

Xpert[®] Norovirus

REF GXNOV-CE-10

Navodila za uporabo

IVD CE

Blagovna znamka, patenti in izjave o avtorskih pravicah

Cepheid[®], logotip Cepheid, GeneXpert[®] in Xpert[®] so blagovne znamke družbe Cepheid, registrirane v ZDA in drugih državah.

Vse druge blagovne znamke so v lasti njihovih lastnikov.

NAKUP TEGA IZDELKA NA KUPCA PRENESE NEPRENOSLJIVO PRAVICO DO NJEGOVE UPORABE V SKLADU S TEMI NAVODILI ZA UPORABO. NA KUPCA SE NE PRENESE IZRECNO, IMPLICITNO ALI S PREKLUZIJO NOBENIH DRUGIH PRAVIC. POLEG TEGA SE Z NAKUPOM TEGA IZDELKA NE PRIDOBİ PRAVIC ZA PREPRODAJO.

© 2014-2023 Cepheid.

Za podrobni opis sprememb glejte razdelek 24, Zgodovina revizij.

Xpert[®] Norovirus

Samo za *in vitro* diagnostično uporabo.

1 Proprietary Name

Xpert[®] Norovirus

2 Splošno ali običajno ime

Xpert Norovirus

3 Namen uporabe

Test Cepheid Xpert[®] Norovirus, ki se izvaja na sistemih instrumenta GeneXpert[®], je kvalitativen *in vitro* diagnostični test za zaznavanje in diferenciacijo RNA genskih skupin norovirusa GI in GII iz neobdelanih ali nekonzerviranih vzorcev neformiranega blata, odvzetih pri osebah s simptomi akutnega gastroenteritisa. Za zaznavanje RNA norovirusa test uporablja avtomatizirano obratno transkripcijo in verižno reakcijo s polimerazo (RT-PCR) v realnem času. Test Xpert Norovirus je namenjen kot pomoč pri diagnostiki okužbe z norovirusom, če se uporablja v povezavi s klinično oceno, z laboratorijskimi izsledki in epidemiološkimi podatki. Test pomaga tudi pri zaznavanju in identifikaciji okužb z norovirusom v kontekstu izbruhov.

4 Povzetek in razlaga

Norovirusi so enovijačni RNA virusi brez ovojnice iz rodu *Norovirusov*, družine *Kalcivirusov*, ki povzročajo akutni gastroenteritis pri ljudeh in drugih sesalcih. Prototip norovirusa je bil prvič prepoznan kot povzročitelj izbruha gastroenteritisa v Norwalku, Ohio, leta 1968.¹ Ocenjujejo, da lahko norovirus povzroči v ZDA več kot 23 milijonov primerov gastroenteritisa vsako leto, kar predstavlja približno 60 % vseh primerov akutnega gastroenteritisa.² Noroviruse lahko razvrstimo v pet različnih genskih skupin, od katerih genska skupina I (GI) in genska skupina II (GII) povzročata glavnino vseh okužb pri ljudeh.

Norovirusi so v svetovnem merilu glavni povzročitelj gastroenteritisa. Prizadenejo vse starostne skupine in so pogosto vpleteni v izbruhih v javnih ustanovah, kot so domovi za starejše, bolnišnice, vrtci, zapori in ladje križarke.³⁻⁶ Simptomi okužbe z norovirusom so običajno driska, bruhanje, želodčni krči, slabost in vročina. Bolezen je običajno samoomejujoča in znaki in simptomi lahko trajajo več dni. Pri mladih, starejših in imunsko oslabeledih je lahko bolezen zaradi dehidracije življenjsko nevarna. Splošna imena, povezana z norovirusnim gastroenteritisom, zimska bolezen bruhanja, želodčna gripa, akutni nebakterijski gastroenteritis in virusni gastroenteritis. Norovirus lahko gojimo le v zelo specializiranih sistemih celičnih kultur.⁷ Z elektronskim mikroskopom lahko neposredno vizualiziramo norovirus v fekalnih vzorcih, vendar ima slabo občutljivost.⁸

V okoliščinah izbruha norovirusa so se izkazali uporabni komercialno dostopni encimski imunski testi (EIA). Vendar so zaradi nizke občutljivosti testa komercialno dostopni EIA uporabni le takrat, ko je prevalenca okužb z norovirusom visoka. Poleg tega trenutne smernice CDC priporočajo, da se vsi negativni rezultati EIA potrdijo z molekularnimi metodami.⁸ Znano je, da imajo trenutno dostopni EIA nizko občutljivost (36–80 %) v primerjavi z metodami RT-PCR in nizko do dobro specifičnost (47–100 %), odvisno od testnega okolja.⁹⁻¹⁵ V Evropi in na Japonskem, kjer obstajajo komercialno dostopni molekularni testi, so za teste potrebni visoko usposobljeni molekularni tehnologi in zasnova testov zahteva njihovo izvajanje v serijah, kar povzroča zamude pri poročanju. V skladu z veljavnimi smernicami CDC je priporočljivo, da izvajalci zdravstvenih storitev razmislijo o razvoju in sprejetju usmeritev zdravstvenih ustanov, ki bi omogočili klinično in virološko potrditev domnevnih primerov simptomatske okužbe z norovirusom, medtem ko izvajajo takojšnje nadzorne ukrepe za zmanjšanje obsega potencialnega izbruha norovirusa.¹⁶ Test Xpert Norovirus predstavlja hiter in natančen molekularni test na zahtevo, ki olajša potrditev in sproži takojšnje ukrepe za nadzor norovirusa, ne glede na stopnjo prevalence.

5 Načelo postopka

Test je avtomatiziran in uporablja obratno transkripcijo in verižno reakcijo s polimerazo (RT-PCR) za zaznavanje virusnih genskih zaporedij, povezanih z norovirusom genske skupine I in genske skupine II. Vzorci blata so odvzeti posameznikom s simptomi akutnega gastroenteritisa in v čisti posodi preneseni v laboratorij. V vzorec blata se vstavi bris, ki je nato prenesen v epruveto z reagentom za vzorec. Po kratkem mešanju z vibracijskim mešalnikom se eluiran vzorec prenese v komoro za vzorec vložka za enkratno uporabo s tekočino (vložek GeneXpert). Vložek GeneXpert se naloži na platformo sistema instrumenta GeneXpert, ki izvede popolnoma avtomatizirano obdelavo vzorca in RT-PCR v realnem času za zaznavanje in diferenciacijo norovirusa genske skupine I in genske skupine II.

Sistemi instrumentov GeneXpert avtomatizirajo in integrirajo pripravo vzorca, ekstrakcijo in amplifikacijo nukleinske kisline in zaznavanje tarčnega zaporedja v enostavnih ali kompleksnih vzorcih s pomočjo obratne transkripcije in PCR (RT-PCR) ter PCR v realnem času. Sistem sestavljajo instrument, osebni računalnik in vnaprej naložena programska oprema za izvajanje testov in ogledovanje rezultatov. Sistem uporablja vložke GeneXpert za enkratno uporabo, ki držijo reagente za reakcijo RT-PCR in reagente za PCR in v katerih potekajo postopki RT-PCR in PCR. Ker so vložki avtonomni, je navzkrižno onesnaženje med vzorci minimizirano. Za celoten opis sistemov glejte ustrezen *priručnik za uporabo sistema GeneXpert Dx* ali *GeneXpert Infinity*.

Test Xpert Norovirus vključuje reagente za zaznavanje zaporedij nukleinskih kislin za norovirus genske skupine I in genske skupine II v neobdelanih ali nekonzerviranih vzorcih neformiranega blata, odvzetih posameznikom s simptomi akutnega gastroenteritisa. V vložku sta vključeni tudi kontrola obdelave vzorca (SPC) in kontrola za preverjanje sonde (PCC). SPC je prisotna za nadzor ustrezne obdelave tarčnih virusov in za spremljanje prisotnosti inhibitorjev v reakciji PCR. PCC je namenjena preverjanju rehidracije suhega reagenta, polnjenju epruvete PCR v vložku, celovitosti sonde in stabilnosti barve.

6 Reagenti in instrumenti

6.1 Materiali na voljo

Komplet testa Xpert Norovirus (katalogska št. GXNOV-CE-10) vsebuje dovolj reagentov za obdelavo 10 vzorcev ali vzorcev kontrol kakovosti. Komplet vsebuje naslednje:

Vložke Xpert Norovirus z vgrajenimi reakcijskimi epruvetami	10
<ul style="list-style-type: none"> • Zrno 1, zrno 2, in zrno 3 (liofilizirano) • Elucijski reagent • Reagent za izpiranje • Reagent za vezavo (gvanidin tiocianat) 	1 vsakega na vložek 1,5 ml na vložek 1,0 ml na vložek 2,7 ml na vložek
Reagent za vzorec (gvanidin tiocianat)	10 × 2,0 ml na stekleničko
CD	1 na komplet
<ul style="list-style-type: none"> • Datoteka z opredelitvijo testa (Assay Definition File - ADF) • Navodila za uvoz ADF v programsko opremo • Navodila za uporabo (priložena pakiranju) 	

Opomba

Varnostni listi (SDS), ki so na voljo na spletnem naslovu www.cephheid.com ali www.cephheidinternational.com v zavihku **PODPORA (SUPPORT)**.

