

Xpert[®] Norovirus

REF GXNOV-CE-10

Инструкция по эксплуатации

IVD CE

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Serheid®, логотип Serheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Serheid, зарегистрированными в США и других странах.

Все другие товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2014–2023 Serheid.

Подробное описание изменений смотрите в разделе 24 «История изменений».

Хpert® Norovirus

Только для диагностических тестов *in vitro*.

1 Proprietary Name

Хpert® Norovirus

2 Общепринятое или распространенное наименование

Хpert Norovirus

3 Целевое использование

Тест Cepheid Хpert® Norovirus, выполняемый на системах приборов GeneХpert®, является качественным диагностическим тестом *in vitro* для выявления и дифференциации РНК геногруппы I и геногруппы II норовируса в необработанных или несодержащих консерванты образцах жидкого стула, взятых у лиц с симптомами острого гастроэнтерита. В тесте для обнаружения РНК норовируса используется автоматизированная полимеразная цепная реакция обратной транскриптазы (ОТ-ПЦР) в реальном времени. Тест Хpert Norovirus предназначен для облегчения диагностики норовирусных инфекций при использовании в сочетании с клинической оценкой, лабораторными данными и эпидемиологической информацией. Данный тест также помогает в обнаружении и идентификации норовирусных инфекций во время вспышек заболевания.

4 Краткие сведения и разъяснения

Норовирусы представляют собой одноцепочечные РНК, вирусы без оболочки из рода *Norovirus*, семейства *Caliciviridae*, которые вызывают острый гастроэнтерит у людей и других млекопитающих. Прототип норовируса был впервые идентифицирован как причина вспышки гастроэнтерита в Норуолке, штат Огайо, в 1968 году.¹ По оценкам, норовирус может быть возбудителем более 23 миллионов случаев гастроэнтерита каждый год в Соединенных Штатах, что составляет примерно 60 % всех случаев острого гастроэнтерита.² Норовирусы можно разделить на пять различных геногрупп, из которых геногруппа I (GI) и геногруппа II (GII) вызывают большинство инфекций у людей.

Норовирусы – основная причина гастроэнтерита во всем мире. Они поражают людей всех возрастов и часто вызывают вспышки заболевания в общественных учреждениях, таких как дома престарелых, больницы, детские сады, тюрьмы и круизные лайнеры.^{3–6} Симптомами норовирусной инфекции обычно являются диарея, рвота, спазмы желудка, тошнота и лихорадка. Заболевание обычно проходит само по себе, а признаки и симптомы могут сохраняться в течение нескольких дней. У детей, пожилых людей и людей с ослабленным иммунитетом заболевание может быть опасным для жизни из-за обезвоживания. Наиболее распространенные названия норовирусного гастроэнтерита: зимняя рвотная болезнь, желудочный грипп, острый небактериальный гастроэнтерит и вирусный гастроэнтерит. Норовирус можно культивировать только в очень специализированных системах культивирования клеток.⁷ Электронная микроскопия может использоваться для прямой визуализации норовируса в образцах фекалий, но имеет низкую чувствительность.⁸

Коммерчески доступные иммуноферментные анализы (ИФА) доказали свою полезность во время вспышек норовируса. Однако из-за низкой чувствительности этого анализа коммерчески доступные ИФА эффективны только при высокой распространенности норовирусной инфекции. Кроме того, действующие руководящие принципы CDC рекомендуют подтверждать все отрицательные результаты ИФА молекулярными методами.⁸ Известно, что по сравнению с методами ОТ-ПЦР доступные в настоящее время ИФА имеют низкую чувствительность (36–80 %) и специфичность от низкой до хорошей (47–100 %) в зависимости от среды тестирования.^{9–15} В Европе и Японии, где существуют коммерчески доступные молекулярные анализы, для проведения анализов требуются

высококвалифицированные молекулярные технологи; предусмотрено, что тесты должны выполняться в партиями, что приводит к задержкам получения результатов. В соответствии с действующими руководящими принципами CDC медицинским работникам рекомендуется рассмотреть вопрос о разработке и принятии политики учреждения, позволяющей клиническое и вирусологическое подтверждение подозреваемых случаев симптоматической норовирусной инфекции, при одновременном принятии оперативных мер контроля для уменьшения масштабов потенциальной вспышки норовируса.¹⁶ Тест Xpert Norovirus обеспечивает быстрое и точное молекулярное тестирование по запросу, что, в свою очередь, помогает инициировать немедленные меры контроля норовируса, независимо от уровня распространенности.

5 Принципы проведения процедуры

Тест автоматизирован и использует полимеразную цепную реакцию обратной транскриптазы (ОТ-ПЦР) в реальном времени для обнаружения специфических последовательностей вирусных генов, связанных с геногруппой I и геногруппой II норовируса. Образцы стула берут у пациентов с симптомами острого гастроэнтерита и доставляют в лабораторию в чистом контейнере. В образец стула вставляют тампон, а затем помещают в пробирку, содержащую реагент для образца. После кратковременного перемешивания на вихревой мешалке элюированный образец переносят в камеру для образца одноразового жидкостного картриджа (картридж GeneXpert). Картридж GeneXpert загружают на платформу системы приборов GeneXpert, которая без участия оператора выполняет автоматизированную обработку образцов и ОТ-ПЦР в реальном времени для обнаружения и дифференциации геногруппы I и геногруппы II норовируса.

В системах приборов GeneXpert объединены и автоматически выполняются следующие процессы: подготовка образцов, экстракция и амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевых последовательностей в простых и сложных образцах с использованием ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и ПЦР в реальном времени. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реагенты для ОТ-ПЦР и ПЦР и в которых происходят процессы ОТ-ПЦР и ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание систем представлено в соответствующем *руководстве оператора GeneXpert Dx* или *руководстве оператора GeneXpert Infinity*.

Тест Xpert Norovirus содержит реагенты для обнаружения последовательностей нуклеиновых кислот для геногруппы I и геногруппы II норовируса в необработанных или несодержащих консерванты образцах жидкого стула, взятых у людей с симптомами острого гастроэнтерита. Кроме того, в картридже содержится средство контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и средство контроля зондов (Probe Check Control, PCC). SPC предназначен для контроля правильности обработки целевых вирусов и выявления ингибиторов в среде, где происходит ПЦР. PCC проверяет регидратацию сухого реагента, заполнение пробирки ПЦР в картридже, целостность зонда и стабильность красителя.

6 Реагенты и приборы

6.1 Комплект поставки

Набор теста Xpert Norovirus (каталожный номер GXNOV-CE-10) содержит реагенты в количестве, достаточном для обработки 10 образцов или проб контроля качества. В набор входят:

Картриджи Xpert Norovirus со встроенными реакционными пробирками	10
<ul style="list-style-type: none"> • Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные) • Элюирующий реагент • Ополаскивающий реагент • Реагент связывания (гуанидина тиоцианат) 	по 1 каждого типа на картридж 1,5 мл на картридж 1,0 мл на картридж 2,7 мл на картридж
Реагент для образцов (гуанидина тиоцианат)	10 x 2,0 мл в одном флаконе
Компакт-диск	1 в каждом наборе

Картриджи Хpert Norovirus со встроенными реакционными пробирками

10

- Файл описания теста (ADF)
- Инструкции по импорту файла ADF в программное обеспечение
- Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)

Прим. Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**

Прим. Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение

- Храните картриджи и реагенты теста Хpert Norovirus при температуре 2–8 °С.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Используйте картридж в течение 30 минут, после того как была открыта крышка.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneХpert Dx или GeneХpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneХpert, компьютер с патентованным программным обеспечением GeneХpert версии 4.3 или выше, ручной сканер штрихкодов и руководство оператора.
- Принтер: Обратитесь к торговому представителю компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Вихревая мешалка
- Одноразовые пипетки для переноса
- Одноразовый сухой тампон с вязким наконечником (SDPS-120) или аналогичный вязкий тампон для переноса образца стула из контейнера с образцом во флакон с реагентом для образца
- Чистый контейнер для образцов без консервантов

9 Доступные материалы, не входящие в комплект поставки

- Исходная культура ротавируса ZeptoMetrix NATtrol™ (каталожный номер NATROTA-6MC) в качестве внешнего отрицательного контроля.
- Исходная культура норовируса GI ZeptoMetrix NATtrol™ и исходная культура норовируса GII NATtrol™ (каталожный номер NATNOVI-6MC и NATNOVII-6MC) в качестве внешнего положительного контроля.

