center. Počet a procento pozitivních případů Noroviru GI a Noroviru GII, vypočtených podle věkové kategorie, uvádí Tabulka 2.

Tabulka 2. Pozorovaná prevalence GI a GII podle věkové kategorie

Věk (roky)	Počet GI pozitivních	Pozorovaná prevalence GI %	Počet GII pozitivních	Pozorovaná prevalence GII %
0-1	0/8	0	0/8	0
>1-5	1/6	16,7	0/6	0
>5-12	0/10	0	1/10	10,0
>12-21	0/29	0	3/29	10,3
>21-65	9/520	1,7	35/520	6,7
>65	6/341	1,8	35/341	10,3
Celkem	16/914	1,8	74/914	8,1

20 Funkční charakteristiky

20.1 Klinický výkon

Funkční charakteristiky testu Xpert Norovirus byly hodnoceny v sedmi institucích v USA a EU. Studijní vzorky obsahovaly surové nebo nekonzervované, vzorky nezformované stolice od subjektů s příznaky akutní gastroenteritidy. Výkon testu Xpert Norovirus byl porovnáván s kompozitní referenční testovací metodou používanou v centrech pro kontrolu a prevenci onemocnění (Centers for Disease Control and Prevention, CDC; Atlanta, GA, USA).

Testem Xpert Norovirus a kompozitním referenčním testem bylo testováno celkem 1 403 vzorků na Norovirus GI. Z 1 403 vzorků bylo 914 čerstvých, prospektivně odebraných vzorků a 489 bylo zmrazených archivovaných vzorků. Testem Xpert Norovirus a kompozitním referenčním testem bylo testováno celkem 1 401 vzorků na Norovirus GII. Z 1 401 vzorků bylo 914 čerstvých, prospektivně odebraných vzorků a 487 bylo zmrazených archivovaných vzorků.

U čerstvých, prospektivně odebraných vzorků test Xpert Norovirus prokázal 100% PPA a 99,6% NPA pro detekci Noroviru GI, ve srovnání s kompozitním referenčním testem (Tabulka 3). Test Xpert Norovirus prokázal 98,5% PPA a 98,8% NPA pro detekci Noroviru GII (Tabulka 4).

U zmrazených, archivovaných vzorků test Xpert Norovirus prokázal 98,1% PPA a 94,6% NPA pro detekci Noroviru GI, ve srovnání s kompozitním referenčním testem (Tabulka 5). Test Xpert Norovirus prokázal 100% PPA a 96,8% NPA pro detekci Noroviru GII (Tabulka 6).

Tabulka 3. Výkon testu Xpert Norovirus pro GI vs kompozitní referenční test – čerstvé vzorky

		Kompozitní referenční test		
		POZ	NEG	Celkem
Xpert Norovirus	POZ	12	4	16
	NEG	0	898	898
	Celkem	12	902	914
		PPA (95 % CI)	100% (95 % CI: 73,5–100)	
		NPA (95 % CI)	99,6 % (95 % CI: 98,9–99,9)	

Tabulka 4. Výkon testu Xpert Norovirus pro GII vs kompozitní referenční test – čerstvé vzorky

		Kompozitní referenční test		
		POZ	NEG	Celkem
Xpert Norovirus	POZ	64	10	74
	NEG	1	839	840
	Celkem	65	849	914
		PPA (95 % CI)	98,5 % (95 % CI: 91,7–100)	
		NPA (95 % CI)	98,8 % (95 % CI: 97,8–99,4)	

Tabulka 5. Výkon testu Xpert Norovirus pro GI vs kompozitní referenční test – zmražené vzorky

		Kompozitní referenční test		
		POZ	NEG	Celkem
Xpert Norovirus	POZ	101	21	122
	NEG	2	365	367
	Celkem	103	386	489
		PPA (95 % CI)	98,1 % (95 % CI: 93,2–99,8)	
		NPA (95 % CI)	94,6 % (95 % CI: 91,8–96,6)	

Tabulka 6. Výkon testu Xpert Norovirus pro GII vs kompozitní referenční test – zmražené vzorky

		Kompozitní referenční test		
		POZ	NEG	Celkem
Xpert Norovirus	POZ	109	12	121
	NEG	0	366	366
	Celkem	109	378	487
		PPA (95 % CI)	100% (95 % CI: 96,7–100)	
		NPA (95 % CI)	96,8 % (95 % CI: 94,5–98,3)	