Opomba

Goveji serumski albumin (BSA) v zrcih v tem izdelku je bil izdelan in proizveden izključno iz goveje plazme, pridobljene v Združenih državah. Živali niso bile hranjene z beljakovinami prežvekovalcev ali drugih živali. Živali so bile testirane pred zakolom in po njem. Med obdelovanjem se material ni mešal z drugimi živalskimi materiali.

7 Shranjevanje in uporaba

- Vložke testa Xpert Norovirus in reagente hranite pri 2–8 °C.
- Ne uporabljajte reagentov oziroma vložkov, ki jim je potekel rok uporabnosti.
- Pokrovčka vložka ne odpirajte, dokler niste pripravljene na izvajanje testa.
- Vložek uporabite v 30 minutah po odprtju pokrova vložka.

8 Materiali, ki so potrebni, a niso dostavljeni

- Sistem GeneXpert Dx ali sistem GeneXpert Infinity (kataloška številka je odvisna od konfiguracije): Instrument GeneXpert, računalnik z lastniško programsko opremo GeneXpert, različico 4.3 ali novejšo, ročni bralnik črtnih kod in uporabniški priročnik.
- Tiskalnik: Za nakup priporočenega tiskalnika se obrnite na prodajnega predstavnika družbe Cepheid.
- Vibracijski mešalnik
- Pipete za prenos za enkratno uporabo
- Suh bris za enkratno uporabo s konico iz rajona (SDPS-120) ali enakovreden bris iz rajona za prenos vzorca blata iz posode za vzorec v stekleničko z reagentom za vzorec
- Čista posoda za vzorec brez konzervansa

9 Materiali, ki so na voljo, a niso priloženi

- ZeptoMetrix NATtrol™ Rotavirus Stock (kataloška št. NATROTA-6MC) kot zunanja negativna kontrola.
- ZeptoMetrix NATtrol™ Norovirus GI Stock in NATtrol™ Norovirus GII Stock (kataloška št. NATNOVI-6MC in NATNOVII-6MC) kot zunanji pozitivni kontroli.

10 Opozorila in previdnostni ukrepi

10.1 Splošno

- Samo za *in vitro* diagnostično uporabo.
- Z vsemi biološkimi vzorci, kar vključuje uporabljene vložke in reagente, ravnajte, kot če bi lahko prenašali kužne agense. Ker pogosto ni mogoče vedeti, kateri so lahko kužni, je treba vse biološke vzorce obravnavati z uporabo standardnih previdnostnih ukrepov. Smernice za ravnanje z vzorci so na voljo pri Centru za nadzor in preprečevanje bolezni¹⁹ v ZDA in na Inštitutu za klinične in laboratorijske standarde.²⁰
- Biološke vzorce, pripomočke za prenašanje in uporabljene vložke je treba obravnavati kot sposobne prenašanja kužnih agensov, ki zahtevajo standardne previdnostne ukrepe. Za pravilno odstranitev uporabljenih vložkov in neuporabljenih reagentov upoštevajte postopke svoje ustanove za ravnanje z okoljskimi odpadki. Ti materiali imajo lahko lastnosti kemičnih nevarnih odpadkov, ki jih je treba odlagati po posebnih nacionalnih ali regionalnih postopkih. Če nacionalni ali regionalni predpisi ne vključujejo jasnih navodil za pravilno odstranjevanje, je treba biološke vzorce in uporabljene vložke odstraniti skladno s smernicami SZO (Svetovna zdravstvena organizacija) za ravnanje z medicinskimi odpadki in njihovo odstranjevanje. Za pravilno odstranitev uporabljenih vložkov in neuporabljenih reagentov se posvetujte z osebjem svoje ustanove za ravnanje z okoljskimi odpadki.

10.2 Vzorec


- Med transportom vzorca vzdržujte pogoje shranjevanja, da se ohrani celovitost vzorca (glejte Razdelek 12. Odvzem vzorca, transport in shranjevanje). Stabilnost vzorca pri pogojih pri pošiljanju, drugačnih od priporočenih, ni bila ocenjena.
- Ustrezen odvzem, shranjevanje in transport vzorca so bistveni za pravilne rezultate.

10.3 Test/reagent

- Reagentov testa Xpert Norovirus ne nadomestite z drugimi reagenti.
- Pokrovčka vložka testa Xpert Norovirus ne odpirajte, dokler niste pripravljene na dodajanje vzorca.

- Ne uporabite vložka, ki je padel iz rok po odstranjevanju iz kompleta ali ki je bil pretresen po odprtju pokrovčka. Če vložek stresate oziroma vam ta pade po odprtju pokrovčka, lahko pride do napačnih ali nedoločenih rezultatov.
- Oznake ID vzorca ne namestite na pokrovček vložka ali na črtno kodo.
- Ne uporabite vložka, če je videti moker ali če tesnilo pokrovčka deluje nepopolno.
- Reagent za vzorec je bistra brezbarvna tekočina. Če je reagent za vzorec moten ali je spremenil barvo, ga ne uporabite.
- Ne uporabljajte vložka, ki ima poškodovano reakcijsko epruveto.
- Vsak vložek za enkratno uporabo testa Xpert Norovirus se uporabi za obdelavo enega vzorca. Uporabljenih vložkov ne uporabite ponovno.
- Upoštevati je treba dobre laboratorijske prakse in za obdelavo vsakega vzorca bolnika je treba zamenjati rokavice, da se prepreči kontaminacija vzorcev oziroma reagentov. Redno čistite delovno površino/območje z 10-odstotnim belilom, nato ponovno obrišite površino s 70-odstotnim alkoholom ali izopropilnim alkoholom pred in po obdelavi vzorcev Xpert Norovirus.
- Vzorci lahko vsebujejo visoko raven organizmov. Zagotovite, da se posode za vzorce ne dotikajo med seboj. Zamenjajte rokavice, če pridejo v neposreden stik z vzorcem in po obdelavi vsakega vzorca, da preprečite kontaminacijo drugih vzorcev.

11 Kemične nevarnosti^{19,20}

- Piktogram za nevarnost UN GHS 
- Opozorilne besede: POZOR
- **Stavki o nevarnostih UN GHS:**
 - Zdravju škodljivo pri zaužitju.
 - Povzroča rahlo draženje kože.
 - Povzroča draženje oči.
- Previdnostni stavki UN GHS:
 - **Preprečevanje**
 - Po uporabi temeljito umiti.
 - **Odziv**
 - Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika.
 - Če nastopi draženje kože: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
 - PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.
 - Če draženje oči ne preneha: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
 - **Shranjevanje/odstranjevanje**
 - Vsebinsko in/ali vsebnik odstranite v skladu z lokalnimi, regionalnimi, nacionalnimi in/ali mednarodnimi predpisi.

12 Odvzem vzorca, transport in shranjevanje

1. Odvzemite neobdelan ali nekonzerviran vzorec neformiranega blata v čisto posodo brez konzervansa. Upoštevajte smernice vaše ustanove za odvzem vzorcev za testiranje norovirusa.
2. Označite posodo z vzorcem blata z bolnikovim imenom in ID vzorca in ga pošljite v laboratorij.
3. Vzorec hranite pri 2–8 °C. Hranjen pri 2–8 °C je vzorec stabilen do dva dni.

13 Postopek

13.1 Priprava vložka

Opomba Test začnite v 30 minutah od dodajanja reagenta za vzorec v vložek.

Dodajanje vzorca v vložek testa:

1. Vzemite vložek in stekleničko z reagentom za vzorec iz kompleta.

2. Pomočite bris v neobdelan ali nekonzerviran vzorec neformiranega blata. Glejte Slika 1 za pravilno količino uporabljenega vzorca za test Xpert Norovirus.

Opomba Da čim bolj zmanjšate nevarnost kontaminacije ovijte paličico brisa in ustje stekleničke s sterilno gazo. Ne prekrijte celotne konice brisa iz vlakna z blatom. Glejte Slika 1. Preveč blata lahko privede do napak ali neveljavnih rezultatov.