10 Предупреждения и меры предосторожности

10.1 Общие положения

- Только для диагностических тестов *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе с использованными картриджами и реактивами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами

требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются Центрами по контролю и профилактике заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)¹⁹ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).²⁰

- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реагентов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления. По вопросам надлежащего удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов обратитесь к сотруднику по защите окружающей среды и удалению отходов вашего учреждения.


10.2 Образец

- Соблюдайте надлежащие условия хранения при транспортировке образцов, чтобы обеспечить их целостность (см. Раздел 12. Взятие, транспортировка и хранение образцов). Не изучалась стабильность образца при транспортировке в условиях, отличных от рекомендованных.
- Надлежащие взятие, хранение и транспортировка образцов крайне важны для получения правильных результатов.

10.3 Тест/реагент

- Не заменяйте реагенты теста Xpert Norovirus другими реагентами.
- Не открывайте крышку картриджа Xpert Norovirus до тех пор, пока не будете готовы внести образец.
- Не используйте картридж, который падал после извлечения из набора или подвергался сотрясениям после открытия крышки картриджа. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению сомнительных результатов.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрихкодом.
- Не используйте картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.
- Реагент для образцов представляет собой прозрачную бесцветную жидкость. Не используйте помутневший или изменивший свой цвет реагент для образцов.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Каждый одноразовый картридж теста Xpert Norovirus применяется для проведения только одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Чтобы избежать загрязнения образцов и реактивов следует соблюдать принципы надлежащей лабораторной практики и менять перчатки перед работой с каждым следующим образцом. Регулярно очищайте рабочую поверхность/рабочие зоны 10 % раствором гипохлорита натрия, затем повторно протирайте поверхность 70 % этиловым или изопропиловым спиртом до и после работы с образцами Xpert Norovirus.
- Образцы могут содержать большое количество микроорганизмов. Убедитесь, что контейнеры с образцами не соприкасаются друг с другом. Меняйте перчатки, если вы ими касаетесь непосредственно образца, а также после обработки каждого образца, чтобы избежать загрязнения других образцов.

11 Опасные химические факторы^{19,20}

- Символ опасности СГС ООН 
- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- Заявления об опасности СГС ООН:

- Вредно при проглатывании.
- Вызывает слабое раздражение кожи.
- Вызывает раздражение глаз.
- Предостерегающие заявления СГС ООН:
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - **Реагирование**
 - При плохом самочувствии обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

12 Взятие, транспортировка и хранение образцов

1. Соберите необработанный или несодержащий консерванты образец жидкого стула в чистый контейнер без консервантов. Следуйте правилам вашего учреждения по сбору образцов для тестирования на норовирус.
2. Наклейте на контейнер для образца стула этикетку с именем пациента и идентификатором образца и отправьте его в лабораторию.
3. Храните образец при 2–8 °С. Образец стабилен до двух дней в условиях хранения при 2–8 °С.

13 Процедура

13.1 Подготовка картриджа

Прим. Тест следует начать не позднее чем через 30 минут после введения реагента для образцов в картридж.

Порядок внесения пробы в картридж:

1. Извлеките картридж и флакон с реагентом для образцов из набора.
2. Окуните тампон в необработанный или несодержащий консерванты жидкий образец стула. См. нужное количество образца, которое будет использоваться для теста Xpert Norovirus, в Рисунок 1.

Прим. Оберните стерильной марлевой салфеткой стержень тампона и горлышко флакона, чтобы свести к минимуму риск контаминации. Не покрывайте образцом стула весь наконечник тампона. См. Рисунок 1. Слишком много материала может привести к ошибкам или неверным результатам.



Рисунок 1. Сбор образца на тампон

3. После снятия крышки с флакона с реагентом для образца вставьте тампон с образцом стула во флакон, содержащий реагент для образца.
4. Держите тампон за стержень возле края флакона. Поднимите тампон на несколько миллиметров от дна флакона и согните стержень над краем флакона, чтобы он сломался, оставив тампон достаточно коротким для того, чтобы он поместился во флакон и крышка плотно закрылась.
5. Закройте флакон реагента для образца крышкой и перемешайте содержимое флакона на вихревой мешалке в течение десяти секунд на высокой скорости.
6. Откройте крышку картриджа. Пользуясь чистой пипеткой для переноса (не входит в комплект поставки), перенесите все содержимое флакона с реагентом для образца в камеру для образца картриджа Хpert Norovirus. См. Рисунок 2.
7. Закройте крышку картриджа и начните анализ в течение 30 минут.



Рисунок 2. Картридж Хpert Norovirus (вид сверху)

13.2 Запуск теста

Прим. Прежде чем начинать анализ, убедитесь, что файл с описанием теста (assay definition file, ADF) Хpert Norovirus импортирован в программное обеспечение. В данном разделе перечислены основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Прим. Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменил установленную по умолчанию рабочую последовательность.

1. Включите прибор GeneXpert:
 - а) При использовании прибора GeneXpert Dx следует сначала включать сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения GeneXpert Dx, находящегося на рабочем столе Windows®.
 - или
 - б) При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения Xpertise, находящегося на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в Система GeneXpert программное обеспечение со своим именем пользователя и паролем.
3. В окне системы GeneXpert выберите пункт **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или выберите пункт **Команды (Orders)**, а затем **Задать команду на проведение анализа (Order Test)** (для GeneXpert Infinity). Откроется окно Создать анализ (Create Test).
4. Отсканируйте или введите вручную идентификационный номер пациента (необязательно). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), то проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) указывается в левой части окна «Просмотреть результаты» (View Results) и связывается с результатами теста.
5. Отсканируйте или введите вручную ID образца (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) указывается в левой части окна «Просмотреть результаты» (View Results) и связывается с результатами анализа.

- Отсканируйте штрихкод на картридже теста Xpert Norovirus. На основе информации, считанной со штрихкода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реагента» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Прим. Если штрихкод картриджа Xpert Norovirus не сканируется, повторите анализ с новым картриджем, следуя процедуре, описанной в разделе «Процедура повторного анализа».

- Щелкните **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для GeneXpert Infinity). В появившемся диалоговом окне введите свой пароль.
- При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
- Перед открытием дверцы модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

14 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечислены основные действия по просмотру и печати результатов. Подробные инструкции по просмотру и печати результатов приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx System* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity System*.

- Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
- По завершении анализа выберите кнопку **Отчет (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

15 Контроль качества

15.1 Встроенные контроли качества

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC):** Обеспечивает правильность обработки образца. Контроль обработки образцов (SPC) представляет собой контроль по технологии Armored RNA®, включенный в каждый картридж для подтверждения правильности обработки образца. SPC подтверждает выход РНК из вирусов, если данный микроорганизм присутствует, а также подтверждает правильность обработки образца. Кроме того, этот контроль выявляет связанное с образцом ингибирование реакций ОТ-ПЦР и ПЦР. Результат для SPC должен быть положительным для отрицательной пробы и может быть как положительным, так и отрицательным для положительной пробы. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- Контроль зондов (PCC):** Перед запуском ПЦР системой GeneXpert Dx или системой GeneXpert Infinity измеряется флуоресцентный сигнал от зондов (SPC, QC1 и QC2 — по одному на каждую из двух гранул реагента) для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль зондов считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

15.2 Внешние контроли

- Внешние контроли: исходная культура ротавируса ZeptoMetrix NATrol (каталожный номер NATROTA-6MC) в качестве внешнего отрицательного контроля и исходная культура норовируса GI ZeptoMetrix NATrol и исходная

культура норовируса GII NATrol (каталожный номер NATNOVI-6MC и NATNOVII-6MC) в качестве внешнего положительного контроля могут использоваться в соответствии с требованиями местных, государственных и федеральных аккредитационных организаций соответственно.

