

Xpert Norovirus[®]

REF GXNOV-CE-10

Instruções de utilização

IVD CE

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2014-2023 Cepheid.

Consulte a descrição das alterações na Secção 24, Histórico de revisões.

Xpert Norovirus[®]

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Proprietary Name

Xpert[®] Norovirus

2 Nome comum ou usual

Xpert Norovirus

3 Utilização prevista

O teste Cepheid Xpert[®] Norovirus, realizado no sistema do instrumento GeneXpert[®], é um teste de diagnóstico qualitativo *in vitro* para a identificação e diferenciação dos genogrupos de ARN I e II de norovírus a partir de amostras fecais frescas ou não conservadas e não formadas colhidas de indivíduos com sintomas de gastroenterite aguda. O teste utiliza transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) automatizada em tempo real para detetar o ARN do norovírus. O teste Xpert Norovirus destina-se a auxiliar no diagnóstico de infeções de norovírus quando utilizado juntamente com avaliação clínica, resultados laboratoriais e informações epidemiológicas. O ensaio também auxilia na deteção e identificação de infeções de norovírus no contexto de surtos.

4 Resumo e explicação

Os norovírus são vírus ARN de hélice simples, não encapsulados, da classe *Norovirus*, família *Caliciviridae*, que causam gastroenterite aguda em seres humanos e em outros mamíferos. O norovírus protótipo foi inicialmente identificado como a causa de um surto de gastroenterite em Norwalk, Ohio, em 1968.¹ Estima-se que o norovírus possa ser o agente causador de mais de 23 milhões de casos de gastroenterite por ano nos EUA, representando aproximadamente 60% de todos os casos de gastroenterite aguda.² Os norovírus podem ser classificados em cinco genogrupos diferentes, dos quais os genogrupos I (GI) e II (GII) causam a maioria de infeções em humanos.

Os norovírus são uma causa importante de gastroenterite a nível mundial. Afetam todas as idades e estão frequentemente envolvidos em surtos em instalações comunitárias, tais como lares, hospitais, creches, prisões e navios de cruzeiro.³⁻⁶ Os sintomas de infeção por norovírus são habitualmente diarreia, vômitos, câibras no estômago, náuseas e febre. A doença é normalmente de resolução espontânea e os sinais e sintomas podem perdurar por vários dias. Nos jovens, idosos, e doentes imunocomprometidos, a doença pode ser potencialmente mortal devido a desidratação. Os nomes frequentes associados à gastroenterite por norovírus são: doença de vômitos do Inverno, gripe estomacal, gastroenterite não bacteriana aguda, e gastroenterite viral. Os norovírus podem ser cultivados em sistemas de culturas celulares muito especializados.⁷ A microscopia eletrónica pode ser utilizada para visualizar norovírus em amostras fecais mas tem baixa sensibilidade.⁸

Os imunoenaios enzimáticos (EIAs) disponíveis comercialmente demonstraram ser úteis em situações de surtos de norovírus. Contudo, devido à baixa sensibilidade do ensaio, os EIAs disponíveis comercialmente são úteis apenas quando a prevalência de infeção por norovírus é elevada. Além disso, as linhas guia atuais dos CDC recomendam que todos os resultados EIA negativos sejam confirmados por métodos moleculares.⁸ Os EIA atualmente disponíveis são conhecidos como tendo baixa sensibilidade (36–80%) em comparação com métodos de RT-PCR e baixa e boa especificidade (47–100%) dependendo do ambiente de teste.⁹⁻¹⁵ Na Europa e no Japão, onde existem ensaios moleculares comercialmente disponíveis, são necessários técnicos de biologia molecular altamente qualificados para realizar os ensaios e, pela forma como estes foram concebidos, torna-se necessário realizar os testes em lotes, o que dá origem a atrasos nos relatórios. Ao abrigo das orientações atuais dos CDC, recomenda-se que os prestadores de cuidados de saúde ponderem o desenvolvimento e adoção de políticas de instalações para possibilitar a confirmação clínica e virológica de casos suspeitos de infeção por

norovírus sintomáticos, implementando simultaneamente medidas de controlo imediato para reduzir a magnitude de um potencial surto de norovírus.¹⁶ O ensaio Xpert Norovirus fornece um teste molecular exato, rápido, a pedido para facilitar a confirmação e iniciar medidas imediatas de controlo de norovírus, independentemente da taxa de prevalência.

5 Princípio do procedimento

O teste é automatizado e utiliza transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para detetar sequências específicas de genes virais associadas com os genótipos I e II do norovírus. As amostras fecais são colhidas de indivíduos com sintomas de gastroenterite aguda e transportadas para o laboratório num recipiente limpo. Uma zaragatoa é inserida na amostra fecal e, de seguida, colocada num tubo contendo reagente de amostra. Após agitação rápida no vórtice, a amostra eluída é transferida para uma câmara de amostras do cartucho de fluido descartável (o cartucho GeneXpert). O cartucho GeneXpert é carregado na plataforma do sistema do instrumento GeneXpert, que realiza o processamento da amostra automático, sem intervenção manual, e RT-PCR em tempo real para a identificação e diferenciação dos genótipos I e II do norovírus.

Os sistemas do instrumento GeneXpert automatizam e integram a preparação de amostras, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a deteção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas utilizando ensaios por RT (transcriptase reversa) PCR e PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador pessoal e software pré-instalado para execução dos ensaios e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única que contêm os reagentes para RT-PCR e PCR e onde também decorrem os processos de RT-PCR e PCR. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa dos sistemas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity adequado*.

O teste Xpert Norovirus inclui reagentes para a deteção de sequências de ácidos nucleicos para o norovírus genótipo I e genótipo II de amostras fecais frescas ou não formadas e não conservadas colhidas em indivíduos com sintomas de gastroenterite aguda. Também estão incluídos no cartucho um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) e um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC). O SPC é um controlo do processamento adequado dos vírus-alvo e destina-se a monitorizar a presença de inibidores na reação PCR. O PCC verifica a reidratação do reagente seco, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

O kit do teste Xpert Norovirus (n.º catálogo GXNOV-CE-10) contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Cartuchos do teste Xpert Norovirus com tubos de reação integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> • Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas) • Reagente de eluição • Reagente de lavagem • Reagente de fixação (tiocianato de guanidina) 	1 de cada por cartucho 1,5 ml por cartucho 1,0 ml por cartucho 2,7 ml por cartucho
Reagente de amostra (tiocianato de guanidina)	10 × 2,0 ml por frasco
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> • Ficheiro de definição do ensaio (ADF — Assay Definition File) • Instruções para importar o ADF para o software • Instruções de utilização (folheto informativo) 	

Nota As Fichas de Dados de Segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

Nota

A seroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin, BSA) presente nas esferas deste produto foi produzida e fabricada a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

7 Conservação e manuseamento

- Conserve os cartuchos e reagentes do teste Xpert Norovirus entre 2 °C e 8 °C.
- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Utilize o cartucho no período de 30 minutos depois de abrir a tampa.