Slika 1. Odvzem vzorca na brisu

3. Po tem, ko ste odstranili pokrovček s stekleničke reagenta za vzorec, vstavite bris z vzorcem blata v stekleničko, ki vsebuje reagent za vzorec.
4. Držite bris za palčko blizu roba stekleničke. Dvignite bris nekaj milimetrov od dna stekleničke in ukrivite palčko prek roba stekleničke, da jo odlomite. Odlomljeni bris naj bo dovolj kratek, da bo ves v steklenički in da se lahko pokrovček trdno zapre.
5. Zaprite pokrovček stekleničke reagenta za vzorec in mešajte deset sekund z vibracijskim mešalnikom pri visoki hitrosti.
6. Odprite pokrovček vložka. S čisto pipeto za prenos (ni priložena) prenesite celotno vsebino stekleničke reagenta za vzorec v komoro za vzorec vložka testa Xpert Norovirus. Glejte Slika 2.
7. Zaprite pokrovček vložka in v roku 30 minut zaženite test..



**Vzorčna komora
(velik otvor)**

Slika 2. Vložek Xpert Norovirus (pogled od zgoraj)

13.2 Začetek testa

Opomba Pred začetkom testa preverite, da je datoteka za opredelitev testa Xpert Norovirus uvožena v programsko opremo. V tem poglavju so osnovni koraki za izvajanje testa. Za podrobna navodila glejte *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Dx* ali *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Infinity*, odvisno od modela, ki ga uporabljate.

Opomba Koraki, ki sledijo, so lahko drugačni, če je skrbnik sistema spremenil privzeti potek dela sistema.

1. Vklon instrumenta GeneXpert:
 - a) Če uporabljate instrument GeneXpert Dx, najprej vklopite instrument, nato pa vklopite še računalnik. Samodejno se bo zagnala programska oprema GeneXpert, morda pa bo zahtevan dvoklik na ikono bližnjice za programsko opremo GeneXpert Dx na namizju Windows®.

ali

- b) Če uporabljate instrument GeneXpert Infinity, vklopite instrument. Samodejno se bo zagnala programska oprema GeneXpert, morda pa bo zahtevan dvoklik na ikono bližnjice za programsko opremo Xpertise na namizju Windows®.
2. Prijavite se v sistem instrumenta GeneXpert programsko opremo s svojim uporabniškim imenom in geslom.
 3. V oknu sistema GeneXpert kliknite **Ustvari test (Create Test)** (GeneXpert Dx) ali **Naročila (Orders) in Naroči test (Order Test)** (GeneXpert Infinity). Odpre se okno Ustvari test (Create Test)
 4. Skenirajte (ali vtipkajte) ID bolnika (Patient ID) (izbirno). Če vtipkate ID bolnika (Patient ID), preverite, da ste jo vtipkali pravilno. ID bolnika je prikazana na levi strani okna za ogledovanje rezultatov (View Results) in je povezana z rezultati testa.
 5. Skenirajte (ali vtipkajte) ID vzorca (Sample ID). Če vtipkate ID vzorca (Sample ID), preverite, ali ste jo vtipkali pravilno. ID vzorca (Sample ID) je prikazana na levi strani okna za ogled rezultatov (View Results) in je povezana z rezultati testa.
 6. Skenirajte črtno kodo vložka Xpert Norovirus za testiranje. Programska oprema z informacijami črtno kodo samodejno izpolni naslednja polja: Izberi test (Select Assay), ID serije reagentov (Reagent Lot ID), Serijska št. vložka (Cartridge SN) in Rok uporabe (Expiration Date).

Opomba

Če se črna koda na vložku testa Xpert Norovirus ni prebrala, ponovite test z novim vložkom in upoštevajte postopek iz poglavja Postopek ponovnega testiranja.

7. Kliknite **Začni test (Start Test)** (GeneXpert Dx) ali **Predloži (Submit)** (GeneXpert Infinity). Vtipkajte svoje geslo v pogovorno okno, ki se pojavi.
8. Na sistemu GeneXpert Infinity namestite vložek na transportni trak. Vložek se samodejno naloži, nato se izvede test, rabljeni vložek pa se prenese v vsebnik za odpadke.

ali

Za instrument GeneXpert Dx:

- a) Odprite vrata modula instrumenta z utripajočo zeleno lučjo in naložite vložek.
- b) Zaprite vrata. Test se začne izvajati, zelena luč pa preneha utripati. Ko je test končan, se luč izklopi.
- c) Preden odprete vrata in odstranite vložek, počakajte, da sistem sprostí zaklepni mehanizem vrat.
- d) Uporabljene vložke je treba odvreči v ustrezne vsebnike za odpadne vzorce skladno s standardnimi praksami vaše ustanove.

14 Pregledovanje in tiskanje rezultatov

V tem razdelku so navedeni osnovni koraki za ogled in tiskanje rezultatov. Za podrobnejša navodila o tem, kako pregledovati in tiskati rezultate, glejte *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Dx* oziroma *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Infinity*.

1. Za ogled rezultatov kliknite ikono **Ogled rezultatov (View Results)**.
2. Ko se test konča, kliknite gumb **Poročilo (Report)** v oknu Ogled rezultatov (View Results) in si oglejte in/ali ustvarite datoteko s poročilom v obliki PDF.

15 Kontrola kakovosti

15.1 Vgrajene kontrole kakovosti

Vsak test vključuje kontrolo obdelave vzorca (SPC) in kontrolo za preverjanje sonde (PCC).

- **Kontrola obdelave vzorca (SPC):** Zagotavlja, da je bil vzorec pravilno obdelan. SPC vsebuje Armored RNA®, ki je vključena v vsakem vložku za preverjanje ustrezne obdelave vzorca. SPC preverja, da je prišlo do sproščanja RNA iz virusa, če je organizem prisoten, in preveri, da je bila obdelava vzorca ustrezna. Poleg tega ta kontrola zazna zaviranje reakcij RT-PCR in PCR, ki je povezano z vzorcem. V negativnem vzorcu mora biti SPC pozitiven, v pozitivnem vzorcu pa je lahko negativen ali pozitiven. SPC je uspešen, če ustreza validiranim merilom sprejemljivosti.
- **Kontrola za preverjanje sonde (PCC):** Pred začetkom reakcije PCR sistem GeneXpert Dx oziroma sistem GeneXpert Infinity izmeri signal fluorescence sond (SPC, QC1 in QC2, enega za vsako od reagenčnih zrn), da tako spremlja

rehidracijo zrn, polnjenje reakcijske epruvete, celovitost sonde in stabilnost barve. Kontrola za preverjanje sonde je uspešna, če izpolnjuje pripisana merila za sprejemljivost.

15.2 Zunanje kontrole

- Zunanje kontrole: V skladu z lokalnimi, državnimi in zveznimi akreditacijskimi organizacijami, kot je ustrezno, se lahko uporabljajo ZeptoMetrix NATrol Rotavirus Stock (katal. št. NATROTA-6MC) kot zunanja negativna kontrola in ZeptoMetrix NATrol Norovirus GI Stock in NATrol Norovirus GII Stock (katal. št. NATNOVI-6MC in NATNOVII-6MC) kot zunanji pozitivni kontrole.

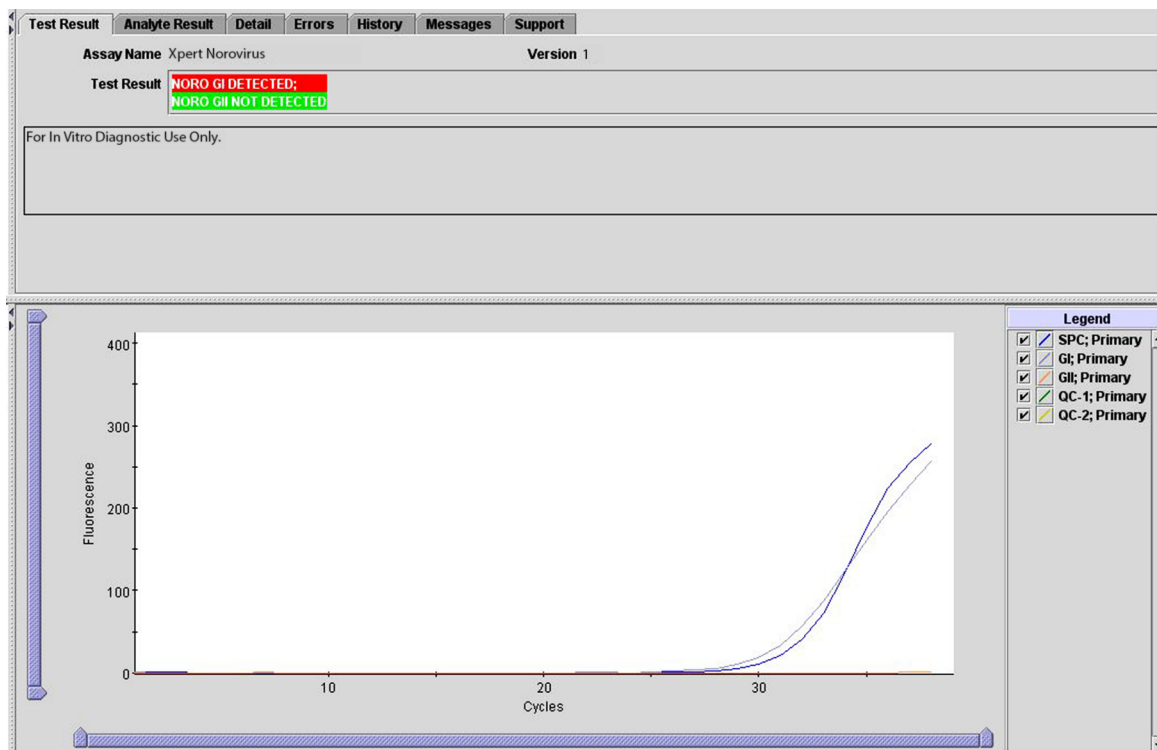
16 Tolmačenje rezultatov

Rezultate tolmači sistem instrumenta GeneXpertiz izmerjenih signalov fluorescence in vgrajenih algoritmov za izračun, prikazani pa so v oknu Oglede rezultatov (View Results). Možni rezultati so prikazani v Preglednica 1.