16 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются Система GeneXpertсистемой на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Возможные результаты показаны в Таблица 1.

Таблица 1. Результаты теста Xpert Norovirus и их интерпретация

Результат	Интерпретация
<p>NORO GI ОБНАРУЖЕН (NORO GI DETECTED), NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED)</p> <p>См. Рисунок 3.</p>	<p>Обнаружена последовательность РНК геногруппы I (GI) норовируса.</p> <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой последовательности РНК геногруппы I (GI) норовируса находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше порогового значения. SPC – Н/П (неприменимо) (NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей норовируса может конкурировать с этим контролем. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
<p>NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII ОБНАРУЖЕН (NORO GII DETECTED)</p> <p>См. Рисунок 4.</p>	<p>Обнаружена последовательность РНК геногруппы II (GII) норовируса.</p> <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой последовательности РНК геногруппы II (GII) норовируса находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше порогового значения. SPC – Н/П (неприменимо) (NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей норовируса может конкурировать с этим контролем. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
<p>NORO GI ОБНАРУЖЕН (NORO GI DETECTED), NORO GII ОБНАРУЖЕН (NORO GII DETECTED)</p> <p>См. Рисунок 5.</p>	<p>Обнаружена последовательность РНК геногруппы I (GI) норовируса и последовательность РНК геногруппы II (GII) норовируса.</p> <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой последовательности РНК геногруппы I (GI) норовируса находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше порогового значения. Значение Ct целевой последовательности РНК геногруппы II (GII) норовируса находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше порогового значения. SPC – Н/П (неприменимо) (NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей норовируса может конкурировать с этим контролем. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
<p>NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GII NOT DETECTED)</p> <p>См. Рисунок 6.</p>	<p>Последовательности РНК норовируса не обнаружены.</p> <ul style="list-style-type: none"> Последовательности РНК норовируса не обнаружены. SPC – ПРОЙДЕН (PASS); SPC имеет Ct в пределах действительного диапазона и конечную точку выше порогового значения. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.

Результат	Интерпретация
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) См. Рисунок 7.	Наличие или отсутствие целевой РНК норовируса установить невозможно. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в Раздел 17.2. <ul style="list-style-type: none"> Норовирус GI – НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) Норовирус GII – НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) SPC — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); значение Ct SPC не находится в действительном диапазоне, и конечная точка ниже минимального порогового значения. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
ОШИБКА (ERROR)	Наличие или отсутствие целевой РНК норовируса установить невозможно. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в Раздел 17.2. <ul style="list-style-type: none"> Норовирус GI – ОШИБКА (ERROR) Норовирус GII – ОШИБКА (ERROR) PCC — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; одна проверка или более в рамках контроля качества зондов не пройдены. * Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана выходом за границы приемлемого диапазона предельного максимального давления.
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	Наличие или отсутствие целевой РНК норовируса установить невозможно. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в Раздел 17.2. Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии. <ul style="list-style-type: none"> Норовирус GI – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Норовирус GII – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) PCC – Неприменимо (NA).