8 Materiais necessários mas não fornecidos

- O Sistema GeneXpert Dx ou o Sistema GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com versão 4.3 ou posterior do software exclusivo GeneXpert, leitor de códigos de barras de mão e manual do utilizador.
- Impressora: Contacte o Representante de Vendas da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Agitador vórtex
- Pipetas de transferência descartáveis
- Zaragatoas de ponta seca em rayon descartáveis, de utilização única (SDPS-120) ou zaragatoas em rayon equivalentes para transferência de amostras fecais do recipiente da amostra para o frasco de reagente de amostra
- Recipiente de amostra limpo e sem conservantes

9 Materiais disponíveis mas não fornecidos

- Stock de Rotavirus ZeptoMetrix NATrol™ (n.º de catálogo. NATROTA-6MC) como controlo negativo externo.
- Stock de Norovirus GI ZeptoMetrix NATrol™ e stock de Norovirus GII NATrol™ (n.º de catálogo NATNOVI-6MC e NATNOVII-6MC) controlos positivos externos.

10 Advertências e precauções

10.1 Geral

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos e reagentes usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas usando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention¹⁹ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.²⁰
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da vossa instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial de Saúde). Consulte os técnicos responsáveis pelos resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados.

10.2 Amostra

- Manter condições de conservação adequadas durante o transporte da amostra, para assegurar a integridade da amostra (ver Secção 12. Colheita, transporte e conservação de amostras). Não foi avaliada a estabilidade da amostra em condições de transporte que não as recomendadas.
- A colheita, a conservação e o transporte corretos da amostra são essenciais para resultados corretos.

10.3 Ensaio/reagente

- Não substitua reagentes do teste Xpert Norovirus por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do teste Xpert Norovirus até estar pronto para adicionar uma amostra.
- Não utilize cartuchos que tenham caído após a remoção do kit ou agitados após a abertura da respetiva tampa. Agitar ou deixar cair o cartucho depois da abertura da tampa pode produzir resultados falsos ou indeterminados.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- O reagente de amostra é um líquido transparente e incolor. Não utilize o reagente de amostra se este se apresentar turvo ou com alterações de coloração.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho de utilização única do teste Xpert Norovirus é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- É necessário cumprir as boas práticas de laboratório e trocar as luvas entre o manuseamento de amostras de pacientes diferentes para evitar a contaminação quer das amostras, quer dos reagentes. Limpe regularmente as superfícies/áreas de trabalho com lixívia a 10% e volte a limpar a superfície com etanol ou álcool isopropílico a 70% antes e depois de processar amostras para Xpert Norovirus.
- As amostras podem conter níveis elevados de organismos. Garanta que os recipientes das amostras não entram em contacto uns com os outros. A fim de evitar a contaminação de outras amostras, troque de luvas se estas entrarem em contacto direto com a amostra e após o processamento de cada uma delas.

11 Perigos químicos^{19,20}

- Pictograma de perigo GHS da ONU 
- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU:**
 - Nocivo por ingestão.
 - Provoca irritação cutânea ligeira.
 - Causa irritação ocular.
- **Recomendações de prudência GHS da ONU:**
 - **Prevenção**
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - **Resposta**
 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
 - Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
 - **SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS:** enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.
 - **Conservação/Eliminação**
 - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

12 Colheita, transporte e conservação de amostras

1. Recolha a amostra fecal fresca ou não conservada e não formada num recipiente sem conservantes. Siga as orientações da sua instituição para a colheita de amostras para testes de norovírus.
2. Rotule o recipiente da amostra fecal com o nome do doente e a ID da amostra e envie para o laboratório.

3. Conserve a amostra entre 2 °C e 8 °C. A amostra é estável durante até dois dias quando armazenada a 2 °C–8 °C.

13 Procedimento

13.1 Preparação do cartucho

Nota Inicie o teste no período de 30 minutos após a adição do reagente de amostra ao cartucho.

Para adicionar a amostra ao cartucho:

1. Retire do kit o cartucho e o frasco do reagente de amostra.
2. Mergulhe uma zaragatoa na amostra fecal fresca ou não conservada e não formada. Consulte Figura 1 relativamente à quantidade correta de amostra a ser utilizada no teste Xpert Norovirus.

Envolva a haste da zaragatoa e a abertura da garrafa com gaze esterilizada para minimizar o risco de contaminação.

Nota Não cubra com fezes toda a ponta de fibra da zaragatoa. Ver Figura 1. Demasiada quantidade de fezes pode originar erros ou resultados inválidos.



Figura 1. Colheita de amostra na zaragatoa

3. Depois de retirar a tampa do frasco do reagente de amostra, introduza a zaragatoa com a amostra fecal no frasco que contém o reagente de amostra.
4. Segure a zaragatoa pela haste perto do bordo do frasco. Levante a zaragatoa a alguns milímetros do fundo do frasco e curve a haste sobre o bordo do frasco para a quebrar, deixando a zaragatoa suficientemente curta para permitir que encaixe no frasco e a tampa fique bem apertada.
5. Feche a tampa do frasco do reagente de amostra e agite no vórtex, a alta velocidade, durante dez segundos.
6. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa (não fornecida), transfira todos os conteúdos do reagente de amostra para a câmara de amostra do cartucho do teste Xpert Norovirus. Ver Figura 2.
7. Feche a tampa do cartucho e inicie o teste no período de 30 minutos.



Figura 2. Cartucho do Xpert Norovirus (Vista superior)

13.2 Iniciar o teste

Nota

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio do Xpert Norovirus é importado para o software. Esta seção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do modelo que estiver a utilizar.

Nota

Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
 - a) Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert irá iniciar-se automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - b) Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ative o instrumento. O software GeneXpert irá iniciar-se automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie a sessão no Sistema do instrumento GeneXpert software utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do Sistema GeneXpert, clique em **Criar teste (Create test)** (GeneXpert Dx) ou clique em **Encomendas (Orders)** e em **Encomendar teste (Order Test)** (GeneXpert Infinity). A janela Criar teste (Create Test) abre-se.
4. Leia ou introduza a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente correta. A ID do paciente (Patient ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado.
5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta. A ID da amostra (Sample ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado.
6. Realize a leitura do código de barras do cartucho de teste Xpert Norovirus. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: Selecionar ensaio (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

Se o código de barras no cartucho do teste Xpert Norovirus não for lido, repita o teste com um novo cartucho seguindo o procedimento da seção Procedimento de repetição de teste.

7. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (GeneXpert Infinity). Digite a sua palavra-passe na caixa de diálogo que surge.
8. Para o sistema GeneXpert Infinity, coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.
- ou
- No caso do instrumento GeneXpert Dx:
 - a) Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
 - b) Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
 - c) Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e retire o cartucho.
 - d) Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

14 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas adicionais sobre a visualização e a impressão dos resultados, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

1. Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Relatório (Report)** da janela Ver resultados (View Results) para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

15 Controlo de qualidade

15.1 Controlos de qualidade integrados

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (SPC) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

- **Controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Control):** Assegura que a amostra foi processada corretamente. O SPC contém Armored ARN®, que está incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado da amostra. O SPC verifica se ocorreu a libertação de ARN do vírus quando o organismo está presente e verifica se o processamento da amostra foi adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição associada à amostra das reações RT-PCR e PCR. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC):** Antes do início da reação de PCR, o sistema GeneXpert Dx ou o sistema GeneXpert Infinity mede o sinal de fluorescência das sondas (SPC, QC1 e QC2, um para cada uma das duas esferas de reagente) para monitorizar a reidratação das esferas, o enchimento dos tubos de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

15.2 Controlos externos

- Controlos externos: O stock de Rotavirus ZeptoMetrix NATtrol (n.º de catálogo NATROTA-6MC) como controlo negativo externo e os stocks de Norovirus GI ZeptoMetrix NATtrol e de Norovirus GII NATtrol (n.º de catálogo NATNOVI-6MC e NATNOVII-6MC) como controlos positivos externos podem ser utilizados de acordo com as disposições de organizações de acreditação centrais, estaduais e federais, conforme aplicável.