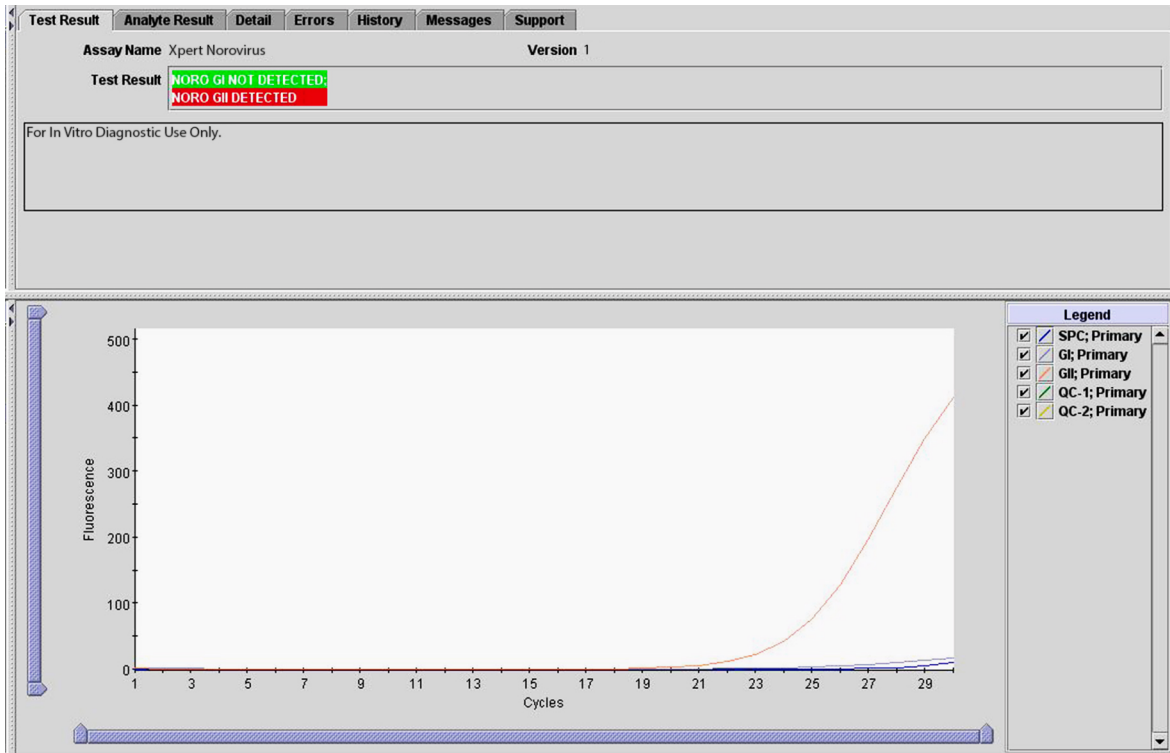
Preglednica 1. Rezultati testa Xpert Norovirus in tolmačenje

Rezultat	Tolmačenje
NORO GI ZAZNAN (NORO GI DETECTED), NORO GII NI ZAZNAN (NORO GII NOT DETECTED) Glejte Slika 3.	Zaznano je zaporedje RNA norovirusa genske skupine I (GI). <ul style="list-style-type: none"> Tarčno zaporedje RNA norovirusa genske skupine I (GI) ima Ct znotraj veljavnega razpona in končno točko nad pražno nastavitvijo. SPC – N/s (ni smiselno) (NA (not applicable)); SPC se prezre, ker lahko amplifikacija tarče norovirusa tekmuje s to kontrolo. PCC – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
NORO GI NI ZAZNAN (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII ZAZNAN (NORO GII DETECTED) Glejte Slika 4.	Zaznano je zaporedje RNA norovirusa genske skupine II (GII). <ul style="list-style-type: none"> Tarčno zaporedje RNA norovirusa genske skupine II (GII) ima Ct znotraj veljavnega razpona in končno točko nad pražno nastavitvijo. SPC – N/s (ni smiselno) (NA (not applicable)); SPC se prezre, ker lahko amplifikacija tarče norovirusa tekmuje s to kontrolo. PCC – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
NORO GI ZAZNAN (NORO GI DETECTED), NORO GII ZAZNAN (NORO GII DETECTED) Glejte Slika 5.	Zaznano je zaporedje RNA norovirusa genske skupine I (GI) in zaznano je zaporedje RNA norovirusa genske skupine II (GII). <ul style="list-style-type: none"> Tarčno zaporedje RNA norovirusa genske skupine I (GI) ima Ct znotraj veljavnega razpona in končno točko nad pražno nastavitvijo. Tarčno zaporedje RNA norovirusa genske skupine II (GII) ima Ct znotraj veljavnega razpona in končno točko nad pražno nastavitvijo. SPC – N/s (ni smiselno) (NA (not applicable)); SPC se prezre, ker lahko amplifikacija tarče norovirusa tekmuje s to kontrolo. PCC – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
NORO GI NI ZAZNAN (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII NI ZAZNAN (NORO GII NOT DETECTED) Glejte Slika 6.	Tarčna zaporedja RNA norovirusa niso zaznana. <ul style="list-style-type: none"> Tarčna zaporedja RNA norovirusa niso zaznana. SPC – USPEŠNO (PASS); SPC ima Ct znotraj veljavnega razpona in končno točko nad pražno nastavitvijo. PCC – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni.