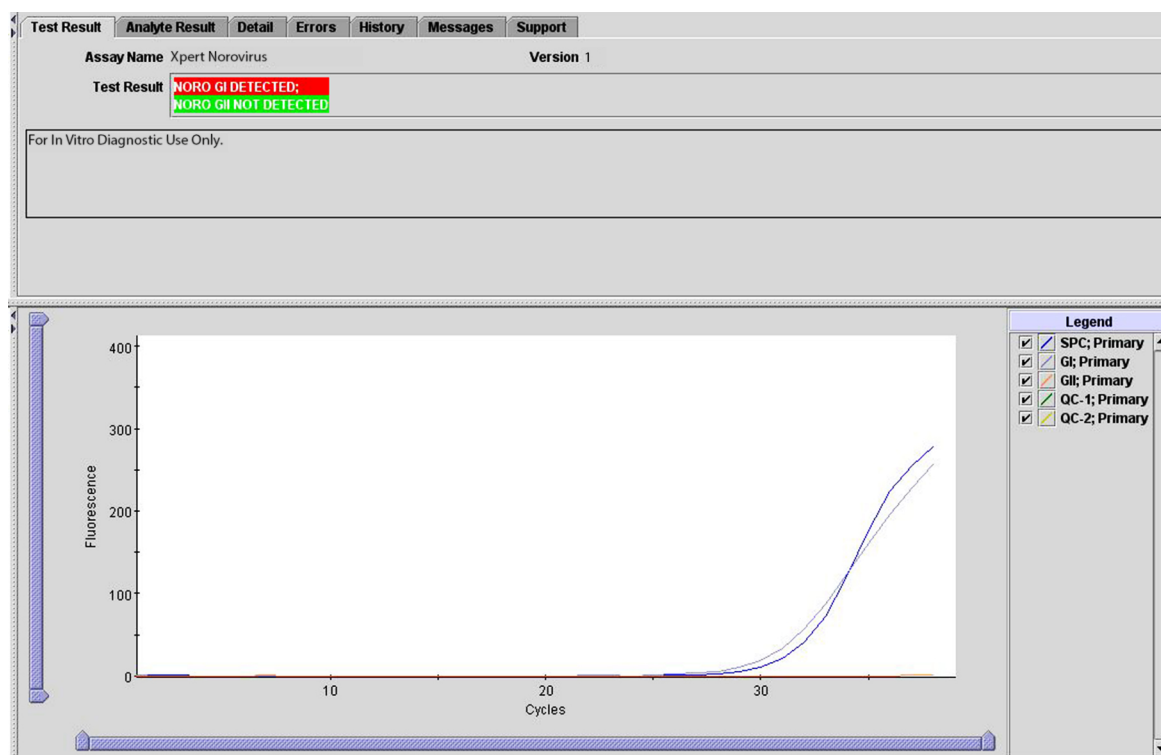


Рисунок 3. Норовирус GI обнаружен; норовирус GII не обнаружен

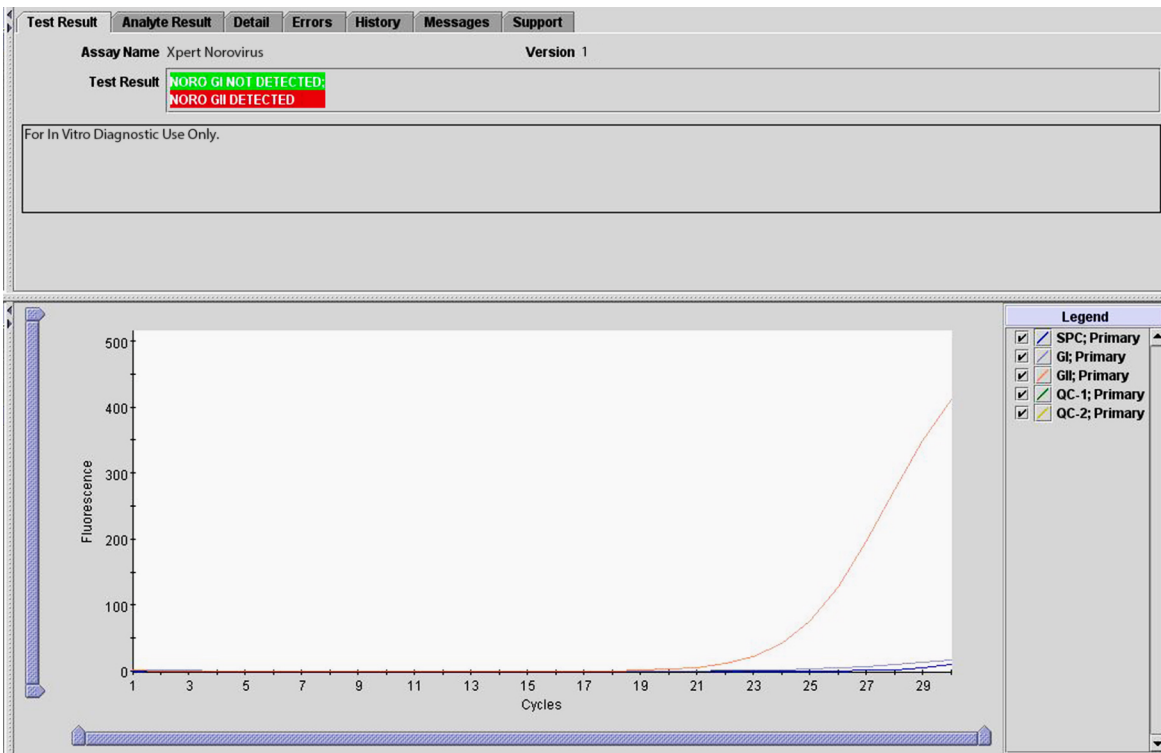


Рисунок 4. Норовирус GI не обнаружен; норовирус GII обнаружен

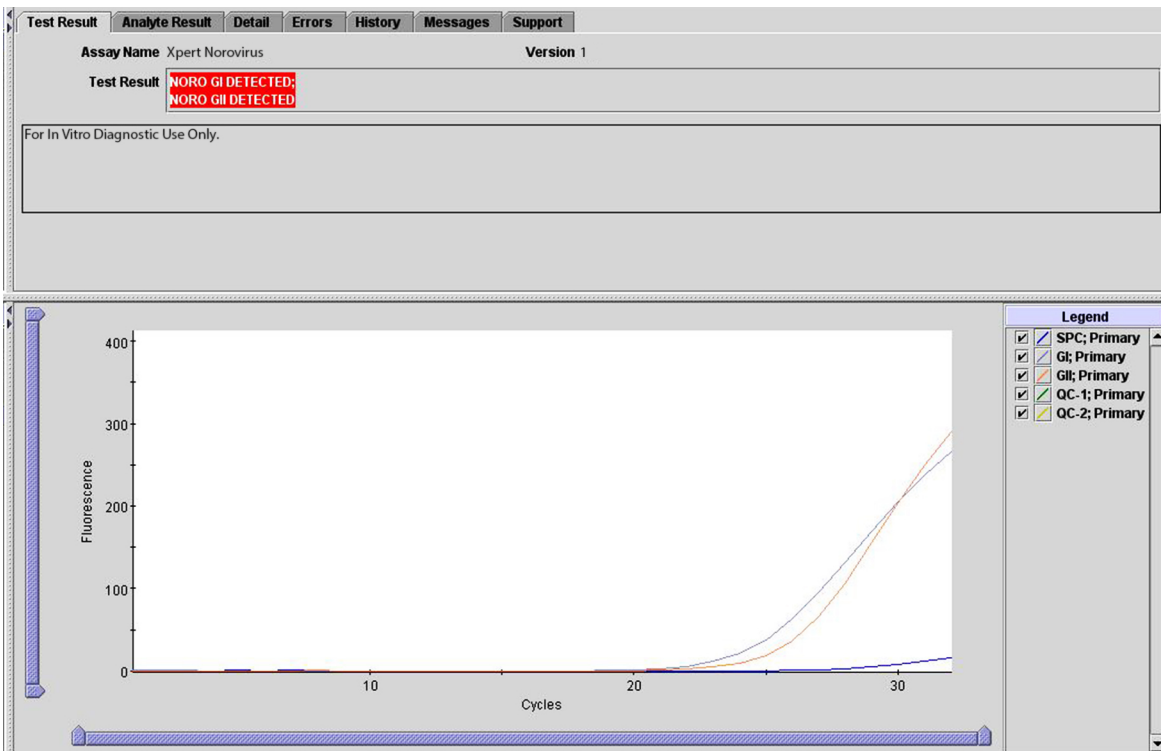


Рисунок 5. Норовирус GI обнаружен; норовирус GII обнаружен

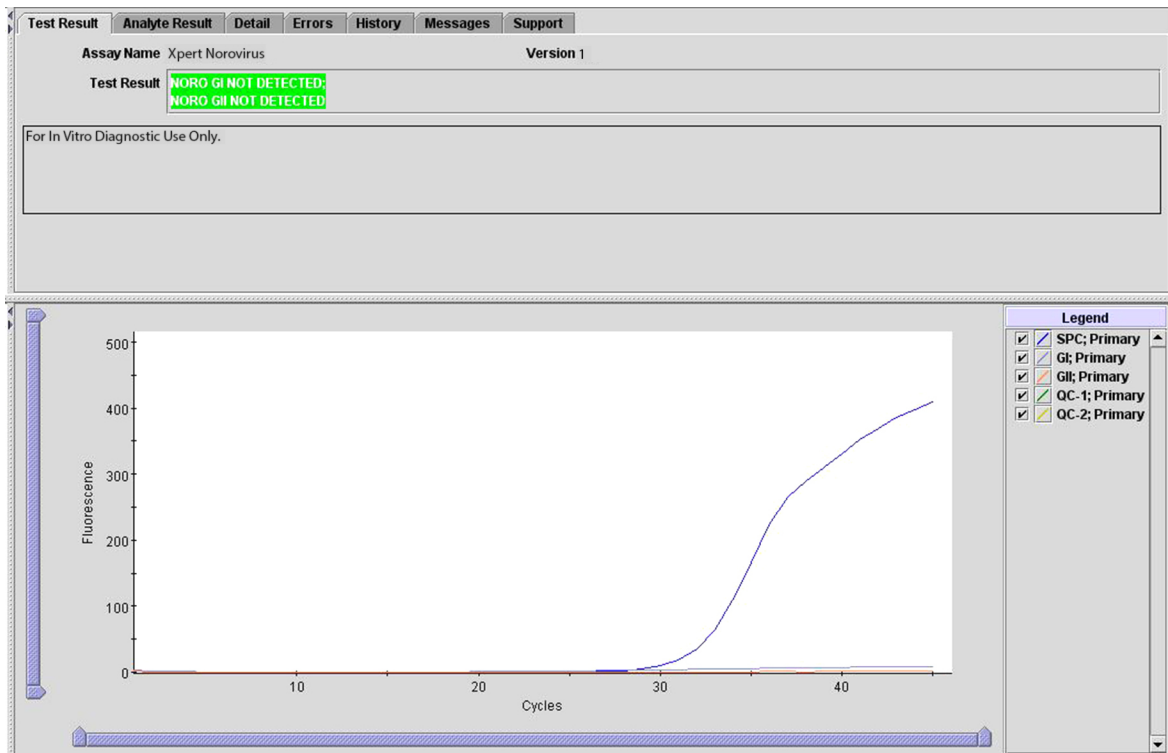


Рисунок 6. Норовирус GI не обнаружен; норовирус GIИ не обнаружен

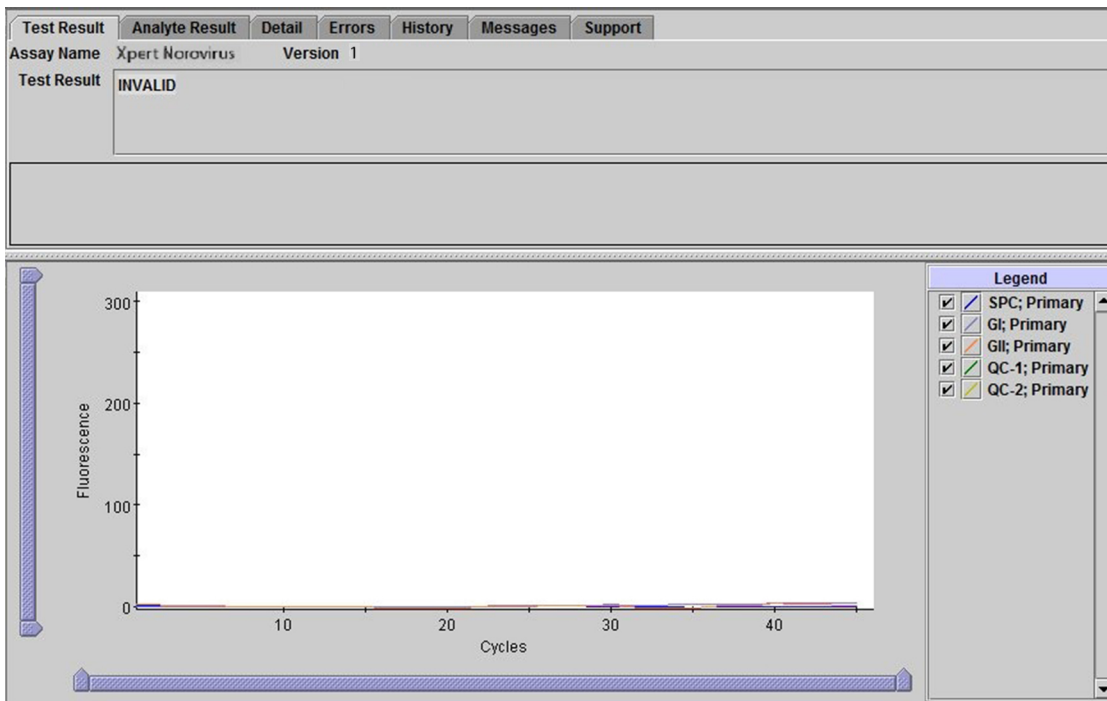


Рисунок 7. НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)

17 Повторное выполнение теста

17.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов анализа повторите тест в соответствии с указаниями, изложенными в Раздел 17.2. Процедура повторного теста.

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат указывает на то, что не пройдены проверки SPC. Процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом, ПЦР была ингибирована или не соблюдались правила взятия образца.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** мог быть обусловлен, помимо прочего, непрохождением контроля зондов или превышением пределов максимального давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.

17.2 Процедура повторного теста

Для повторного анализа образцов в случаях получения результата **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**, используйте новый картридж (не допускайте повторного использования картриджа) и новый флакон с реагентом для образца.

1. Извлеките картридж и флакон с реагентом для образцов из набора теста Хpert Norovirus.
2. После снятия крышки с флакона с реагентом для образца ненадолго окуните тампон в жидкий образец стула. См. нужное количество образца, которое будет использоваться для теста Хpert Norovirus, в Рисунок 8.

Прим. Оберните стерильной марлевой салфеткой стержень тампона и горлышко флакона, чтобы свести к минимуму риск контаминации. Не покрывайте образцом стула весь наконечник тампона. См. Рисунок 8. Слишком много материала может привести к ошибкам или неверным результатам.

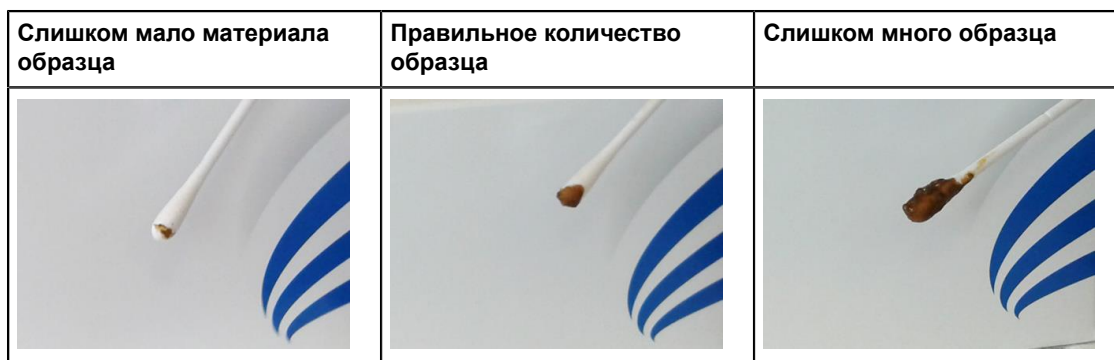


Рисунок 8. Сбор образца на тампон

3. После снятия крышки с флакона с реагентом для образца вставьте тампон с образцом стула во флакон, содержащий реагент для образца.
4. Держите тампон за стержень возле края флакона. Поднимите тампон на несколько миллиметров от дна флакона и согните стержень над краем флакона, чтобы он сломался. Проследите за тем, чтобы тампон был достаточно коротким, чтобы можно было плотно закрыть флакон.
5. Закройте флакон реагента для образца крышкой и перемешайте содержимое флакона на вихревой мешалке в течение 10 секунд на высокой скорости.
6. Откройте крышку картриджа. Пользуясь чистой пипеткой для переноса (не входит в комплект поставки), перенесите все содержимое флакона с реагентом для образца в камеру для образца картриджа Хpert Norovirus. См. Рисунок 2.