21 Analytický výkon

21.1 Analytická citlivost (limit detekce)

Byla provedena studie limitu detekce (LoD) k vyhodnocení analytické citlivosti testu Xpert Norovirus s pozitivními klinickými vzorky stolice obsahujícími Norovirus GI.3 nebo Norovirus GII.4 naředěné ve směsné matici negativní stolice. LoD je definován jako nejnižší koncentrace (kopii/ml) na vzorek, kterou lze reprodukovatelně odlišit od negativních vzorků s 95% spolehlivostí. Nejméně 23 replikátů bylo hodnoceno v sedmi koncentracích na Norovirus GI.3 a Norovirus GII.4 a LoD byly odhadnuty probitovými analýzami. Odhady LoD byly potvrzeny testováním nejméně 20 vzorků replikátů s virem naředěným na odhadované koncentrace LoD.

Odhady LoD a potvrzené LoD pro každou testovanou genoskupinu shrnuje Tabulka 7.

Tabulka 7. Limit detekce testu Xpert Norovirus

Norovirus Genoskupina/kmen	Limit detekce (95 % CI)
----------------------------	-------------------------

Norovirus Genoskupina/kmen	Limit detekce (95 % CI)
GI.3	$5,7 \times 10^5$ (kopii/ml)($4,64 \times 10^5 - 6,67 \times 10^5$)
GII.4	$3,0 \times 10^5$ (kopii/ml)($1,25 \times 10^5 - 1,78 \times 10^5$)

21.2 Analytická specifita (křížová reaktivita)

Analytická specifita testu Xpert Norovirus byla hodnocena testováním panelu 68 organismů sestávajících z 54 bakterií, 1 plísně, 9 virů a 4 parazitů představujících běžné patogeny gastroenteritidy nebo patogeny, které se potenciálně mohou vyskytovat ve stolici. Byly testovány nejméně tři replikáty všech kmenů bakterií a plísně v koncentracích $\geq 10^6$ CFU/ml. Byly testovány nejméně tři replikáty všech virů v koncentracích $\geq 10^5$ TCID50/ml, s výjimkou dvou virů získaných z klinických vzorků s neznámými koncentracemi. Byly testovány nejméně tři replikáty všech parazitů v koncentracích $\geq 10^6$ kopii/ml. Všechny testované organismy byly správně vykázány jako **NORO GI NEDETEKOVÁN (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII DETEKOVÁN (NORO GII DETECTED)** testem Xpert Norovirus. Analytická specifita byla 100 %. Výsledky uvádí Tabulka 1.

Tabulka 8. Analytická specifita testu Xpert Norovirus

Organismus	ID kmene	Koncentrace
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	$>3,0 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	$6,7 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Bacteriocides fragilis</i>	ATCC 25285	$1,4 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43478	$1,8 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	$1,3 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	$3,4 \times 10^7$ CFU/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	$1,5 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	ATCC 9689	$2,2 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Clostridium sordelli</i>	DSMZ 2141	$2,0 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Eggerthella lenta</i>	ATCC 43055	$>3,0 \times 10^7$ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 70021	$1,0 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	$1,0 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	$5,4 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	$8,2 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	$4,5 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichiacoli O157:H7</i>	ATCC 43888	$8,4 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli O26:H11</i>	CDC 033014	$7,4 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli O45:H2</i>	CDC 003039	$3,3 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli O103:H11</i>	CDC 063008	$5,4 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli O11</i>	CDC 201114	$6,9 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli O121</i>	CDC 023211	$1,4 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Escherichia coli O145</i>	CDC 993311	$7,1 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	$1,5 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	ATCC 31647	$9,6 \times 10^8$ CFU/ml

Organismus	ID kmene	Koncentrace
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	1,5 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	1,2 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	4,0 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	1,2 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	1,8 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1,3 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	CCUG 7835	1,5 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	3,1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Prevotella oralis</i>	ATCC 33269	1,2 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	>3,0 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1,2 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	>3,0 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	>3,0 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATCC 12386	9,6 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	7,2 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,5 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	5,2 x 10 ⁹ kopii/ ml
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	3,8 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	7,1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Adenovirus</i>	Typ 31	3,6 x 10 ⁵ TCID50/ml
<i>Adenovirus</i>	Typ 40	2,8 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Adenovirus</i>	Typ 41	4,6 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Astrovirus</i> ^c	--	Neuplatňuje se ^d
<i>Coxsackievirus</i>	Typ B5	1,4 x 10 ⁵ TCID50/ml