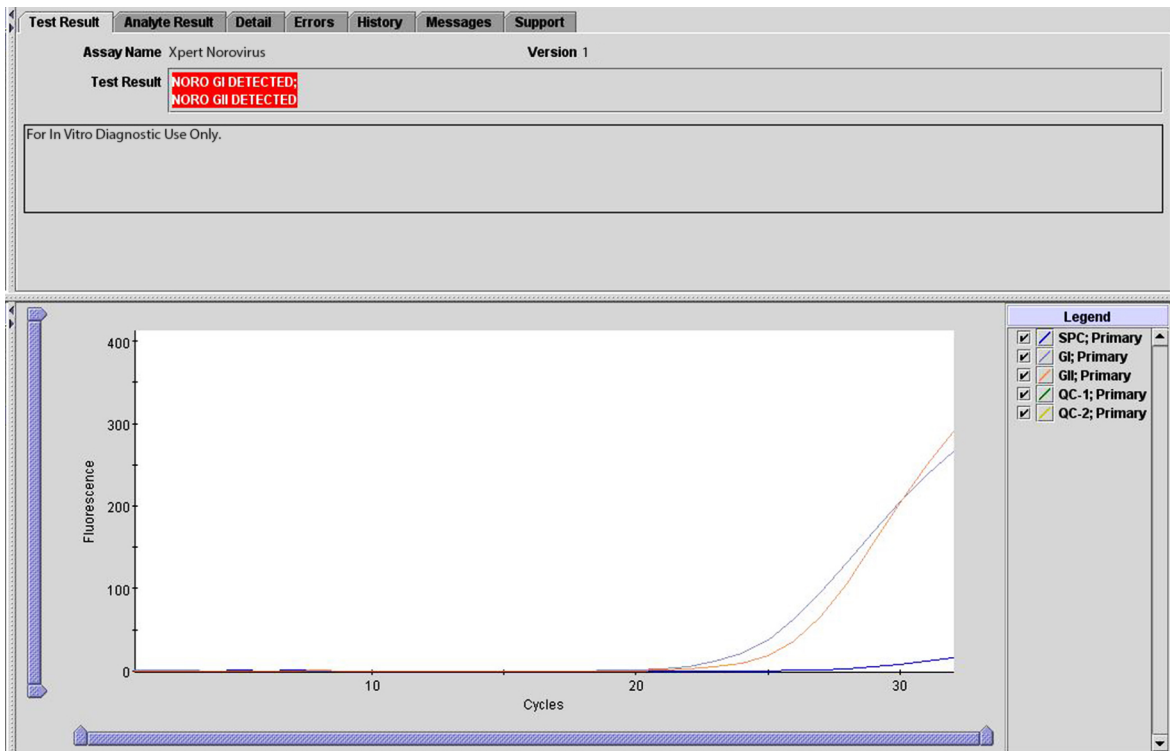
Rezultat	Tolmačenje
NEVELJAVNO (INVALID) Glejte Slika 7.	Prisotnosti ali odsotnosti tarčnih zaporedij RNA norovirusa ni mogoče določiti. Ponovite test po navodilih v Razdelek 17.2. <ul style="list-style-type: none"> • Norovirus GI – NEVELJAVNO (INVALID) • Norovirus GII – NEVELJAVNO (INVALID) • SPC – NEUSPEH (FAIL); SPC Ct ni znotraj veljavnega razpona in končna točka je pod prazno nastavitvijo. • PCC – USPEŠNO (PASS); vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
NAPAKA (ERROR)	Prisotnosti ali odsotnosti tarčnih zaporedij RNA norovirusa ni mogoče določiti. Ponovite test po navodilih v Razdelek 17.2. <ul style="list-style-type: none"> • Norovirus GI – NAPAKA (ERROR) • Norovirus GII – NAPAKA (ERROR) • PCC – NEUSPEH (FAIL)*, eden ali več rezultatov testiranja sond ni uspel. * Če je preverjanje sond uspešno, je napako povzročilo presežanje sprejemljivega razpona meje najvišjega tlaka.
BREZ REZULTATA (NO RESULT)	Prisotnosti ali odsotnosti tarčnih zaporedij RNA norovirusa ni mogoče določiti. Ponovite test po navodilih v Razdelek 17.2. Znak BREZ REZULTATA (NO RESULT) pomeni, da ni bilo zbranih dovolj podatkov. Na primer, operater je zaustavil testiranje, ki se je izvajalo, ali pa je prišlo do izpada napajanja. <ul style="list-style-type: none"> • Norovirus GI – BREZ REZULTATA (NO RESULT) • Norovirus GII – BREZ REZULTATA (NO RESULT) • PCC – N/s (ni smiselno) ((NA (not applicable)).



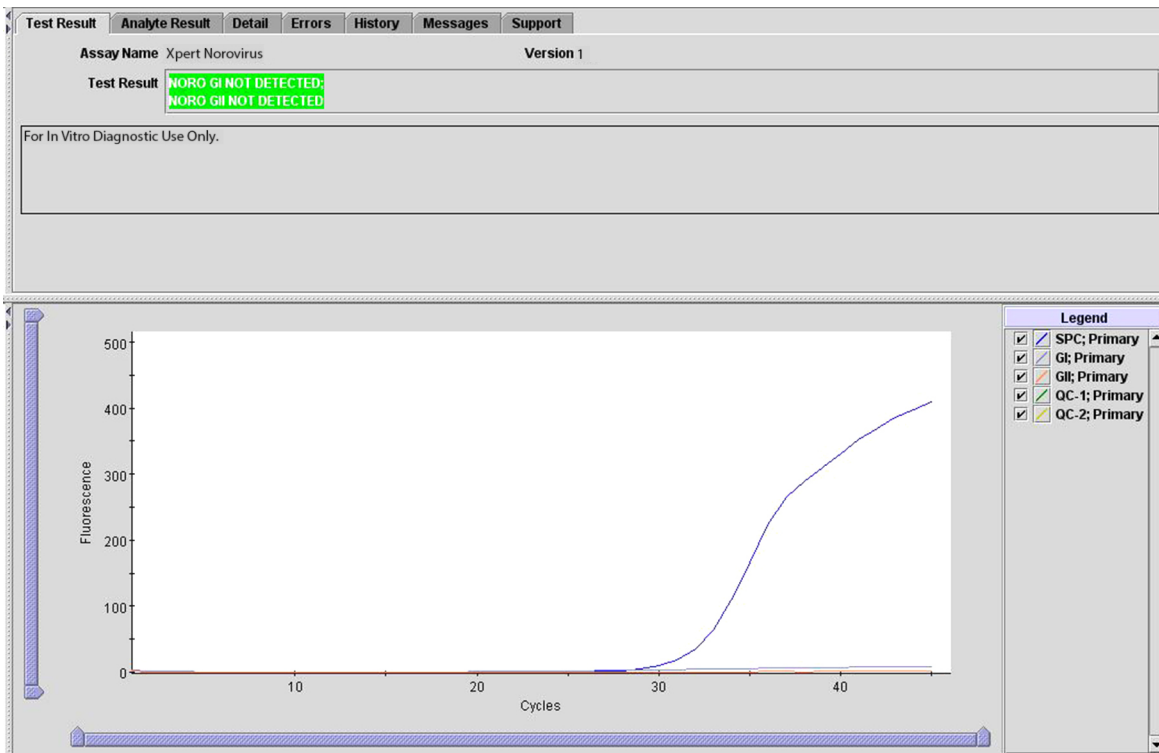
Slika 3. Norovirus GI zaznan, norovirus GII ni zaznan



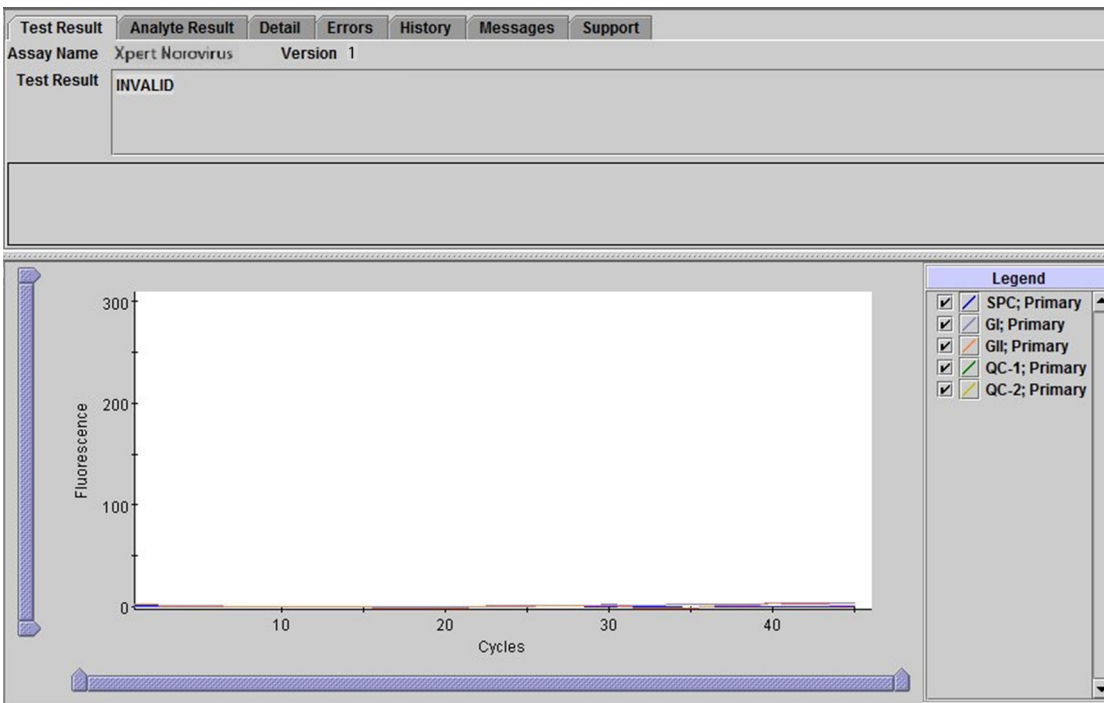
Slika 4. Norovirus GI ni zaznan, norovirus GII zaznan



Slika 5. Norovirus GI zaznan, norovirus GII zaznan



Slika 6. Norovirus GI ni zaznan, norovirus GII ni zaznan



Slika 7. NEVELJAVNO (INVALID)

17 Ponovna testiranja

17.1 Razlogi za ponovitev testa

Če pride do katerega od rezultatov testa, ki so navedeni spodaj, morate test ponoviti skladno z navodili v Razdelek 17.2. Postopek ponovnega testiranja.

- Rezultat **NEVELJAVNO (INVALID)** označuje, da je SPC neuspešen. Vzorec ni bil pravilno obdelan ali je prišlo do zaviranja PCR oziroma vzorec ni bil ustrezno odvzet.
- Rezultat **NAPAKA (ERROR)** je lahko med drugim posledica neuspešne PCC ali presežene najvišje meje tlaka.
- Znak **BREZ REZULTATA (NO RESULT)** pomeni, da ni bilo zbranih dovolj podatkov. Na primer, operater je zaustavil testiranje, ki se je izvajalo, ali pa je prišlo do izpada napajanja.