7. Закройте крышку картриджа и начните анализ в течение 30 минут.

18 Ограничения

- Только для диагностического применения in vitro.
- Функциональные характеристики теста Хpert Norovirus валидированы только с использованием процедур, описанных в данном вкладыше-инструкции.
- Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты, полученные с использованием теста Хpert Norovirus, следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- Неправильные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором, обращением или хранением образца, неверной идентификацией образцов или количеством микроорганизмов в образце ниже порога обнаружения данного теста. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно следовать указаниям, представленным во вкладыше-инструкции.
- В случае использования необработанных или несодержащих консервантов образцов жидкого стула влияние теста может наблюдаться в присутствии сульфата бария (≥ 1 % весового соотношения) и хлорида бензалкония при всех испытанных концентрациях (1 % вес/объем, 0,2 % вес/объем и 0,04 % вес/объем).
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут отрицательно повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов норовируса и привести к получению ложно-отрицательных результатов.
- В случае смешанной инфекции норовирусом GI и GII, когда титр одной геногруппы имеет более высокий показатель, чем титр другой геногруппы, геногруппа с более высоким титром будет считаться обнаруженной; геногруппа с более низким титром может быть указана как не обнаруженная.

19 Ожидаемые значения

В клиническое исследование теста Хpert Norovirus было включено 914 проспективно собранных свежих, необработанных или несодержащих консервантов образцов жидкого стула из семи исследовательских центров. Количество и процент положительных случаев на норовирус GI и норовирус GII, рассчитанные по возрастным группам, представлены в Таблица 2.

Таблица 2. Наблюдаемая распространенность заболевания GI и GII по возрастным группам

Возраст (лет)	Кол-во положительных результатов GI	Наблюдаемая частота GI, %	Кол-во положительных результатов GII	Наблюдаемая частота 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
Всего	16/914	1,8	74/914	8,1

20 Функциональные характеристики

20.1 Клинические функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Хpert Norovirus оценивались в семи учреждениях в США и ЕС. Образцы для исследования состояли из необработанных образцов или образцов жидкого стула без консервантов, полученных от субъектов с симптомами острого гастроэнтерита. Эффективность теста Хpert Norovirus сравнивалась с комбинированным эталонным методом тестирования, выполняемым в Центрах по контролю и профилактике заболеваний (CDC; Атланта, Джорджия, США).