Organismus	ID kmene	Koncentrace
<i>Echovirus</i>	11	3,3 x 10 ⁹ TCID50/ml
<i>Parechovirus</i>	Typ 6	1,9 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Rotavirus</i>	Typ Wa	1,0 x 10 ⁶ TCID50/ml
<i>Sapovirus</i>	--	Neuplatňuje se ^e
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	>3,0 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Blastocystis hominis</i>	BT1	1,0 x 10 ⁹ kopií/ml
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Iowa	6,1 x 10 ⁹ kopií/ml
<i>Giardia lamblia</i>	Portland-1	3,05 x 10 ⁹ kopií/ml
<i>Entamoeba histolytica</i>	ATCC 30459D	4,9 x 10 ⁶ kopií/ml

^a Pouze anaerobní bakterie.

^b Testovaný jako genomická DNA.

^c Klinický vzorek.

^d Koncentrace není známa pro klinické vzorky Astroviru, které byly získány z KUL; Hodnoty Ct podle stanovení KUL byly v rozsahu 12-27.

^e Koncentrace není známa pro klinické vzorky Sapoviru, které byly získány z KUL; Hodnoty Ct podle stanovení KUL byly v rozsahu 19-23.

21.3 Analytická reaktivita (inkluzivita)

Analytická reaktivita testu Xpert Norovirus byla vyhodnocena proti jednatřiceti genotypům představujícím obě genskupiny novoviru (GI a GII). Třicet jedna kmenů novoviru hodnocených v této studii bylo testováno v koncentracích blízkých LoD stanovení (Tabulka 9). Pro každý kmen byly testovány tři replikáty.

Tabulka 9. Výsledky analytické reaktivity testu Xpert Norovirus

Kmen Norovirus	Odhadovaná koncentrace (kopie/ml) ^a	Výsledek	
		GI	GI I
GI.1	9,0 x 10 ⁶	POZ	NEG
GI.2	3,7 x 10 ⁸	POZ	NEG
GI.3	1,4 x 10 ⁶	POZ	NEG
GI.4	1,0 x 10 ⁵	POZ	NEG
GI.5 ^b	2,5 x 10 ⁵	POZ	NEG
GI.6 ^b	2,5 x 10 ⁵	POZ	NEG
GI.7 ^b	2,5 x 10 ⁵	POZ	NEG
GI.8	3,7 x 10 ⁵	POZ	NEG
GI.14	3,0 x 10 ⁶	POZ	NEG
GI I.1	3,6 x 10 ⁶	NEG	POZ
GI I.2	1,1 x 10 ⁵	NEG	POZ
GI I.3 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POZ
GI I.4 (2006a)	1,2 x 10 ⁵	NEG	POZ

Kmen Norovirus	Odhadovaná koncentrace (kopie/ml) ^a	Výsledek	
		GI	GII
GII.4 (2006b)	2,4 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.4 (2008)	4,3 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.4 (2009) New Orleans	1,7 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.4 (2010)	9,6 x 10 ⁴	NEG	POZ
GII.4 (2012) Sydney	1,2 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.5 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POZ
GII.6 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POZ
GII.7	8,0 x 10 ⁴	NEG	POZ
GII.8 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POZ
GII.9 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POZ
GII.10 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POZ
GII.11	2,6 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.12	5,7 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.13	6,9 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.14	1,5 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.15	1,7 x 10 ⁵	NEG	POZ
GII.16 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POZ
GII.17 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POZ

^a Odhadovaná koncentrace titru byla poskytnuta na základě hodnoty Ct (z důvodu potíží při kultivaci částic noroviru nelze poskytnout přesnou koncentraci). Hodnota Ct pro každý klinický vzorek ve studii inkuzivity byla extrapolována na titer získaný ze studie LoD pro dobře charakterizované vzorky GI a GII pomocí standardní křivky na CDC.