17.2 Postopek ponovnega testiranja

a ponovno testiranje vzorcev z rezultatom **NEVELJAVNO (INVALID)**, **NAPAKA (ERROR)** ali **BREZ REZULTATA (NO RESULT)** uporabite nov vložek (vložka ne uporabite ponovno) in novo stekleničko reagenta za vzorce.

1. Vzemite vložek in stekleničko z reagentom za vzorec iz kompleta testa Xpert Norovirus.
2. Po tem, ko ste odstranili pokrovček s stekleničke reagenta za vzorec, na kratko potopite bris v vzorec neformiranega blata. Glejte Slika 8 za pravilno količino uporabljenega vzorca za test Xpert Norovirus.

Opomba Da čim bolj zmanjšate nevarnost kontaminacije ovijte paličico brisa in ustje stekleničke s sterilno gazo. Ne prekrijte celotne konice brisa iz vlakna z blatom. Glejte Slika 8. Preveč blata lahko privede do napak ali neveljavnih rezultatov.



Slika 8. Odvzem vzorca na brisu

3. Po tem, ko ste odstranili pokrovček s stekleničke reagenta za vzorec, vstavite bris z vzorcem blata v stekleničko, ki vsebuje reagent za vzorec.
4. Držite bris za palčko blizu roba stekleničke. Dvignite bris nekaj milimetrov od dna stekleničke in potisnite palčko proti robu stekleničke, da jo odlomite. Zagotovite, da je odlomljeni bris dovolj kratek, da se lahko pokrovček trdno zapre.
5. Zaprite pokrovček stekleničke reagenta za vzorec in mešajte deset sekund z vibracijskim mešalnikom pri visoki hitrosti.
6. Odprite pokrovček vložka. S čisto pipeto za prenos (ni priložena) prenesite celotno vsebino reagenta za vzorec v komoro za vzorec vložka testa Xpert Norovirus. Glejte Slika 2.
7. Zaprite pokrovček vložka in v roku 30 minut zaženite test..

18 Omejitve

- Samo za in vitro diagnostično uporabo.
- Učinkovitost testa Xpert Norovirus je bila validirana samo s postopki, navedenimi v teh navodilih.
- Spreminjanje teh postopkov lahko spremeni učinkovitost testa. Rezultate testa Xpert Norovirus je treba tolmačiti skupaj z drugimi laboratorijskimi in kliničnimi podatki, dosegljivimi zdravniku.
- Do napačnih rezultatov lahko pride zaradi nepravilnega odvzema, rokovanja ali shranjevanja vzorca, zamenjave vzorca ali zato, ker je število organizmov v vzorcu pod mejo zaznavanja testa. Da bi se izognili napačnim rezultatom, je treba natančno upoštevati navodila v tem dokumentu.

- Pri neobdelanih ali nekonzerviranih vzorcih neformiranega blata lahko pride do motenj pri testu v prisotnosti barijevega sulfata (≥ 1 % m/m) in benzalkonijevega klorida pri vseh testiranih koncentracijah (1 % m/v, 0,2 %, m/v in 0,04 % m/v).
- Mutacije ali polimorfizem začetnega oligonukleotida ali vezavne regije sonde lahko vplivajo na zaznavanje novih ali neznanih variant virusa, kar lahko privede do lažno negativnega rezultata.
- V primeru mešane okužbe z norovirusom GI in GII, pri kateri je titer ene genske skupine večji od titra druge, bo genska skupina z višjim titrom sporočena kot zaznana. Genska skupina z nižjim titrom bo lahko sporočena kot ni zaznana.

19 Pričakovane vrednosti

V klinično študijo za test Xpert Norovirus je bilo vključenih skupno 914 prospektivno odvzetih svežih, neobdelanih ali nekonzerviranih vzorcev neformiranega blata iz sedmih študijskih centrov. Število in odstotek pozitivnih primerov za norovirus GI ali norovirus GII, izračunana po starostnih skupinah, sta predstavljena v Preglednica 2.

Preglednica 2. Opažena prevalenca GI in GII po starostnih skupinah

Starost (leta)	Št. GI pozitivnih	Opažena prevalenca GI v %	Št. GII pozitivnih	Opažena prevalenca GII v %
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
Skupno	16/914	1,8	74/914	8,1

20 Značilnosti učinkovitosti

20.1 Klinična učinkovitost

Značilnosti učinkovitosti testa Xpert Norovirus so ocenili v sedmih ustanovah v ZDA in EU. Vzorce študije so sestavljali neobdelani ali nekonzervirani vzorci neformiranega blata oseb s simptomi akutnega gastroenteritisa. Učinkovitost testa Xpert Norovirus so primerjali s sestavljeno referenčno testno metodo v Centrih za nadzor bolezni in preventivo (CDC v Atlanti, GA, ZDA).

Skupno je bilo s testom Xpert Norovirus in sestavljenim referenčnim testom za norovirus GI testiranih 1403 vzorcev. Od 1403 vzorcev jih je bilo 914 svežih, prospektivno odvzetih, 489 pa zamrznjenih arhiviranih vzorcev. Skupno je bil s testom Xpert Norovirus in sestavljenim referenčnim testom za norovirus GII testiran 1401 vzorec. Od 1401 vzorca jih je bilo 914 svežih, prospektivno odvzetih, 487 pa zamrznjenih arhiviranih vzorcev.

Na svežih, prospektivno odvzetih vzorcih je test Xpert Norovirus pokazal 100 % PPA in 99,6 % NPA za zaznavanje norovirusa GI glede na sestavljen referenčni test (Preglednica 3). Test Xpert Norovirus je pokazal 98,5 % PPA in 98,8 % NPA za zaznavanje norovirusa GII (Preglednica 4).

Na zamrznjenih arhiviranih vzorcih je test Xpert Norovirus pokazal 98,1 % PPA in 94,6 % NPA za zaznavanje norovirusa GI glede na sestavljen referenčni test (Preglednica 5). Test Xpert Norovirus je pokazal 100 % PPA in 96,8 % NPA za zaznavanje norovirusa GII (Preglednica 6).

Preglednica 3. Učinkovitost testa Xpert Norovirus za GI vs. sestavljen referenčni test – sveži vzorci

	Sestavljen referenčni test		
	POZ	NEG	Skupno

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

Preglednica 4. Učinkovitost testa Xpert Norovirus za GII vs. sestavljen referenčni test – sveži vzorci

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

Preglednica 5. Učinkovitost testa Xpert Norovirus za GI vs. sestavljen referenčni test – zmrznjeni vzorci

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

Preglednica 6. Učinkovitost testa Xpert Norovirus za GII vs. sestavljen referenčni test – zmrznjeni vzorci

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

21 Analizna učinkovitost

21.1 Analizna občutljivost (meja zaznavnosti)

Izvedena je bila študija meje zaznavnosti (LoD) za oceno analizne občutljivosti testa Xpert Norovirus s pozitivnimi kliničnimi vzorci blata, ki so vsebovali norovirus GI.3 ali norovirus GII.4, razredčenimi do negativnega matriksa zbirka blata. LoD je opredeljena kot najnižja koncentracija (kopij/ml) v vzorcu, ki se lahko ponovljivo razlikuje od negativnih vzorcev s 95-odstotno zanesljivostjo. Ocenili so vsaj 23 replikatov pri sedmih koncentracijah norovirusa GI.3 in norovirusa GII.4, LoD pa so ocenili s probitno analizo. Ocenjene LoD so potrdili s testiranjem vsaj 20 replikatov vzorcev z virusom, razredčenih do koncentracij ocenjene LoD.

Ocenjene točke LoD in potrjene LoD za vsako testirano gensko skupino so povzete v Preglednica 7.

Preglednica 7. Meja zaznavnosti testa Xpert Norovirus

Genska skupina/sev norovirusa	Meja zaznavnosti (95 % CI)
GI.3	$5,7 \times 10^5$ (kopij/ml)($4,64 \times 10^5$ – $6,67 \times 10^5$)
GII.4	$3,0 \times 10^5$ (kopij/ml)($1,25 \times 10^5$ – $1,78 \times 10^5$)

21.2 Analizna specifičnost (navzkrižna reaktivnost)

Analizna specifičnost testa Xpert Norovirus je bila ocenjena s testiranjem panela 68 organizmov, sestavljenega iz 54 bakterij, 1 glive, 9 virusov in 4 parazitov, ki predstavljajo običajne patogene gastroenteritisa, ali tistih, ki bi se lahko pojavili v blatu. Testirali so najmanj tri replikate vseh sevov bakterij in gliv pri koncentracijah $\geq 10^6$ CFU/ml. Testirali so najmanj tri replikate vseh virusov pri koncentracijah $\geq 10^5$ TCID50/ml, razen dveh virusov, pridobljenih iz kliničnih vzorcev z neznano koncentracijo. Testirali so najmanj tri replikate vseh parazitov pri koncentracijah $\geq 10^6$ kopij/ml. Test Xpert Norovirus je za vse testirane organizme pravilno poročal kot **NORO GI NI ZAZNAN (NORO GI NOT DETECTED** oz. **NORO GII NI ZAZNAN (NORO GII NOT DETECTED)**. Analizna specifičnost je bila 100 %. Rezultate prikazuje Preglednica 8.