В общей сложности с помощью теста Xpert Norovirus и комбинированного эталонного теста 1403 образца были протестированы на норовирус GI. Из 1403 образцов 914 свежих образцов были собраны проспективно, и 489 получены из замороженных, архивных образцов. В общей сложности с помощью теста Xpert Norovirus и комбинированного эталонного теста 1401 образец был протестирован на норовирус GII. Из 1401 образца 914 свежих образцов были собраны проспективно, и 487 получены из замороженных, архивных образцов.

На свежих, проспективно собранных образцах тест Xpert Norovirus для обнаружения норовируса GI продемонстрировал 100 % совпадений положительных результатов (positive percent agreement, PPA) и 99,6 % совпадений отрицательных результатов (negative percent agreement, NPA) по сравнению с комбинированным эталонным тестом (Таблица 3). Результаты теста Xpert Norovirus для обнаружения норовируса GII составили 98,5 % PPA и 98,8 % NPA (Таблица 4).

На замороженных, архивных образцах тест Xpert Norovirus для обнаружения норовируса GI продемонстрировал 98,1 % PPA и 94,6 % NPA по сравнению с комбинированным эталонным тестом (Таблица 5). Результаты теста Xpert Norovirus для обнаружения норовируса GII составили 100 % PPA и 96,8 % NPA (Таблица 6).

Таблица 3. Эффективность Xpert Norovirus для обнаружения GI по сравнению с комбинированным эталонным тестом — свежие образцы

		Комбинированный эталонный тест		
		ПОЛОЖ	ОТРИЦ	Всего
Xpert Norovirus	ПОЛОЖ	12	4	16
	ОТРИЦ	0	898	898
	Всего	12	902	914
PPA% (процент совпадения положительных) (95 % ДИ)		100 % (95 % ДИ: 73,5–100)		
NPA% (процент совпадения отрицательных) (95 % ДИ)		99,6 % (95 % ДИ: 98,9–99,9)		

Таблица 4. Эффективность Xpert Norovirus для обнаружения GII по сравнению с комбинированным эталонным тестом — свежие образцы

		Комбинированный эталонный тест		
		ПОЛОЖ	ОТРИЦ	Всего
Xpert Norovirus	ПОЛОЖ	64	10	74
	ОТРИЦ	1	839	840
	Всего	65	849	914
PPA% (процент совпадения положительных) (95 % ДИ)		98,5 % (95 % ДИ: 91,7–100)		
NPA% (процент совпадения отрицательных) (95 % ДИ)		98,8 % (95 % ДИ: 97,8–99,4)		

Таблица 5. Эффективность Xpert Norovirus для обнаружения GI по сравнению с комбинированным эталонным тестом — замороженные образцы

		Комбинированный эталонный тест		
		ПОЛОЖ	ОТРИЦ	Всего
Xpert Norovirus	ПОЛОЖ	101	21	122
	ОТРИЦ	2	365	367
	Всего	103	386	489
PPA% (процент совпадения положительных) (95 % ДИ)		98,1 % (95 % ДИ: 93,2–99,8)		
NPA% (процент совпадения отрицательных) (95 % ДИ)		94,6 % (95 % ДИ: 91,8–96,6)		

Таблица 6. Эффективность Хpert Norovirus для обнаружения GII по сравнению с комбинированным эталонным тестом — замороженные образцы

		Комбинированный эталонный тест		
		ПОЛОЖ	ОТРИЦ	Всего
Хpert Norovirus	ПОЛОЖ	109	12	121
	ОТРИЦ	0	366	366
	Всего	109	378	487
PPA% (процент совпадения положительных) (95 % ДИ)		100 % (95 % ДИ: 96,7–100)		
NPA% (процент совпадения отрицательных) (95 % ДИ)		96,8 % (95 % ДИ: 94,5–98,3)		

21 Аналитические функциональные характеристики

21.1 Аналитическая чувствительность (порог обнаружения)

Исследование порога обнаружения (LoD) было проведено для оценки аналитической чувствительности теста Хpert Norovirus с положительными клиническими образцами стула, содержащими норовирус GI.3 или норовирус GII.4, разведенными в объединенный отрицательный материал стула. Порог обнаружения определен как самая низкая концентрация (копий/мл) на образец, которую можно воспроизводимо отличить от отрицательных образцов с достоверностью 95 %. Повторы по крайней мере 23 образцов были оценены при семи концентрациях для норовируса GI.3 и норовируса GII.4, а пороги обнаружения были оценены с помощью пробит-анализа. Оценочные значения порога обнаружения были подтверждены путем анализа не менее 20 повторов образцов с вирусом, разбавленным до расчетных концентраций порога обнаружения.

Оценочные значения LoD и подтвержденные LoD для каждой протестированной геногруппы представлены в Таблица 7.

Таблица 7. Порог обнаружения теста Хpert Norovirus

Геногруппа/штамм норовируса	Порог обнаружения (95 % ДИ)
GI.3	$5,7 \times 10^5$ (копий/мл) ($4,64 \times 10^5$ – $6,67 \times 10^5$)
GI.4	$3,0 \times 10^5$ (копий/мл) ($1,25 \times 10^5$ – $1,78 \times 10^5$)

21.2 Аналитическая специфичность (перекрестная реактивность)

Аналитическая специфичность теста Хpert Norovirus была оценена путем тестирования панели 68 микроорганизмов, состоящих из 54 бактерий, 1 грибка, 9 вирусов и 4 паразитов, представляющих общие возбудители гастроэнтерита или те, которые потенциально встречаются в стуле. Минимум три повтора каждого штамма бактерий и грибов были протестированы при концентрациях $\geq 10^6$ КОЕ/мл. Минимум три повтора всех образцов вирусов были проанализированы при концентрациях $\geq 10^5$ ЦПД50 /мл, за исключением двух вирусов, полученных из клинических образцов с неизвестными концентрациями. Минимум три повтора образцов всех паразитов были проанализированы при концентрациях $\geq 10^6$ копий/мл. Для всех протестированных микроорганизмов с тестом Хpert Norovirus был получен правильный результат **NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED); NORO GII НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GII NOT DETECTED)**. Аналитическая специфичность составила 100 %. Результаты показаны в Таблица 8.

Таблица 8. Аналитическая специфичность теста Хpert Norovirus

Микроорганизм	Идентификатор штамма	Концентрация
---------------	----------------------	--------------

Микроорганизм	Идентификатор штамма	Концентрация
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	>3,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	6,7 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Bacteriocides fragilis</i> ^a	ATCC 25285	1,4 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43478	1,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	1,3 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	3,4 x 10 ⁷ КОЕ/мл
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	1,5 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium difficile</i> ^a	ATCC 9689	2,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Clostridium sordelli</i> ^a	DSMZ 2141	2,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Eggerthella lenta</i>	ATCC 43055	>3,0 x 10 ⁷ КОЕ/мл
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 70021	1,0 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	1,0 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	5,4 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	8,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	4,5 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichiacoli O157:H7</i>	ATCC 43888	8,4 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli O26:H11</i>	CDC 033014	7,4 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli O45:H2</i>	CDC 003039	3,3 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli O103:H11</i>	CDC 063008	5,4 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli O11</i>	CDC 201114	6,9 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli O121</i>	CDC 023211	1,4 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli O145</i>	CDC 993311	7,1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	1,5 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ^a	ATCC 31647	9,6 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	1,5 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	4,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	1,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1,3 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	CCUG 7835	1,5 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	3,1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Prevotella oralis</i> ^a	ATCC 33269	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 x 10 ⁹ КОЕ/мл