16 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados pelo Sistema do instrumento GeneXpert. Resultados da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela Ver resultados (View Results). Os resultados possíveis são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados e interpretação do teste Xpert Norovirus

Resultado	Interpretação
-----------	---------------

Resultado	Interpretação
NORO GI DETECTADO (NORO GI DETECTED), NORO GII NÃO DETECTADO (NORO GII DETECTED) Ver Figura 3.	<p>A sequência de ARN do norovírus genogrupo I (GI) é detetada.</p> <ul style="list-style-type: none"> • A sequência de ARN alvo do norovírus genogrupo I (GI) tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior ao limite definido. • SPC – NA (não aplicável); o SPC é ignorado, dado que a amplificação alvo do norovírus poderá competir com este controlo. • PCC – APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
NORO GI NÃO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII DETECTADO (NORO GII DETECTED) Ver Figura 4.	<p>A sequência de ARN do norovírus genogrupo II (GII) é detectada.</p> <ul style="list-style-type: none"> • A sequência de ARN alvo do norovírus genogrupo II (GII) tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior ao limiar definido. • SPC – NA (não aplicável); o SPC é ignorado, dado que a amplificação alvo do norovírus poderá competir com este controlo. • PCC – APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
NORO GI DETETADO (NORO GI DETECTED), NORO GII DETETADO (NORO GII DETECTED) Ver Figura 5.	<p>A sequência de ARN do norovírus genogrupo I (GI) é detectada e a sequência de ARN do norovírus genogrupo II (GII) é detectada.</p> <ul style="list-style-type: none"> • A sequência de ARN alvo do norovírus genogrupo I (GI) tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior ao limite definido. • A sequência de ARN alvo do norovírus genogrupo II (GII) tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior ao limiar definido. • SPC – NA (não aplicável); o SPC é ignorado, dado que a amplificação alvo do norovírus poderá competir com este controlo. • PCC – APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
NORO GI NÃO DETETADO (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII NÃO DETETADO (NORO GII NOT DETECTED) Ver Figura 6.	<p>As sequências de ARN alvo do norovírus não são detectadas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • As sequências de ARN alvo do norovírus não são detectadas. • SPC – APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior ao limiar definido. • PCC – APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
INVÁLIDO (INVALID) Ver Figura 7.	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de sequências de ARN-alvo de norovírus. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Norovirus GI – INVÁLIDO (INVALID) • Norovirus GII – INVÁLIDO (INVALID) • SPC – FALHOU (FAIL); o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido e o parâmetro de avaliação é inferior ao limite definido. • PCC – APROVADO; todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de sequências de ARN-alvo de norovírus. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Norovirus GI – ERRO (ERROR) • Norovirus GII – ERRO (ERROR) • Probe Check – PCC: – FALHA (FAIL); um ou mais dos resultados de verificação da sonda falharam. <p>*Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro foi causado porque o limite de pressão máxima excedeu o intervalo aceitável.</p>

Resultado	Interpretação
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de sequências de ARN-alvo de norovírus. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 17.2. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que foram colhidos dados insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Norovírus GI – SEM RESULTADO (NO RESULT) • Norovírus GII – SEM RESULTADO (NO RESULT) • PCC – NA (não aplicável).