^b Pro tyto kmeny byly použity primární transkripty RNA, klinické vzorky nebyly v době provedení testu k dispozici.

21.4 Studie interferujících látek

Potenciálně interferující látky, které mohou být přítomny ve stolici, byly hodnoceny přímo ve vztahu k výkonu testu Xpert Norovirus. Potenciálně interferující látky zahrnovaly hemoglobin, mucin, cholesterol, triglyceridy a plnou krev a další endogenní a exogenní látky, které uvádí Tabulka 10.

Pro každou látku byly testovány negativní vzorky v 8 replikátech v negativní matrici stolice, aby se určil vliv na funkci kontroly zpracování vzorku (sample processing control, SPC). Pozitivní vzorky byly testovány v 8 replikátech od každé látky s jedním klinickým izolátem Noroviru GI a jedním klinickým izolátem Noroviru GII v koncentraci blízké LoD.

Všechny výsledky byly porovnány s pozitivními a negativními kontrolami připravenými v negativní matrici stolice. Pomocí testu Xpert Norovirus byly správně hlášeny všechny platné pozitivní a negativní vzorky kontrol.

Inhibice testu Xpert Norovirus byla pozorována v přítomnosti benzalkoniumchloridu (1 % hm./obj., 0,2 % hm./obj. a 0,04 % hm./obj.). Falešně negativní výsledky testu byly hlášeny u cíle Norovirus GII při (1 % hm./obj.) benzalkoniumchloridu. V přítomnosti síranu barnatého (5 % hm./hm.) byl pozorován statisticky významný inhibiční účinek na Ct Noroviru GII u pozitivních vzorků ve srovnání s kontrolou (p-hodnota <0,05). Žádný statistický významný účinek nebyl pozorován na Ct Noroviru GII ve srovnání s kontrolou v přítomnosti síranu barnatého (1 % hm./hm.).

Žádné další potenciálně interferující látky nebyly zjištěny jako látky s inhibujícími účinky a pro tyto látky nebyly hlášeny žádné falešně negativní výsledky.

Tabulka 10. Potenciálně interferující látky na Xpert Norovirus

Endogenní látky		
Látka	Popis / účinná složka	Testovaná koncentrace
Cholesterol	Tuk/cholesterol ve stolici	5 % hm./obj.
Hemoglobin	Lidský hemoglobin	12,5 % hm./obj.
Mucin	purifikovaný protein Mucin	5 % hm./obj.
Kyselina stearová / kyselina palmitová (1:1)	Mastné kyseliny / kyselina stearová / kyselina palmitová	5 % hm./hm.
Triglycerid	Tuk ve stolici / směs triglyceridů	5 % hm./obj.
Plná krev	Lidská plná krev	10 % obj./obj.
Exogenní látky		
Látka	Popis / účinná složka	Testovaná koncentrace
Acetaminophen	Acetaminophen	5 % hm./obj.
Amoxicillin	Antibiotikum/Amoxicillin	5 % hm./obj.
Ampicillin	Ampicillin sodná sůl	152 µmol/l
Aspartam	Aspartam	5 % hm./obj.
Síran barnatý	Kontrastní látka / síran barnatý	5 % hm./hm., 1 % hm./hm.
Benzalkoniumchlorid Komerční alkohol	Antiseptické ubrousky / Benzalkoniumchlorid v etanol	1 %, 0,2 %, 0,04 % hm./obj.
Bismut subsalicylát	Bismut (III) subsalicylát (aktivní látka v Peptobismolu)	1 % hm./obj.
CaCO ₃	Uhlíčan vápenatý	5 % hm./obj.
Hydrokortizon	Hydrokortizon	50 % hm./obj.
Ibuprofen	Ibuprofen	5 % hm./obj.
Imodium	Loperamid HCl	5 % obj./obj.
Kaopektát	Attapulgit	5 mg/ml
Metronidazol	Metronidazol	5 % hm./obj.
Mycostatin	Nystatin	50 % hm./hm.
Naprosyn	Naproxen sodná sůl	2,2 µmol/ml
Novaluzid	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ a MgCO ₃	5 % hm./obj.
Polymyxin B sulfát zinkbacitracin	Polysporin/Polymyxin B sulfát a zinkbacitracin	50 % hm./obj.
Pursennid	Glykosidy Senna	5 % hm./obj.
Rexall minerální olej laxativum	Minerální olej	50 % obj./obj.