Микроорганизм	Идентификатор штамма	Концентрация
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	>3,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	>3,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	>3,0 x 10 ⁷ КОЕ/мл
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATCC 12386	9,6 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	7,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,5 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	5,2 x 10 ⁹ копий/ м Н
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	3,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	7,1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
Аденовирус	тип 31	3,6 x 10 ⁵ ЦПД /мл
Аденовирус	Тип 40	2,8 x 10 ⁷ ЦПД /мл
Аденовирус	Тип 41	4,6 x 10 ⁷ ЦПД /мл
<i>Astrovirus</i> ^c	--	Не применимо ^d
<i>Coxsackievirus</i>	Тип В5	1,4 x 10 ⁵ ЦПД /мл
Эховирус	11	3,3 x 10 ⁹ ЦПД /мл
<i>Parvovirus</i>	тип 6	1,9 x 10 ⁷ ЦПД /мл
<i>Rotavirus</i>	Штамм Wa	1,0 x 10 ⁶ ЦПД /мл
<i>Sapovirus</i> ^c	--	Не применимо ^e
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	>3,0 x 10 ⁷ КОЕ/мл
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	ВТ1	1,0 x 10 ⁹ копий/мл
<i>Cryptosporidium parvum</i> ^b	Айова	6,1 x 10 ⁹ копий/мл
<i>Giardia lamblia</i> ^b	Портленд-1	3,05 x 10 ⁹ копий/мл
<i>Entamoeba histolytica</i> ^b	ATCC 30459D	4,9 x 10 ⁶ копий/мл

^a Облигатные анаэробные бактерии.

^b Анализ выполнен как для геномной ДНК.

- с Клинический образец.
- д Концентрация не известна для клинических образцов астровируса, полученных из KUL; значения Ct по результатам теста KUL находились в диапазоне 12–27.
- е Концентрация не известна для клинических образцов саповируса, полученных из KUL; значения Ct по результатам теста KUL находились в диапазоне 19–23.

21.3 Аналитическая реактивность (инклюзивность)

Аналитическая реактивность теста Xpert Norovirus оценивалась в отношении тридцати одного генотипа, представляющего обе геногруппы норовируса (GI и GII). Тридцать один штамм норовируса, оцениваемый в этом исследовании, был протестирован с концентрацией, близкой к порогу обнаружения (LoD) теста. (Таблица 9). Для каждого штамма были проанализированы три повтора.

Таблица 9. Результаты аналитической реактивности теста Xpert Norovirus

Штамм норовируса	Расчетная концентрация (копий/мл) ^а	Результат	
		GI	GIІ
GI.1	9,0 x 10 ⁶	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.2	3,7 x 10 ⁸	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.3	1,4 x 10 ⁶	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.4	1,0 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.5 ^б	2,5 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.6 ^б	2,5 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.7 ^б	2,5 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.8	3,7 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.14	3,0 x 10 ⁶	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GIІ.1	3,6 x 10 ⁶	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.2	1,1 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.3 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.4 (2006a)	1,2 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.4 (2006b)	2,4 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.4 (2008)	4,3 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.4 (штамм «Новый Орлеан-2009»)	1,7 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.4 (2010)	9,6 x 10 ⁴	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.4 (штамм «Сидней-2012»)	1,2 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.5 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.6 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.7	8,0 x 10 ⁴	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.8 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GIІ.9 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.

Штамм норовируса	Расчетная концентрация (копий/мл) ^a	Результат	
		GI	GII
GII.10 ^b	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.11	2,6 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.12	5,7 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.13	6,9 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.14	1,5 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.15	1,7 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.16 ^b	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.17 ^b	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.

^a Расчетная концентрация (или титр) была определена на основе значения Ct (из-за сложности культивирования частиц норовируса точная концентрация не может быть определена). Значение Ct для каждого клинического образца в исследовании инклюзивности было экстраполировано на титр, полученный из исследования порога обнаружения для хорошо охарактеризованных образцов GI и GII, с использованием стандартной кривой цикла клеточного деления.

^b Для этих штаммов использовались открытые РНК-транскрипты; клинические образцы на момент тестирования отсутствовали.

21.4 Изучение субстанций, препятствующих проведению анализа

Вещества, потенциально способные препятствовать проведению анализа, которые могут присутствовать в стуле, оценивались непосредственно относительно эффективности теста Хpert Norovirus. К потенциально препятствующим проведению анализа веществам относятся гемоглобин, муцин, холестерин, триглицериды и цельная кровь, а также дополнительные эндогенные и экзогенные вещества, перечисленные в Таблица 10.

Для каждого вещества тестировали 8 отрицательных образцов отрицательного материала стула с целью определения влияния на функциональные характеристики контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC). Положительные образцы тестировали на повторях по 8 на каждое вещество с одним клиническим изолятом норовируса GI и одним клиническим изолятом норовируса GII с концентрацией, близкой к порогу обнаружения.

Все результаты сравнивали с положительным и отрицательным контролями, приготовленными на отрицательном материале стула. Анализ всех действительных образцов положительных и отрицательных контролей с применением теста Хpert Norovirus дали правильные результаты.

Ингибирующее влияние на тест Хpert Norovirus наблюдалось в присутствии бензалкония хлорида (1 % вес/объем, 0,2 % вес/объем и 0,04 % вес/объем). Были получены ложноотрицательные результаты теста для целевой последовательности норовируса GII в присутствии бензалкония хлорида (1 % вес/объем). В присутствии сульфата бария (5 % вес/объем) наблюдался статистически значимый ингибирующий эффект на Ct норовируса GII в положительных образцах по сравнению с контрольным образцом (значение $p < 0,05$). В присутствии сульфата бария (1 % вес/объем) не наблюдалось статистически значимого влияния на Ct норовируса GII по сравнению с контрольным образцом.

Не было обнаружено, что другие потенциально влияющие вещества обладают ингибирующим действием, и не сообщалось о ложноотрицательных результатах для этих веществ.

Таблица 10. Вещества в Хpert Norovirus, вероятно препятствующие проведению анализа

Эндогенные вещества		
Субстанция	Описание/активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Холестерин	Фекальный жир/холестерин	5 % вес/объем
Гемоглобин	Гемоглобин человека	12,5 % вес/объем
Муцин	Очищенный белок муцин	5 % вес/объем

Эндогенные вещества		
Стеариновая кислота/ пальмитиновая кислота (1:1)	Жирные кислоты/ стеариновая кислота, пальмитиновая кислота	5 % весового соотношения
Триглицерид	Смесь фекального жира/триглицеридов	5 % вес/объем
Цельная кровь	Цельная кровь человека	10 % объемного соотношения
Экзогенные вещества		
Субстанция	Описание/активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Ацетаминофен	Ацетаминофен	5 % вес/объем
Амоксициллин	Антибиотик/амоксициллин	5 % вес/объем
Ампициллин	Натриевая соль ампициллина	152 мкмоль/л
Аспартам	Аспартам	5 % вес/объем
Бария сульфат	Контрастная среда/ сульфат бария	5 % весового соотношения, 1 % весового соотношения
Бензалкония хлорид Технический спирт	Антисептические салфетки/ бензалкония хлорид в этаноле	1 %, 0,2 %, 0,04 % вес/объем
Висмута субсалицилат	Субсалицилат висмута (III) (активный ингредиент пептобисмола)	1 % вес/объем
CaCO ₃	Карбонат кальция	5 % вес/объем
Гидрокортизон	Гидрокортизон	50 % вес/объем
Ибупрофен	Ибупрофен	5 % вес/объем
Имодиум	Лоперамида гидрохлорид	5 % объемного соотношения
Каопектат	Аттапульгит	5 мг/мл
Метронидазол	Метронидазол	5 % вес/объем
Микостатин	Нистатин	50 % весового соотношения
Напросин	Напроксен натрия	2,2 мкмоль/мл
Новалугид	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ и MgCO ₃	5 % вес/объем
Бацитрацин цинк- полимиксин В сульфат	Полиспорин/сульфат полимиксина В и бацитрацин цинк	50 % вес/объем
Пурсеннид	Сеннагликозиды	5 % вес/объем
Рексал, минеральное масло слабительное	Минеральное масло	50 % объемного соотношения