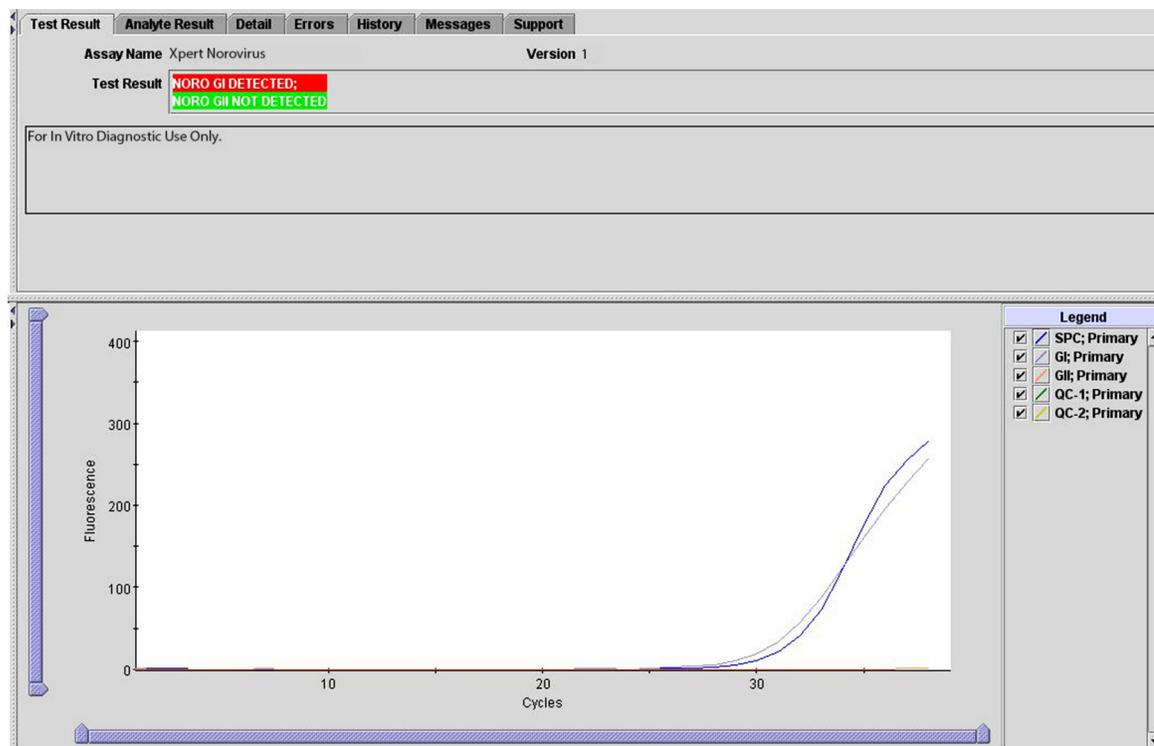


Figura 3. Norovírus GI detectado; Norovírus GII não detectado

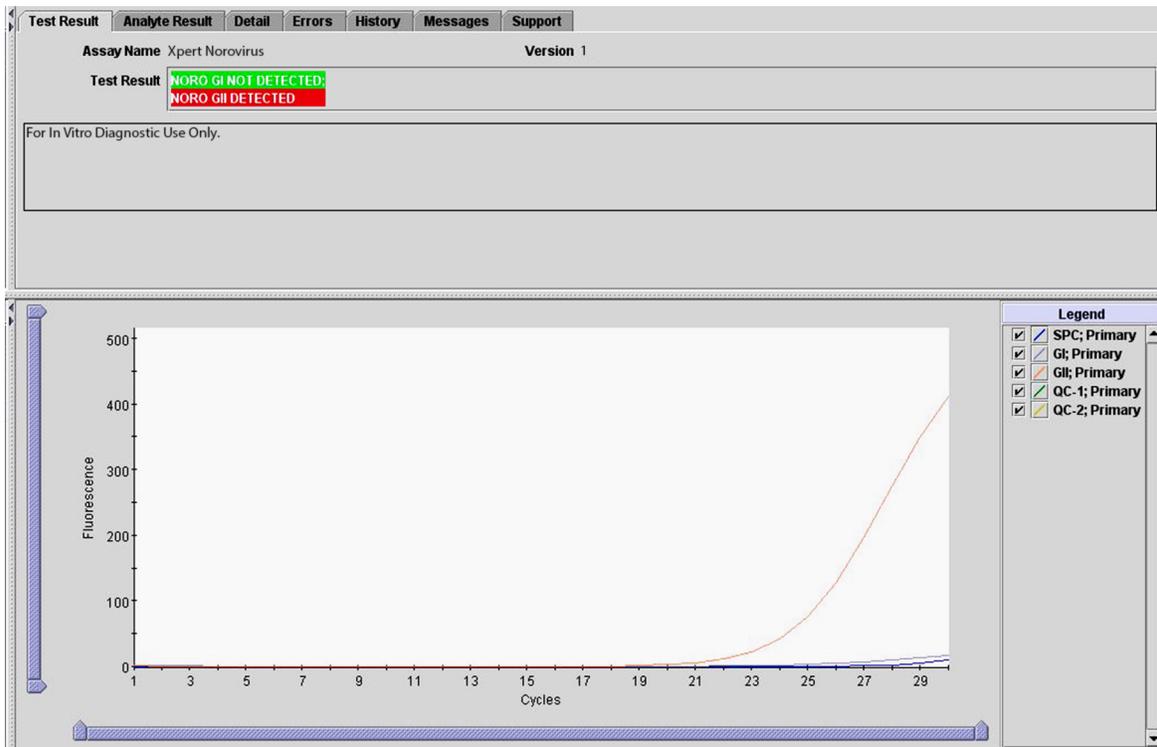


Figura 4. Norovirus GI não detectado; Norovirus GII detectado

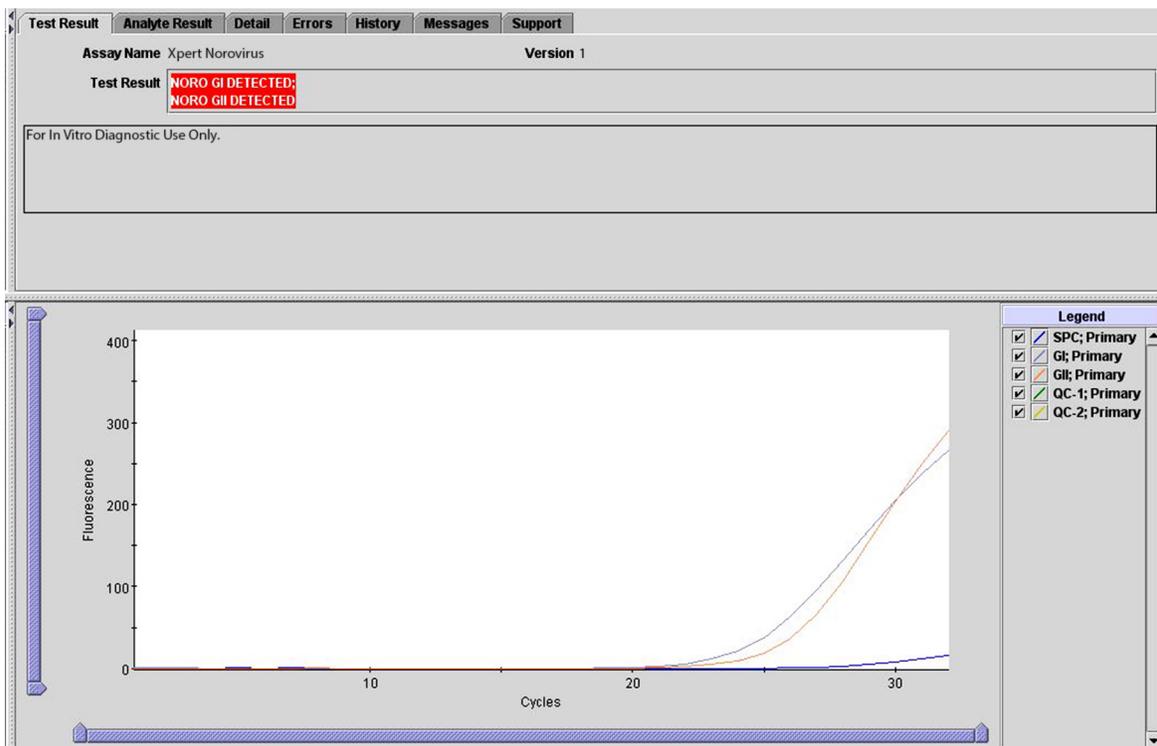


Figura 5. Norovirus GI detectado; Norovirus GII detectado

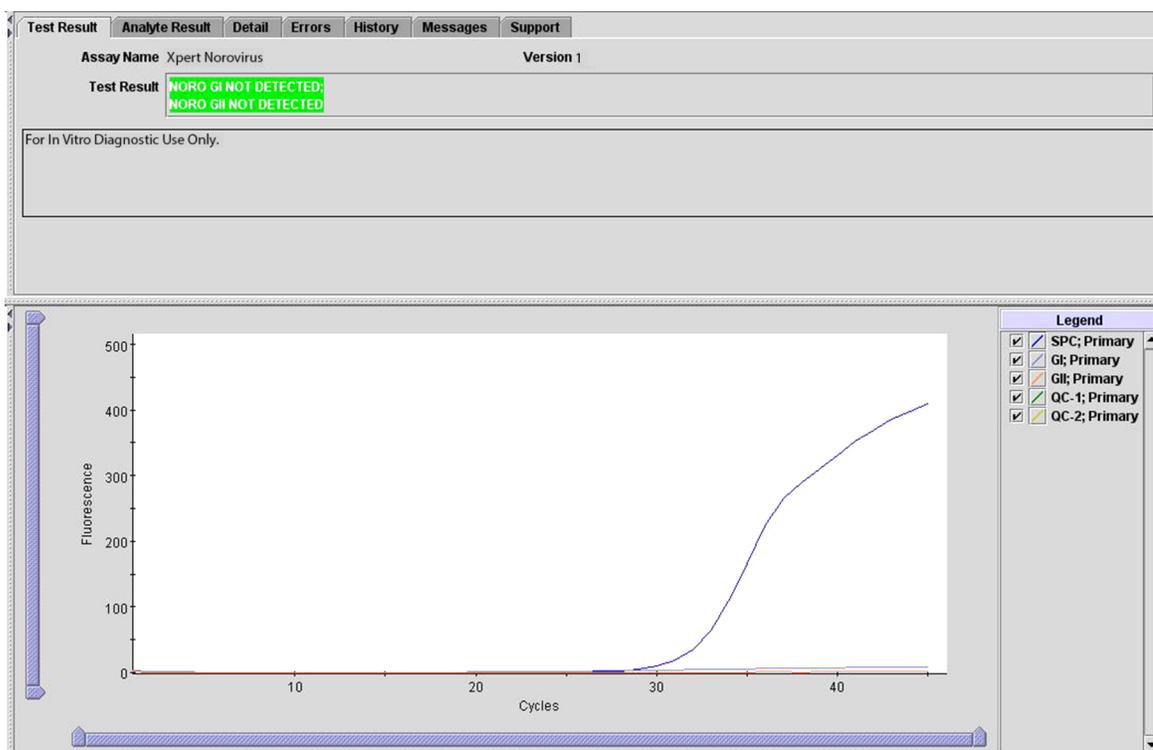


Figura 6. Norovirus GI não detectado; Norovirus GII não detectado

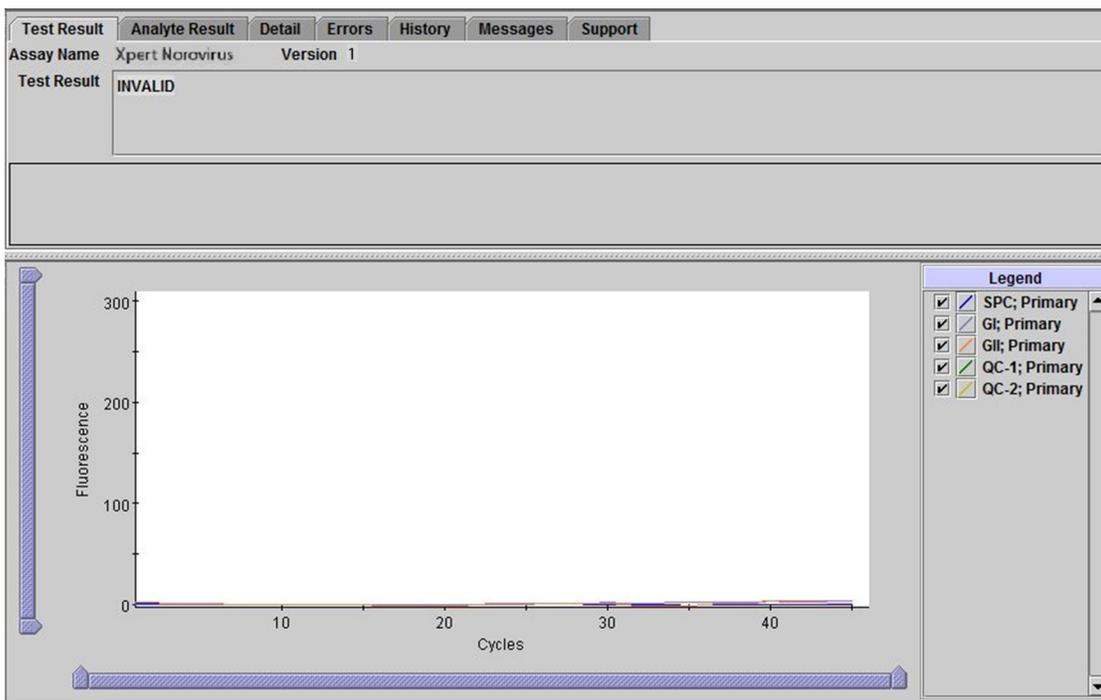


Figura 7. INVÁLIDO (INVALID)

17 Repetição de um teste

17.1 Motivos para repetir o ensaio

Se ocorrer algum dos resultados de teste mencionados abaixo, repita o teste de acordo com as instruções em Secção 17.2. Procedimento de repetição do teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente, a PCR foi inibida ou a amostra não foi devidamente colhida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** pode dever-se, entre outras causas, a falha do controlo de verificação da sonda ou de se ultrapassarem os limites máximos de pressão.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que foram colhidos dados insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.

17.2 Procedimento de repetição do teste

Para repetições do teste de amostras com o resultado **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)**, ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, utilize um novo cartucho (não reutilize o cartucho) e um novo frasco de reagente de amostra.

1. Retire o cartucho e o frasco do reagente de amostra do kit de teste Xpert Norovirus.
2. Depois de retirar a tampa do frasco do reagente de amostra, mergulhe por breves instantes uma zaragatoa na amostra fecal não formada. Consulte Figura 8 relativamente à quantidade correta de amostra a ser utilizada no teste Xpert Norovirus.

Envolva a haste da zaragatoa e a abertura da garrafa com gaze esterilizada para minimizar o risco de contaminação.

Nota Não cubra com fezes toda a ponta de fibra da zaragatoa. Ver Figura 8. Demasiada quantidade de fezes pode originar erros ou resultados inválidos.



Figura 8. Colheita de amostra na zaragatoa

3. Depois de retirar a tampa do frasco do reagente de amostra, introduza a zaragatoa com a amostra fecal no frasco que contém o reagente de amostra.
4. Segure a zaragatoa pela haste perto do bordo do frasco. Levante a zaragatoa a alguns milímetros do fundo do frasco e empurre a haste contra o bordo do frasco para a quebrar. Certifique-se de que a zaragatoa é suficientemente curta para permitir que a tampa fique bem apertada.
5. Feche a tampa do frasco do reagente de amostra e agite no vórtex, a alta velocidade, durante dez segundos.
6. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa (não fornecida), transferir todo o conteúdo do reagente de amostra para a câmara de amostra do cartucho do teste Xpert Norovirus. Ver Figura 2.
7. Feche a tampa do cartucho e inicie o teste no período de 30 minutos.

18 Limitações

- Para In Vitro Apenas para utilização em diagnóstico.
- O desempenho do teste Xpert Norovirus foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo.

- Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste. Os resultados do teste Xpert Norovirus devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- Podem ocorrer resultados erróneos devido a incorreções na recolha, no manuseamento ou no armazenamento da amostra, troca de amostras ou por o número de organismos na amostra ser inferior ao limite de deteção do teste. É necessário cumprir cuidadosamente as instruções deste folheto informativo para evitar resultados erróneos.
- No caso de amostras fecais frescas ou não formadas e não conservadas, pode observar-se interferência no ensaio na presença de sulfato de bário ($\geq 1\%$ p/p) cloreto de benzalcónio em todas as concentrações testadas (1% p/v, $0,2\%$ p/v e $0,04\%$ p/v).
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do primer ou da sonda podem afetar a deteção de variantes novas ou desconhecidas de norovírus, originando resultados falsos negativos.
- Em caso de uma infeção mista de Norovirus GI e GII e que a titulação de um genogrupo seja superior à titulação do outro genogrupo, o genogrupo com a maior titulação das duas infeções poderá ser notificado como detetado; o genogrupo de titulação inferior poderá ser notificado como não detetado.

19 Valores esperados

No estudo clínico do teste Xpert Norovirus, foram incluídas um total de 914 amostras fecais frescas ou não conservadas e não formadas colhidas prospetivamente, de sete centros de estudo. O número e percentagem de casos positivos de Norovirus GI e Norovirus GII, calculados por grupo de idade, estão apresentados em Tabela 2.

Tabela 2. Prevalência observada em GI e GII por grupo de idade

Idade (anos)	N.º de GI positivos	Prevalência observada de GI, %	N.º de GII positivos	Prevalência observada de 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
Total	16/914	1,8	74/914	8,1

20 Características do desempenho

20.1 Desempenho clínico

Foram avaliadas as características do desempenho do teste Xpert Norovirus em sete instituições nos EUA e na UE. As amostras do estudo consistiram em amostras fecais frescas ou não conservadas e não formadas de indivíduos com sintomas de gastroenterite aguda. O desempenho do teste Xpert Norovirus foi comparado com um método de teste de referência composto realizado nos Centros de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC, Atlanta, GA, EUA).