Preglednica 8. Analizna specifičnost testa Xpert Norovirus

Organizem	ID seva	Koncentracija
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	$> 3,0 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	$6,7 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Bacterioides fragilis</i> ^a	ATCC 25285	$1,4 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43478	$1,8 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	$1,3 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	$3,4 \times 10^7$ CFU/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	$1,5 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i> ^a	ATCC 9689	$2,2 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Clostridium sordelli</i> ^a	DSMZ 2141	$2,0 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Eggerthella lenta</i>	ATCC 43055	$> 3,0 \times 10^7$ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 70021	$1,0 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	$1,0 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	$5,4 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	$8,2 \times 10^8$ CFU/ml

Organizem	ID seva	Koncentracija
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	4,5 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichiacoli O157:H7</i>	ATCC 43888	8,4 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli O26:H11</i>	CDC 033014	7,4 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli O45:H2</i>	CDC 003039	3,3 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli O103:H11</i>	CDC 063008	5,4 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli O11</i>	CDC 201114	6,9 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli O121</i>	CDC 023211	1,4 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Escherichia coli O145</i>	CDC 993311	7,1 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	1,5 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ^a	ATCC 31647	9,6 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	1,5 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	1,2 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	4,0 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	1,2 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	1,8 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1,3 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	CCUG 7835	1,5 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	3,1 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Prevotella oralis</i> ^a	ATCC 33269	1,2 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	> 3,0 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1,2 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 × 10 ⁹ CFU/ml
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	> 3,0 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 × 10 ⁸ CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	> 3,0 × 10 ⁷ CFU/ml
<i>Streptococcus agalactiae (GBS)</i>	ATCC 12386	9,6 × 10 ⁸ CFU/ml

Organizem	ID seva	Koncentracija
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	$7,2 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	$5,5 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	$5,2 \times 10^9$ kopij/ ml
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	$3,8 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	$7,1 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Adenovirus</i>	Tip 31	$3,6 \times 10^5$ TCID50/ml
<i>Adenovirus</i>	Tip 40	$2,8 \times 10^7$ TCID50/ml
<i>Adenovirus</i>	Tip 41	$4,6 \times 10^7$ TCID50/ml
<i>Astrovirus</i> ^c	--	Ni smiselno ^d
<i>Coxsackie virus</i>	Tip B5	$1,4 \times 10^5$ TCID50/ml
<i>Ehovirus</i>	11	$3,3 \times 10^9$ TCID50/ml
<i>Parechovirus</i>	Tip 6	$1,9 \times 10^7$ TCID50/ml
<i>Rotavirus</i>	Tip Wa	$1,0 \times 10^6$ TCID50/ml
<i>Sapovirus</i> ^c	--	Ni smiselno ^e
<i>Candida Albicans</i>	ATCC 10231	$> 3,0 \times 10^7$ CFU/ml
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	BT1	$1,0 \times 10^9$ kopij/ml
<i>Cryptosporidium parvum</i> ^b	Iowa	$6,1 \times 10^9$ kopij/ml
<i>Giardia lamblia</i> ^b	Portland-1	$3,05 \times 10^9$ kopij/ml
<i>Entamoeba histolytica</i> ^b	ATCC 30459D	$4,9 \times 10^6$ kopij/ml

a Obligatno anaerobna bakterija.

b Testiran kot genomska DNA.

c Klinični vzorec.

d Za klinične vzorce astrovirusa, pridobljene iz KUL, koncentracija ni znana. Vrednosti Ct glede na test KUL so bile v razponu od 12 do 27.

e Za klinične vzorce sapovirusa, pridobljene iz KUL, koncentracija ni znana. Vrednosti Ct glede na test KUL so bile v razponu od 19 do 23.

21.3 Analizna reaktivnost (inkluzivnost)

Analizna reaktivnost testa Xpert Norovirus je bila ocenjena za enaintrideset genotipov, ki predstavljajo obe genski skupini norovirusa (GI in GII). Enaintrideset sevov norovirusa, ocenjenih v tej raziskavi, je bilo testiranih v koncentracijah blizu LoD testa (Preglednica 9). Za vsak sev so testirali tri replikate.

Preglednica 9. Rezultati analize reaktivnosti testa Xpert Norovirus

Sev norovirusa	Ocenjena koncentracija (kopij/ml) ^a	Rezultat	
		GI	GI
GI.1	$9,0 \times 10^6$	POZ	NEG
GI.2	$3,7 \times 10^8$	POZ	NEG
GI.3	$1,4 \times 10^6$	POZ	NEG

Sev norovirusa	Ocenjena koncentracija (kopij/ml) ^a	Rezultat	
		GI	GII
GI.4	1,0 × 10 ⁵	POZ	NEG
GI.5 ^b	2,5 × 10 ⁵	POZ	NEG
GI.6 ^b	2,5 × 10 ⁵	POZ	NEG
GI.7 ^b	2,5 × 10 ⁵	POZ	NEG
GI.8	3,7 × 10 ⁵	POZ	NEG
GI.14	3,0 × 10 ⁶	POZ	NEG
GII.1	3,6 × 10 ⁶	NEG	POZ
GII.2	1,1 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.3 ^b	1,3 × 10 ³	NEG	POZ
GII.4 (2006a)	1,2 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.4 (2006b)	2,4 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.4 (2008)	4,3 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.4 (2009) New Orleans	1,7 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.4 (2010)	9,6 × 10 ⁴	NEG	POZ
GII.4 (2012) Sydney	1,2 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.5 ^b	1,3 × 10 ³	NEG	POZ
GII.6 ^b	1,3 × 10 ³	NEG	POZ
GII.7	8,0 × 10 ⁴	NEG	POZ
GII.8 ^b	1,3 × 10 ³	NEG	POZ
GII.9 ^b	1,3 × 10 ³	NEG	POZ
GII.10 ^b	1,3 × 10 ³	NEG	POZ
GII.11	2,6 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.12	5,7 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.13	6,9 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.14	1,5 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.15	1,7 × 10 ⁵	NEG	POZ
GII.16 ^b	1,3 × 10 ³	NEG	POZ
GII.17 ^b	1,3 × 10 ³	NEG	POZ

^a Podana je bila ocenjena koncentracija na podlagi vrednosti Ct (zaradi težavne kultivacije delcev norovirusa ni bilo mogoče podati točne koncentracije). Vrednost Ct za vsak klinični vzorec v raziskavi inkluzivnosti je bila ekstrapolirana na titer, pridobljen iz raziskave LoD za dobro karakterizirane vzorce GI in GII, s standardno krivuljo pri CDC.

^b Za te seve so uporabili prepise gole RNA, v času testiranja klinični vzorci niso bili na voljo.

21.4 Študija motečih snovi

Potencialno moteče snovi, ki so lahko prisotne v blatu, so neposredno ocenili glede na učinkovitost testa Xpert Norovirus. Potencialno moteče snovi so vključevale hemoglobin, mucin, holesterol, trigliceride in polno kri, poleg teh pa še endogene in eksogene snovi, navedene v Preglednica 10.

Za vsako snov v negativnem matriksu blata so testirali negativne vzorce v 8 replikatih za določitev učinka na učinkovitost kontrole obdelave vzorca (SPC). Pozitivne vzorce so testirali v 8 replikatih na snov z enim kliničnim izolatom norovirusa GI in enim norovirusa GII blizu LoD.

Vse rezultate so primerjali s pozitivnimi in negativnimi kontrolami, pripravljenimi v negativnem matriksu blata. Test Xpert Norovirus je pravilno poročal za vse veljavne pozitivne in negativne kontrolne vzorce.

Inhibicijo testa Xpert Norovirus so opazili v prisotnosti benzalkonijevega klorida (1 % m/v, 0,2 % m/v in 0,04 % w/v). Za tarčo norovirus GII so bili sporočeni lažno negativni rezultati ob benzalkonijevem kloridu (1 % m/v). V prisotnosti barijevega sulfata (5 % m/m) so opazili statistično značilen inhibitorni učinek na Ct norovirusa GII v pozitivnih vzorcih glede na kontrolo (vrednost $p < 0,05$). Na Ct norovirusa GII glede na kontrolo niso opazili statistično značilnega učinka v prisotnosti barijevega sulfata (1 % m/m).