21.5 Исследование контаминации продуктами предыдущей реакции

Исследование проводилось с целью показать, что применение одноразовых автономных картриджей GeneXpert позволяет предотвратить контаминацию отрицательных образцов продуктами предыдущей реакции при их обработке в том же модуле GeneXpert после анализа высокоположительных образцов. Суть данного исследования состояла в том, что после анализа высокоположительной пробы Norovirus GI в том же модуле GeneXpert обрабатывались отрицательные пробы. Эту схему анализа повторяли 21 раз на двух модулях GeneXpert, проведя, в общей сложности, 42 цикла (20 положительных и 22 отрицательных образца). Во всех 19 положительных

образцах получен правильный результат **NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII ОБНАРУЖЕН (NORO GII DETECTED)**; для одного положительного образца получен результат **ОШИБКА (ERROR)**. Во всех 22 отрицательных образцах получен правильный результат **NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GII NOT DETECTED)**.

22 Воспроизводимость

Панель из 7 образцов с различными концентрациями норовируса GI и норовируса GII была протестирована два раза на протяжении пяти дней двумя разными операторами в каждом из трех исследовательских центров (7 образцов x 2 раза в день x 5 дней x 2 оператора x 3 центра). В каждом из 3 исследовательских центров использовалась одна партия картриджей Хpert Norovirus. Тест Хpert Norovirus проводился в соответствии с процедурой Хpert Norovirus. Результаты обобщены в Таблица 11.

Таблица 11. Обзор результатов по воспроизводимости

ID образца	Центр 1	Центр 2	Центр 3	Всего
Отриц.	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
GI - высокоот-рицат.	30,0 % (6/20)	15,0 % (3/20)	30,0 % (6/20)	25,0 % (15/60)
GI - низкоп-олож.	100 % (20/20)	85,0 % (17/20)	95,0 % (19/20)	93,3 % (56/60)
GI - умерен-нополож.	100 % (19/19)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (59/59) ^a
GII - высокоот-рицат.	25,0 % (5/20)	30,0 % (6/20)	35,0 % (7/20)	30,0 % (18/60)
GII - низкоп-лож.	100 % (20/20)	95,0 % (19/20)	90,0 % (18/20)	95,0 % (57/60)
GII - умерен-нополож.	95,0 % (19/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	98,3 % (59/60)

^a Один образец дважды дал неопределенный результат

Воспроизводимость теста Хpert Norovirus также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в Ct, для каждой обнаруживаемой целевой последовательности. Средние значения, стандартное отклонение (СО) и коэффициент вариации (КВ) между центрами, днями и операторами для каждого компонента панели представлены в Таблица 12.

Таблица 12. Сводные данные по воспроизводимости

Образец	Канал теста (анализируемое вещество)	№ ^a	Среднее Ct	Между центрами		Между днями		Между операторами		В пределах теста		Всего	
				СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
Отриц.	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 - высокоотрицат.	GI	60	39,4	0	0	0,46	1,2	0	0	1,80	4,6	1,86	4,7
GI - низкополож.	GI	59	37,9	0,29	0,8	0	0	0,36	1,0	1,03	2,7	1,13	3,0
GI - умеренноположит. ^b	GI	57	34,7	0,09	0,2	0,07	0,2	0	0	0,41	1,2	1,01	1,2
GII - высокоотрицат.	GII	54	38,9	0	0	0	0	0,77	2,0	1,77	4,5	1,93	5,0
GII - низкополож.	GII	60	37,3	0	0	0	0	0,58	1,6	1,33	3,6	1,45	3,9
GII - умереннополож. ^b	GII	59	34,3	0,22	0,6	0	0	0	0	0,45	1,3	0,50	1,5

^a Результаты с ненулевым значением Ct из 60 результатов

^b n=3 образцы с отклоняющимся значением (2 образца умеренноположит. GI и 1 образец умеренноположит. GII), в которых отклонения от среднего значения превышали 5, считались выпадающими и исключались из анализа.

23 Прецизионность системы

Внутреннее исследование компании по оценке прецизионности проводилось для сравнения функциональных характеристик систем GeneXpert Dx и GeneXpert Infinity. Панель из 7 образцов с различными концентрациями норовируса GI и норовируса GII была протестирована двумя операторами на протяжении 12 дней. Каждый оператор выполнял по четыре серии каждой панели образцов в день на каждой из двух систем приборов (7 образцов x 4 раза в день x 12 дней x 2 оператора x 2 системы приборов). В исследовании использовали три партии картриджей Xpert Norovirus. Тест Xpert Norovirus проводился в соответствии с процедурой Xpert Norovirus. Результаты обобщены в Таблица 13.

Таблица 13. Сводка результатов прецизионности системы приборов (Dx по сравнению с Infinity)

Образец	GeneXpert Dx			Infinity			Общий % совпадений на пробу
	Операт. 1	Операт. 2	Прибор	Операт. 1	Операт. 2	Прибор	
Отриц.	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
GI - высокоотрицат.	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 - низкополож.	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 - умереннополож.	100 % ^a (47/47)	100 % (48/48)	100 % (95/95)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (191/191)

Образец	GeneXpert Dx			Infinity			Общий % совпадений на пробу
	Операт. 1	Операт. 2	Прибор	Операт. 1	Операт. 2	Прибор	
GII - высокоотрицат.	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 - низкополож.	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 - умереннополож.	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % ^b (47/47)	100 % (95/95)	100 % (191/191)

^a Один умеренноположительный образец GI не подвергался анализу.

^b Один умеренноположительный образец GII был имел результат «неопределенный» и не подвергался повторному анализу.

Прецизионность теста Хpert Norovirus также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в Ct, для каждой обнаруживаемой целевой последовательности. Средние значения, а также стандартное отклонение (СО) и коэффициент вариации (КВ) между приборами, партиями, днями и операторами, и в пределах тестов для каждого компонента панели представлены в Таблица 14.

Таблица 14. Сводные данные по прецизионности

Образец	Канал теста (анализируемое вещество)	№ ^a	Среднее Ct	Между приборами		Между партиями		Между днями		Между операторами		В пределах теста		Всего	
				СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
Отриц.	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 - высокоотрицат.	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 - низкополож.	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 - умереннополож.	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 - высокоотрицат.	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 - низкополож.	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 - умереннополож.	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 Результаты с ненулевым значением Ct из 192 результатов.

24 Литература

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 (см. последнюю редакцию по ссылке <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
18. Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute) [ранее — Национальный комитет по клиническим и лабораторным стандартам (National Committee for Clinical Laboratory Standards)]. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Документ M29 (см. последнюю редакцию, доступную по ссылке <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
19. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 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 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

26 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер анализатора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

США





Телефон: : + 1 888 838 3222
Электронный адрес: techsupport@cepheid.com

Франция

Телефон: : + 33 563 825 319
Электронный адрес: support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

27 Условные обозначения

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	См. инструкцию по применению
	Предупреждение
	Производитель
	Страна производства
	Содержит достаточное количество для <i>n</i> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Маркировка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Биологические риски
	Предупреждение
	Уполномоченный представитель в Швейцарии
	Импортер



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Швеция



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



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



28 История изменений

Раздел	Описание изменения
Таблица условных обозначений	В таблицу условных обозначений добавлены символы «CH REP» (Представитель в Швейцарии) и «Импортер», а также их определения. Добавлен символ «CH REP» (Представитель в Швейцарии) с адресом в Швейцарии.
История редакций документа	Обновлена таблица истории изменений.