21.5 Studie kontaminace z přenosu

Byla provedena studie, jejímž účelem bylo prokázat, že jednorázové soběstačné kazety GeneXpert zabírají kontaminaci v cyklu negativních vzorků přenosem, pokud následují po velmi vysoce pozitivních vzorcích ve stejném modulu GeneXpert. Studie obsahovala negativní vzorek zpracovaný ve stejném modulu GeneXpert bezprostředně následovaný vysoce pozitivním vzorkem Noroviru GII. Toto schéma testování bylo opakováno 21krát na dvou modulech GeneXpert, celkem

tedy 42 cyklů 20 pozitivních a 22 negativních vzorků. Všech 19 pozitivních vzorků bylo správně vykázáno jako **NORO GI NEDETEKOVÁN (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII DETEKOVÁN (NORO GII DETECTED)** a jeden pozitivní vzorek byl vykázán jako **CHYBA (ERROR)**. Všech 22 negativních vzorků bylo správně vykázáno jako **NORO GI NEDETEKOVÁN (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII NEDETEKOVÁN (NORO GII NOT DETECTED)**.

22 Reprodukovatelnost

Panel 7 vzorků Noroviru GI a Noroviru GII s různými koncentracemi byl testován dvakrát v pěti různých dnech dvěma různými operátory na třech pracovištích (7 vzorků x 2krát/den x 5 dní x 2 operátoři x 3 pracoviště). Na každém ze 3 testovacích pracovišť byla použita jedna šarže testovací kazety Xpert Norovirus. Test Xpert Norovirus byl proveden v souladu s postupem pro text Xpert Norovirus. Výsledky shrnuje Tabulka 11.

Tabulka 11. Souhrn výsledků reprodukovatelnosti

ID vzorku	Pracoviště 1	Pracoviště 2	Pracoviště 3	Celkem
Neg	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
GI - vysoce negativní	30,0 % (6/20)	15,0 % (3/20)	30,0 % (6/20)	25,0 % (15/60)
GI - nízko pozitivní	100 % (20/20)	85,0 % (17/20)	95,0 % (19/20)	93,3 % (56/60)
GI - mírně pozitivní	100 % (19/19)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (59/59) ^a
GII - vysoce negativní	25,0 % (5/20)	30,0 % (6/20)	35,0 % (7/20)	30,0 % (18/60)
GII - nízko pozitivní	100 % (20/20)	95,0 % (19/20)	90,0 % (18/20)	95,0 % (57/60)
GII - mírně pozitivní	95,0 % (19/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	98,3 % (59/60)

^a Jeden vzorek 2x neurčitý

Reprodukovatelnost testu Xpert Norovirus byla také hodnocena z hlediska fluorescenčního signálu vyjádřeného v hodnotách Ct pro každý detekovaný cíl. Střední hodnota, směrodatná odchylka (SD) a variační koeficient (CV) mezi pracovišti, mezi dny a mezi operátory pro každý člen panelu uvádí Tabulka 12.

Tabulka 12. Souhrn údajů o reprodukovatelnosti

Vzorek	Kanál stanovení (analyt)	N ^a	Střední hodnota Ct	Mezi pracovišti		Mezi dny		Mezi operátory		V rámci stanovení		Celkem	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg	SPC	60	31,9	0,17	0,5	0,06	0,2	0,06	0,2	0,26	0,8	0,32	1,0
GI - vysoce negativní	GI	60	39,4	0	0	0,46	1,2	0	0	1,80	4,6	1,86	4,7
GI - nízko pozitivní	GI	59	37,9	0,29	0,8	0	0	0,36	1,0	1,03	2,7	1,13	3,0
GI - mírně pozitivní ^b	GI	57	34,7	0,09	0,2	0,07	0,2	0	0	0,41	1,2	1,01	1,2
GII - vysoce negativní	GII	54	38,9	0	0	0	0	0,77	2,0	1,77	4,5	1,93	5,0
GII - nízko pozitivní	GII	60	37,3	0	0	0	0	0,58	1,6	1,33	3,6	1,45	3,9
GII - mírně pozitivní ^b	GII	59	34,3	0,22	0,6	0	0	0	0	0,45	1,3	0,50	1,5

^a Výsledky s nenulovými hodnotami Ct ze 60

^b n=3 odlišné vzorky (2 GI mírně pozitivní a 1 GII mírně pozitivní), které byly více než 5 standardních odchylek od průměru, byly považovány za odlišné a byly z analýzy vyloučeny.