Foram testados um total de 1403 amostras de Norovirus GI pelo teste Xpert Norovirus e um teste de referência composto. Das 1403 amostras, 914 eram amostras frescas colhidas prospetivamente e 489 eram amostras arquivadas congeladas. Foram testados um total de 1401 amostras de Norovirus GII pelo teste Xpert Norovirus e um teste de referência composto. Das 1401 amostras, 914 eram amostras frescas colhidas prospetivamente e 487 eram amostras arquivadas congeladas.

Em amostras frescas colhidas prospetivamente, o teste Xpert Norovirus demonstrou 100% PPA e 99,6% NPA para a deteção de Norovirus GI em comparação com o teste de referência composto (Tabela 3). O teste Xpert Norovirus demonstrou 98,5% PPA e 98,8% NPA para a deteção de Norovirus GII (Tabela 4).

Em amostras arquivadas e congeladas, o teste Xpert Norovirus demonstrou 98,1% PPA e 94,6% NPA para a deteção de Norovirus GI em comparação com o teste de referência composto (Tabela 5). O teste Xpert Norovirus demonstrou 100% PPA e 96,8% NPA para a deteção de Norovirus GII (Tabela 6).

Tabela 3. Desempenho de Xpert Norovirus para GI vs. teste de referência composto – Amostras frescas

		Teste de referência composto		
		POS	NEG	Total
Xpert Norovirus	POS	12	4	16
	NEG	0	898	898
	Total	12	902	914
		PPA (IC de 95%)	100% (IC de 95%: 73,5–100)	
		NPA (IC de 95%)	99,6% (IC de 95%: 98,9–99,9)	

Tabela 4. Desempenho de Xpert Norovirus para GII vs. teste de referência composto – Amostras frescas

		Teste de referência composto		
		POS	NEG	Total
Xpert Norovirus	POS	64	10	74
	NEG	1	839	840
	Total	65	849	914
		PPA (IC de 95%)	98,5% (IC de 95%: 91,7–100)	
		NPA (IC de 95%)	98,8% (IC de 95%: 97,8–99,4)	

Tabela 5. Desempenho de Xpert Norovirus para GI vs. teste de referência composto – Amostras congeladas

		Teste de referência composto		
		POS	NEG	Total
Xpert Norovirus	POS	101	21	122
	NEG	2	365	367
	Total	103	386	489
		PPA (IC de 95%)	98,1% (IC de 95%: 93,2–99,8)	
		NPA (IC de 95%)	94,6% (IC de 95%: 91,8–96,6)	

Tabela 6. Desempenho de Xpert Norovirus para GII vs. teste de referência composto – Amostras congeladas

		Teste de referência composto		
		POS	NEG	Total
Xpert Norovirus	POS	109	12	121
	NEG	0	366	366
	Total	109	378	487
		PPA (IC de 95%)	100% (IC de 95%: 96,7–100)	
		NPA (IC de 95%)	96,8% (IC de 95%: 94,5–98,3)	

21 Desempenho analítico

21.1 Sensibilidade analítica (limite de detecção)

O estudo do limite de detecção (LoD) foi realizado para avaliar a sensibilidade analítica do teste Xpert Norovirus com amostras fecais clínicas positivas contendo Norovirus GI.3 ou Norovirus GII.4 diluídas numa matriz fecal negativa combinada. Por definição, LD é a menor concentração (cópias/ml) por amostra que se consegue distinguir de amostras negativas, reprodutivelmente, com uma confiança de 95%. Avaliaram-se réplicas de pelo menos 23, a sete concentrações, de Norovirus GI.3 e Norovirus GII.4 e os LD foram calculados por análise probit. Os LD calculados foram confirmados testando pelo menos 20 amostras replicadas com o vírus diluído às concentrações do LD calculadas.

As estimativas do LD e os LD confirmados para cada genogrupo testado encontram-se em Tabela 7.

Tabela 7. Limite de detecção do teste Xpert Norovirus

Genogrupo/estirpe de Norovirus	Limite de detecção (IC de 95%)
GI.3	$5,7 \times 10^5$ (cópias/ml)($4,64 \times 10^5 - 6,67 \times 10^5$)
GII.4	$3,0 \times 10^5$ (cópias/ml)($1,25 \times 10^5 - 1,78 \times 10^5$)

21.2 Especificidade analítica (reatividade cruzada)

A especificidade analítica do teste Xpert Norovirus foi avaliada testando um painel de 68 organismos, consistido por 54 bactérias, 1 fungo, 9 vírus e 4 parasitas, representando agentes patogénicos comuns ou potencialmente encontrados nas fezes. Foi testado um mínimo de três réplicas de todas as estirpes bacterianas e fúngicas a concentrações $\geq 10^6$ UFC/ml. Foi testado um mínimo de três réplicas de todos os vírus em concentrações $\geq 10^5$ TCID50/ml com a exceção de dois vírus obtidos a partir de amostras clínicas com concentrações desconhecidas. Foram testadas um mínimo de três réplicas de todos os parasitas, em concentrações $\geq 10^6$ cópias/ml. Todos os organismos testados foram corretamente notificados pelo teste Xpert Norovirus como sendo **NORO GI NÃO DETETADO (NORO GI NOT DETECTED); NORO GII NÃO DETETADO (NORO GII NOT DETECTED)**. A especificidade analítica foi de 100%. Os resultados são apresentados em Tabela 8.

Tabela 8. Especificidade analítica do teste Xpert Norovirus

Organismo	ID da estirpe	Concentração
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	$>3,0 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	$6,7 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Bacterioides fragilis</i> ^a	ATCC 25285	$1,4 \times 10^9$ UFC/ml
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43478	$1,8 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	$1,3 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	$3,4 \times 10^7$ UFC/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	$1,5 \times 10^9$ UFC/ml
<i>Clostridium difficile</i> ^a	ATCC 9689	$2,2 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Clostridium sordelli</i> ^a	DSMZ 2141	$2,0 \times 10^8$ UFC/ml
<i>Eggerthella lenta</i>	ATCC 43055	$>3,0 \times 10^7$ UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 70021	$1,0 \times 10^9$ UFC/ml
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	$1,0 \times 10^9$ UFC/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	$5,4 \times 10^8$ UFC/ml

Organismo	ID da estirpe	Concentração
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	8,2 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	4,5 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC 43888	8,4 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O26:H11	CDC 033014	7,4 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O45:H2	CDC 003039	3,3 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O103:H11	CDC 063008	5,4 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O11	CDC 201114	6,9 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O121	CDC 023211	1,4 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O145	CDC 993311	7,1 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	1,5 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ^a	ATCC 31647	9,6 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	1,5 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	1,2 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	4,0 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	1,2 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	1,8 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1,3 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	CCUG 7835	1,5 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	3,1 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Prevotella oralis</i> ^a	ATCC 33269	1,2 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	>3,0 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1,2 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 × 10 ⁹ UFC/ml
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	>3,0 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	>3,0 × 10 ⁷ UFC/ml