23 Přesnost přístrojového systému

Ve studii přesnosti prováděné naší vlastní laboratoří byly porovnávány výkonnostní charakteristiky přístrojových systémů GeneXpert Dx a GeneXpert Infinity. Panel 7 vzorků s různými koncentracemi Noroviru GI a Noroviru GII byl testován ve 12 různých dnech dvěma operátory. Každý operátor provedl čtyři cykly každého panelu vzorků za den na každém ze dvou přístrojových systémů (7 vzorků x 4krát denně x 12 dní x 2 operátory x 2 přístrojové systémy). Ve studii byly použity tři šarže kazet testu Xpert Norovirus. Test Xpert Norovirus byl proveden podle postupu pro test Xpert norovirus. Výsledky shrnuje Tabulka 13.

Tabulka 13. Shrnutí výsledků přesnosti přístrojových systémů (Dx vs Infinity)

Vzorek	GeneXpert Dx			Infinity			Celková shoda podle vzorku v %
	1. operátor	2. operátor	Přístroj	1. operátor	2. operátor	Přístroj	
Neg	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
GI - vysoce negativní	14,6 % (7/48)	10,4 % (5/48)	12,5 % (12/96)	14,6 % (7/48)	25,0 % (12/48)	19,8 % (19/96)	16,2 % (31/192)
GI - nízko pozitivní	100 % (48/48)	97,9 % (47/48)	99,0 % (95/96)	97,9 % (47/48)	97,9 % (47/48)	97,9 % (94/96)	98,4 % (189/192)
GI - mírně pozitivní	100 % ^a (47/47)	100 % (48/48)	100 % (95/95)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (191/191)
GII - vysoce negativní	25,0 % (12/48)	29,2 % (14/48)	27,1 % (26/96)	29,2 % (14/48)	31,3 % (15/48)	30,2 % (29/96)	28,7 % (55/192)
GII - nízko pozitivní	89,6 % (43/48)	89,6 % (43/48)	89,6 % (86/96)	83,3% (40/48)	95,7 % (44/46)	87,5 % (84/96)	88,5 % (170/192)

Vzorek	GeneXpert Dx			Infinity			Celková shoda podle vzorku v %
	1. operátor	2. operátor	Přístroj	1. operátor	2. operátor	Přístroj	
GII - mírně pozitivní	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % ^b (47/47)	100 % (95/95)	100 % (191/191)

^a Jeden GI středně pozitivní vzorek nebyl testován.

^b Jeden GII mírně pozitivní vzorek byl neurčitý a nebyl opakovaně testován.

Přesnost testu Xpert Norovirus byla také hodnocena z hlediska fluorescenčního signálu vyjádřeného v hodnotách Ct pro každý detekovaný cíl. Střední hodnotu, směrodatnou odchylku (SD) a variační koeficient (CV) mezi přístroji, mezi šaržemi, mezi dny, mezi operátory a v rámci stanovení pro každý člen panelu uvádí Tabulka 14.

Tabulka 14. Souhrn údajů o přesnosti

Vzorek	Kanal stanoveni (analyt)	N ^a	Střední hodnota Ct	Mezi přístroji		Mezi šaržemi		Mezi dny		Mezi operátory		V rámci stanovení		Celkem	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg	SPC	192	31,8	0	0	0,44	1,4	0	0	0,08	0,2	0,39	1,2	0,59	1,9
GI - vysoce negativní	GI	188	38,6	0,19	0,5	0,25	0,7	0,18	0,5	0	0	1,40	3,6	1,45	3,8
GI - nízko pozitivní	GI	192	37,1	0,39	1,1	0,26	0,7	0,19	0,5	0	0	0,95	2,6	1,08	2,9
GI - mírně pozitivní	GI	191	34,0	0	0	0,36	1,1	0,04	0,1	0,08	0,2	0,38	1,1	0,53	1,6
GII - vysoce negativní	GII	178	38,7	0,16	0,4	0	0	0,29	0,7	0	0	2,03	5,3	2,06	5,3
GII - nízko pozitivní	GII	187	37,6	0,10	0,2	0	0	0	0	0,45	1,2	1,65	4,4	1,71	4,6
GII - mírně pozitivní	GII	191	34,3	0	0	0,09	0,2	0	0	0,17	0,5	0,42	1,2	0,46	1,3

^a Výsledky s nenulovými hodnotami Ct ze 192.