Organismo	ID da estirpe	Concentração
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATCC 12386	9,6 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	7,2 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,5 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	5,2 × 10 ⁹ cópias/ml m L
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	3,8 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	7,1 × 10 ⁸ UFC/ml
<i>Adenovírus</i>	tipo 31	3,6 × 10 ⁵ TCID50/ml
<i>Adenovírus</i>	tipo 40	2,8 × 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Adenovírus</i>	tipo 41	4,6 × 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Astrovirus</i> ^c	--	Não aplicável ^d
<i>Coxsackievirus</i>	Tipo B5	1,4 × 10 ⁵ TCID50/ml
<i>Ecovírus</i>	11	3,3 × 10 ⁹ TCID50/ml
<i>Parechovírus</i>	tipo 6	1,9 × 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Rotavírus</i>	Tipo Wa	1,0 × 10 ⁶ TCID50/ml
<i>Sapovírus</i> ^c	--	Não aplicável ^e
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	>3,0 × 10 ⁷ UFC/ml
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	BT1	1.0 × 10 ⁹ cópias/ml
<i>Cryptosporidium parvum</i> ^b	Iowa	6.1 × 10 ⁹ cópias/ml
<i>Giardia lamblia</i> ^b	Portland-1	3,05 × 10 ⁹ cópias/ml
<i>Entamoeba histolytica</i> ^b	ATCC 30459D	4,9 × 10 ⁶ cópias/ml

a Bactéria anaeróbia estrita.

b ADN genómico testado.

c Amostra clínica.

d A concentração não é conhecida para as amostras clínicas de Astrovirus obtidas a partir de KUL; os valores de Ct, de acordo com o ensaio KUL, estavam no intervalo 12-27.

e A concentração não é conhecida para as amostras clínicas de Sapovirus obtidas a partir de KUL; os valores de Ct, de acordo com o ensaio KUL, estavam no intervalo 19-23.

21.3 Reatividade analítica (inclusividade)

A reatividade analítica do teste Xpert Norovirus foi avaliada contra trinta e um genótipos representantes de ambos os grupos de norovírus (GI e GII). As trinta e uma estirpes de norovírus avaliadas neste estudo foram testadas próximo da concentração de LoD do ensaio (Tabela 9). Foram testadas três réplicas para cada estirpe.

Tabela 9. Testes de reatividade analítica do teste Xpert Norovirus

Estirpe Norovírus	Concentração estimada (cópias/ml) ^a	Resultado	
		GI	GII

Estirpe Norovírus	Concentração estimada (cópias/ml) ^a	Resultado	
		GI	GII
GI.1	9,0 × 10 ⁶	POS.	NEG.
GI.2	3,7 × 10 ⁸	POS.	NEG.
GI.3	1,4 × 10 ⁶	POS.	NEG.
GI.4	1,0 × 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.5 ^b	2,5 × 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.6 ^b	2,5 × 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.7 ^b	2,5 × 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.8	3,7 × 10 ⁵	POS.	NEG.
GI.14	3,0 × 10 ⁶	POS.	NEG.
GII.1	3,6 × 10 ⁶	NEG.	POS.
GII.2	1,1 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.3 ^b	1,3 × 10 ³	NEG.	POS.
GII.4 (2006a)	1,2 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.4 (2006b)	2,4 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.4 (2008)	4,3 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.4 (2009) Nova Orleães	1,7 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.4 (2010)	9,6 × 10 ⁴	NEG.	POS.
GII.4 (2012) Sydney	1,2 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.5 ^b	1,3 × 10 ³	NEG.	POS.
GII.6 ^b	1,3 × 10 ³	NEG.	POS.
GII.7	8,0 × 10 ⁴	NEG.	POS.
GII.8 ^b	1,3 × 10 ³	NEG.	POS.
GII.9 ^b	1,3 × 10 ³	NEG.	POS.
GII.10 ^b	1,3 × 10 ³	NEG.	POS.
GII.11	2,6 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.12	5,7 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.13	6,9 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.14	1,5 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.15	1,7 × 10 ⁵	NEG.	POS.
GII.16 ^b	1,3 × 10 ³	NEG.	POS.
GII.17 ^b	1,3 × 10 ³	NEG.	POS.

^a Foi fornecido um valor de concentração ou titulação estimada com base no valor de Ct (devido à dificuldade de cultivar partículas de norovírus, não é possível fornecer um valor de concentração exato). O valor de Ct para cada amostra clínica no estudo de

inclusividade foi extrapolado para a titulação obtida a partir do estudo LoD para amostras GI e GII bem caracterizadas utilizando uma curva padrão no CDC.

^b Foram usados transcritos de ARN nus para estas estirpes; não haviam amostras clínicas no momento do teste.

21.4 Estudo de substâncias interferentes

Foram avaliadas substâncias potencialmente interferentes que podem estar presentes nas fezes diretamente em relação ao desempenho do teste Xpert Norovirus. Substâncias potencialmente interferentes incluíram hemoglobina, mucina, colesterol, triglicéridos e sangue total, assim como substâncias endógenas e exógenas adicionais indicadas em Tabela 10.

As amostras negativas foram testadas em réplicas de 8 com cada substância numa matriz de fezes negativa para determinar o efeito no desempenho do controlo de processamento da amostra (SPC). Foram testadas amostras positivas em réplicas de 8 por amostra, com um isolado clínico de Norovirus GI e um Norovirus GII perto do LoD.

Todos os resultados foram comparados com controlos positivos e negativos preparados em matriz de fezes negativa. Todas as amostras válidas de controlo positivo e negativo foram reportadas corretamente utilizando o teste Xpert Norovirus.

Foi observada inibição do teste Xpert Norovirus em presença de cloreto de benzalcónio (1% p/v, 0,2% p/v e 0,04% p/v). Foram notificados resultados de teste falsos negativos para o alvo Norovirus GII em (1% p/v) cloreto de benzalcónio. Em presença de sulfato de bário (5% p/p), foi observado um efeito inibitório estatisticamente significativo no Ct de Norovirus GII Ct em amostras positivas em comparação com o controlo (valor-p <0,05). Não foi observado um efeito estatisticamente significativo no Ct de Norovirus GII em comparação com o controlo, em presença de sulfato de bário (1% p/p).

Nenhuma outra substância potencialmente interferente foi considerada inibitória e não foram notificados falsos negativos para tais substâncias.

Tabela 10. Substâncias que podem interferir no teste Xpert Norovirus

Substâncias endógenas		
Substância	Descrição/Princípio ativo	Concentração testada
Colesterol	Gordura fecal/colesterol	5% p/v
Hemoglobina	Hemoglobina humana	12,5 % p/v
Mucina	proteína de mucina purificada	5% p/v
Ácido esteárico/ Ácido palmítico (1:1)	Ácidos gordos/Ácido esteárico, Ácido palmítico	5% p/p
Triglicerídeos	Gordura fecal/mistura de triglicerídeos	5% p/v
Sangue total	Sangue total humano	10% v/v
Substâncias exógenas		
Substância	Descrição/Princípio ativo	Concentração testada
Paracetamol	Paracetamol	5% p/v
Amoxicilina	Antibiótico/Amoxicilina	5% p/v
Ampicillin	Sal sódico de ampicilina	152 µmol/L
Aspartamo	Aspartamo	5% p/v
Sulfato de bário	Meio de contraste/Sulfato de bário	5% p/p, 1% p/p
Cloreto de benzalcónio Álcool comercial	Toalhetes antissépticos/cloreto de benzalcónio em etanol	1%, 0,2%, 0,04% p/v
Subsalicilato de bismuto	Subsalicilato de bismuto (III) (um ingrediente ativo em peptobismol)	1% p/v
CaCO ₃	Carbonato de cálcio	5% p/v
Hidro cortisona	Hidro cortisona	50% p/v

Substâncias endógenas		
Ibuprofen	Ibuprofen	5% p/v
Imodium	Loperamida HCl	5% v/v
Kaopectate	Atapulgite	5 mg/ml
Metronidazol	Metronidazol	5% p/v
Mycostatin	Nistatina	50% p/p
Naprosyn	Naproxeno sódico	2,2 µmol/ml
Novaluzid	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ e MgCO ₃	5% p/v
Sulfato de polimixina B Bacitracina de zinco	Polysporin/Sulfato de polimixina B Bacitracina de zinco	50% p/v
Pursennid	Senosidos	5% p/v
Óleo mineral Rexall laxante	Óleo mineral	50% v/v

21.5 Estudo de contaminação por transferência

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência de amostras negativas executadas no mesmo módulo GeneXpert seguido de amostras positivas muito elevadas. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert logo após uma amostra altamente positiva para o norovírus GII. Este esquema de teste foi repetido 21 vezes em dois módulos GeneXpert, para um total de 42 execuções, para 20 amostras positivas e 22 negativas. Todas as 19 amostras positivas foram corretamente notificadas como **NORO GI NÃO DETETADO (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII DETETADO (NORO GII DETECTED)** e uma amostra positiva foi notificada como um **ERRO (ERROR)**. Todas as 22 amostras negativas foram corretamente identificadas como **NORO GI NÃO DETETADO; NORO GII NÃO DETETADO (NORO GI NOT DETECTED; NORO GII NOT DETECTED)**.

22 Reprodutibilidade

Um painel de 7 amostras com concentrações variáveis de Norovirus GI e Norovirus GII foi testado duas vezes por dia em cinco dias diferentes por dois operadores diferentes, em três centros (7 amostras × 2 vezes/dia × 5 dias × 2 operadores × 3 centros). Foi utilizado um lote dos cartuchos de teste Xpert Norovirus em cada um dos 3 centros de testes. O teste Xpert Norovirus foi realizado de acordo com o procedimento do teste Xpert Norovirus. Os resultados encontram-se resumidos na Tabela 11.

Tabela 11. Resumo dos resultados de reprodutibilidade

ID da amostra	Local 1	Local 2	Local 3	Global
Neg.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
GI - Neg. elev.	30,0% (6/20)	15,0% (3/20)	30,0% (6/20)	25,0% (15/60)
GI - Pos. baixa	100% (20/20)	85,0% (17/20)	95,0% (19/20)	93,3% (56/60)
GI - Pos. mod.	100%(19/19)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (59/59) ^a
GII - Neg. elev.	25,0% (5/20)	30,0% (6/20)	35,0% (7/20)	30,0% (18/60)
GII - Pos. baixa	100% (20/20)	95,0% (19/20)	90,0% (18/20)	95,0% (57/60)
GII - Pos. mod.	95,0% (19/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	98.3% (59/60)

^a Uma amostra 2x indeterminada

A reprodutibilidade do teste Xpert Norovirus também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct para cada alvo detetado. A média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre centros, entre dias e entre operadores para cada membro do painel são apresentados em. Tabela 12

Tabela 12. Resumo dos dados de reprodutibilidade

Amostra	Canal de ensaio (analito)	N ^a	Ct médio	Entre centros		Entre dias		Entre operadores		Intra-ensaio		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	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 - Neg. elev.	GI	60	39,4	0	0	0,46	1,2	0	0	1,80	4,6	1,86	4,7
GI - Pos. baixa	GI	59	37,9	0,29	0,8	0	0	0,36	1,0	1,03	2,7	1,13	3,0
GI - Pos. mod. ^b	GI	57	34,7	0,09	0,2	0,07	0,2	0	0	0,41	1,2	1,01	1,2
GII - Neg. elev.	GII	54	38,9	0	0	0	0	0,77	2,0	1,77	4,5	1,93	5,0
GII - Pos. baixa	GII	60	37,3	0	0	0	0	0,58	1,6	1,33	3,6	1,45	3,9
GII - Pos. mod. ^b	GII	59	34,3	0,22	0,6	0	0	0	0	0,45	1,3	0,50	1,5

^a Resultados com valores de Ct diferentes de zero em 60

^b n=3 valores atípicos de amostra (2 GI mod. e 1 GII pos. mod.) superiores a 5 desvios padrão da média foram considerados valores atípicos e removidos da análise.

23 Precisão do sistema do instrumento

Foi realizado um estudo interno de precisão para comparar o desempenho dos sistemas do instrumento GeneXpert Dx e GeneXpert Infinity. Foi testado um painel de 7 amostras de várias concentrações de Norovirus GI e Norovirus GII em 12 dias diferentes por dois operadores. Cada profissional realizou quatro execuções de cada amostra do painel por dia em cada um dos dois sistemas do instrumento (7 amostras × 4 vezes/dia × 12 dias × 2 profissionais × 2 sistemas do instrumento). Foram utilizados três lotes de cartuchos do teste Xpert Norovirus para o estudo. O teste Xpert Norovirus foi realizado de acordo com o procedimento de Xpert Norovirus. Os resultados encontram-se resumidos na Tabela 13.

Tabela 13. Resumo dos resultados de precisão dos sistemas do instrumento (Dx vs. Infinity)

Amostra	GeneXpert Dx			Infinity			% de concordância total por amostra
	Op. 1	Op. 2	Instr	Op. 1	Op. 2	Instr	
Neg.	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (192/192)
GI - Neg. elev.	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 - Pos. baixa	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 - Pos. mod. ^a	100% ^a (47/47)	100% (48/48)	100% (95/95)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (191/191)
GII - Neg. elev.	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)

Amostra	GeneXpert Dx			Infinity			% de concordância total por amostra
	Op. 1	Op. 2	Instr	Op. 1	Op. 2	Instr	
GII - Pos. baixa	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)
GII - Pos. mod.	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (48/48)	100% ^b (47/47)	100% (95/95)	100% (191/191)

^a Uma amostra GI pos. mod. não testada.

^b Uma amostra GII Pos. mod. indeterminada e não retestada.

A precisão do teste Xpert Norovirus também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct para cada alvo detetado. A média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre instrumentos, entre lotes, entre dias, entre operadores e dentro do ensaio para cada membro do painel são apresentados em Tabela 14.

Tabela 14. Resumo dos dados de precisão

Amostra	Canal de ensaio (analito)	N ^a	Ct médio	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre dias		Entre operadores		Intra-ensaio		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	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 - Neg. elev.	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 - Pos. baixa	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 - Pos. mod.	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 - Neg. elev.	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 - Pos. baixa	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 - Pos. mod.	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 Resultados com valores de Ct diferentes de zero em 192.

24 Referências

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 (consultar a edição mais recente, disponível em <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; Guideline aprovada. Document M29 (consulte a edição mais recente, disponível em <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
19. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de Dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Directivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 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 Locais das sedes da Cepheid

Sede empresarial

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Assistência técnica

Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão de software e, caso se aplique, número de Etiqueta de serviço (Service Tag) do computador

Informações de contacto

Estados Unidos da América

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

França

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

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em www.cepheid.com/en/support/support/order-management.

27 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para n testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marcação CE — Conformidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Atenção
	Mandatário na Suíça
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suécia



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



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



28 Histórico de revisões

Secção	Descrição da alteração
Tabela de símbolos	Adição do símbolo do CH REP e do importador, bem como definições na tabela de símbolos. Adição da informação do CH REP e do importador, incluindo o endereço na Suíça.
Histórico de revisões	Atualização da tabela relativa ao histórico de revisões.