24 Literatura

1. Kapikian AZ, et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972;10(5):1075-1081.
2. Mead PS, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(5):607-625.
3. Kaplan JE, et al. An outbreak of acute nonbacterial gastroenteritis in a nursing home: demonstration of person-to-person transmission by temporal clustering of cases. *Am J Epidemiol* 1982; 116(6):940-948.
4. Johnston CP, et al. Outbreak management and implications of a nosocomial Norovirus outbreak. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(5):534-540.
5. Corwin AL, et al. Shipboard impact of a probable Norwalk virus outbreak from coastal Japan. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61(6):898-903.
6. Leshem E, et al. Effects and Clinical Significance of GII.4 Sydney Norovirus, United States, 2012-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(8):1231-1238.
7. Straub TM, et al. In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Inf Dis.* 2007; 13(3): 396-403.
8. CDC. Updated Norovirus Outbreak Management and Disease Prevention Guidelines. *MMWR Recomm Rep.* 2011; 60(No. RR-3):1-15.
9. Okitsu-Negishi S, et al. Detection of norovirus antigens from recombinant virus-like particles and stool samples by a commercial norovirus enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J Clin Microbiol* 2006;44(10):3784-3786.
10. Burton-MacLeod JA, et al. Evaluation and comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of antigenically diverse human noroviruses in stool samples. *J Clin Microbiol* 2004;42(6):2587-2595.

11. Dimitriadis A, et al. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for detection of norovirus in outbreak specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24(9):615-618.
12. Richards AF, et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* 2003;26(1):109-115.
13. Morillo SG, et al. Norovirus 3rd generation kit: an improvement for rapid diagnosis of sporadic gastroenteritis cases and valuable for outbreak detection. *J Virol Methods* 2011;173(1):13-16.
14. Wilhelmi de Cal I, et al. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for the detection of norovirus in faecal samples from hospitalised children with sporadic acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(3):341-343.
15. Costantini V, et al. Diagnostic accuracy and analytical sensitivity of IDEIA Norovirus assay for routine screening of human norovirus. *J Clin Microbiol* 2010;48(8):2770-2778.
16. MacCannell T, et al. Guideline for the prevention and control of Norovirus Gastroenteritis outbreaks in healthcare settings. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32(10):939-969.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (refer to latest edition, available at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition, available at <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
19. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnic 67/548/EHS a 1999/45/ES a o změně nařízení (ES) č. 1907/2006.
20. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

25 Hlavní sídla společnosti Cepheid

Podniková centrála

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Evropská centrála

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

26 Technická pomoc

Dříve, než kontaktujete technickou podporu společnosti Cepheid, připravte si následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybové zprávy (pokud je to relevantní)
- Verze softwaru a (pokud je to relevantní) číslo servisního štítku počítače

Závažné incidenty spojené s testem Xpert TV hlaste společnosti Cepheid a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém k závažnému incidentu došlo.

Kontaktní informace

Spojené státy


















Telefon: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

Francie

Telefon: + 33 563 825 319
E-mail: support@cepheideurope.com

Kontaktní informace na všechny kanceláře technické podpory společnosti Cepheid jsou uvedeny na našem webu: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

27 Tabulka značek

Značka	Význam
	Katalogové číslo
	Zdravotnický diagnostický prostředek <i>in vitro</i>
	Nepoužívat opakovaně
	Kód šarže
	Čtěte návod k použití
	Upozornění
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro <i>n</i> testů
	Kontrola
	Datum expirace
	Označení CE – Evropská shoda
	Teplotní limit
	Biologická rizika
	Varování
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Švédsko



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



28 Historie revizí

Část	Popis změny
Tabulka značek	Přidány symboly CH REP a dovozce a jejich definice do tabulky symbolů. Přidány informace o CH REP a dovozci se švýcarskou adresou.
Historie revizí	Aktualizována tabulka Historie revizí.