Za druge potencialno moteče snovi se ni izkazalo, da so inhibitorne, in za te snovi ni bilo sporočenih lažno negativnih rezultatov.

Preglednica 10. Potencialno moteče snovi za test Xpert Norovirus

Endogene snovi		
Snov	Opis/aktivna sestavina	Testirana koncentracija
Holesterol	Fekalna maščoba/holesterol	5 % m/v
Hemoglobin	Humani hemoglobin	12,5 % m/v
Mucin	Prečiščen mucinski protein	5 % m/v
Stearinska kislina/ palmitinska kislina (1 : 1)	Maščobne kisline/stearinska kislina, palmitinska kislina	5 % m/m
Triglicerid	Fekalna maščobe/ mešanica trigliceridov	5 % m/v
Polna kri	Humana polna kri	10 % v/v
Eksogene snovi		
Snov	Opis/aktivna sestavina	Testirana koncentracija
Paracetamol	Paracetamol	5 % m/v
Amoksicilin	Antibiotik/amoksicilin	5 % m/v
Ampicilin	Ampicilin natrijeva sol	152 µmol/l
Aspartam	Aspartam	5 % m/v
Barijev sulfat	Kontrastni medij/barijev sulfat	5 % m/m, 1 % m/m
Benzalkonijev klorid Komerzialni alkohol	Antiseptični robčki/ benzalkonijev klorid v etanolu	1 %, 0,2 %, 0,04 % m/v
Bizmutov subsalicilat	Bizmutov (III) subsalicilat (aktivna sestavina peptobismola)	1 % m/v
CaCO ₃	Kalcijev karbonat	5 % m/v
Hidrokortizon	Hidrokortizon	50 % m/v
Ibuprofen	Ibuprofen	5 % m/v
Imodium	Loperamid HCl	5 % v/v

Endogene snovi		
Kaopektat	Attapulgit	5 mg/ml
Metronidazol	Metronidazol	5 % m/v
Mikostatin	Nistatin	50 % m/m
Naprosyn	Naproxen natrij	2,2 µmol/ml
Novaluzid	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ in MgCO ₃	5 % m/v
Polimiksin B sulfat, bacitracin cink	Polimiksin/polimiksin B sulfat in bacitracin cink	50 % m/v
Pursennid	Glikozidi sene	5 % m/v
Odvajalo Rehall, mineralno olje	Mineralno olje	50 % v/v

21.5 Študija navzkrižne kontaminacije

Opravljena je bila študija, ki je pokazala, da samostojni vložki GeneXpert za enkratno uporabo preprečujejo navzkrižno kontaminacijo negativnih vzorcev, ki v istem modulu GeneXpert sledijo zelo visoko pozitivnim vzorcem. Študijo je tvoril negativen vzorec, obdelan v istem modulu sistema GeneXpert, takoj po visoko pozitivnem vzorcu norovirusa GII. Ta shema testiranja je bila 21 krat ponovljena na dveh modulih GeneXpert za skupno 42 izvedb 20 pozitivnih in 22 negativnih vzorcev. Za vseh 19 pozitivnih vzorcev je bilo pravilno sporočeno **NORO GI NI ZAZNAN (NORO GI NOT DETECTED, NORO GII ZAZNAN (NORO GII DETECTED))** in za en pozitiven vzorec je bila sporočena **NAPAKA (ERROR)**. Za vseh 22 negativnih vzorcev je bilo pravilno sporočeno **NORO GI NI ZAZNAN (NORO GI NOT DETECTED, NORO GII NI ZAZNAN (NORO GII NOT DETECTED))**.

22 Ponovljivost

Dva različna operaterja sta dvakrat testirala panel s 7 vzorci z različnimi koncentracijami norovirusa GI in norovirusa GII pet različnih dni na vsaki od treh lokacij (7 vzorcev × 2-krat/dan × 5 dni × 2 operaterja × 3 lokacije). En lot vložkov testa Xpert Norovirus je bil uporabljen za vsakega od 3 testnih centrov. Test Xpert Norovirus je bil izveden v skladu s postopkom za test Xpert Norovirus. Rezultati so povzeti v Preglednica 11.

Preglednica 11. Povzetek rezultatov ponovljivosti

ID vzorca	Center 1	Center 2	Center 3	Na splošno
Neg	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
GI – visoko neg.	30,0 % (6/20)	15,0 % (3/20)	30,0 % (6/20)	25,0 % (15/60)
GI – nizko poz.	100 % (20/20)	85,0 % (17/20)	95,0 % (19/20)	93,3 % (56/60)
GI – zmerno poz.	100 % (19/19)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (59/59) ^a
GII – visoko neg.	25,0 % (5/20)	30,0 % (6/20)	35,0 % (7/20)	30,0 % (18/60)
GII – nizko poz.	100 % (20/20)	95,0 % (19/20)	90,0 % (18/20)	95,0 % (57/60)
GII – zmerno poz.	95,0 % (19/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	98,3 % (59/60)

^a En vzorec 2 × nedoločen

Ponovljivost testa Xpert Norovirus je bila ocenjena tudi v smislu signala fluorescence, izraženega v vrednostih Ct za vsako zaznano tarčo. Povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (CV) med lokacijami, med dnev in med operaterji za vsakega člana panela so predstavljeni v Preglednica 12.

Preglednica 12. Povzetek podatkov ponovljivosti

Vzorec	Testni kanal (analit)	N ^a	Povprečni Ct	Med lokacijami		Med dnevi		Med operaterji		Znotraj testa		Skupno	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg	SPC	60	31,9	0,17	0,5	0,06	0,2	0,06	0,2	0,26	0,8	0,32	1,0
GI – visoko neg.	GI	60	39,4	0	0	0,46	1,2	0	0	1,80	4,6	1,86	4,7
GI – nizko poz.	GI	59	37,9	0,29	0,8	0	0	0,36	1,0	1,03	2,7	1,13	3,0
GI – zmerno poz. ^b	GI	57	34,7	0,09	0,2	0,07	0,2	0	0	0,41	1,2	1,01	1,2
GII – visoko neg.	GII	54	38,9	0	0	0	0	0,77	2,0	1,77	4,5	1,93	5,0
GII – nizko poz.	GII	60	37,3	0	0	0	0	0,58	1,6	1,33	3,6	1,45	3,9
GII – zmerno poz. ^b	GII	59	34,3	0,22	0,6	0	0	0	0	0,45	1,3	0,50	1,5

^a Rezultati z vrednostjo Ct, različno od nič, od 60

^b n = 3 izstopajoče vzorce (2 GI zmerno poz. in 1 GII zmerno poz.), ki so bili več kot 5 standardnih deviacij od povprečja, so smatrali kot nepravilnost in jih umaknili iz analize.

23 Natančnost sistema instrumenta

Izvedena je bila interna študija natančnosti za primerjavo delovanja sistemov instrumenta GeneXpert DX in GeneXpert Infinity. Dva operaterja sta 12 različnih dni testirala panel s 7 vzorci z različnimi koncentracijami norovirusa GI in norovirusa GII. Vsak operater je izvedel štiri izvedbe za vsak panel vzorcev na dan na vsakem od dveh instrumentov (7 vzorcev × 4-krat/dan × 12 dni × 2 operaterja × 2 instrumenta). Za študijo so uporabili tri serije testnih vložkov Xpert Norovirus. Test Xpert Norovirus je bil izveden v skladu s postopkom Xpert Norovirus. Rezultati so povzeti v Preglednica 13.

Preglednica 13. Povzetek rezultatov natančnosti sistema instrumentov (Dx vs. Infinity)

Vzorec	GeneXpert Dx			Infinity			% skupnega soglasja na vzorec
	Op 1	Op 2	Inst	Op 1	Op 2	Inst	
Neg	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
GI – visoko neg.	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 – nizko poz.	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 – zmerno poz.	100 % ^a (47/47)	100 % (48/48)	100 % (95/95)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (191/191)
GII – visoko neg.	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 – nizko poz.	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)

Vzorec	GeneXpert Dx			Infinity			% skupnega soglasja na vzorec
	Op 1	Op 2	Inst	Op 1	Op 2	Inst	
GII – zmerno poz.	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % ^b (47/47)	100 % (95/95)	100 % (191/191)

^a En GI zmerno poz. vzorec ni bil testiran.

^b En GII zmerno poz. vzorec nedoločen in ni bil ponovno testiran.

Natančnost testa Xpert Norovirus je bila ocenjena tudi v smislu signala fluorescence, izražene v vrednostih Ct za vsako zaznano tarčo. Povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (CV) med instrumenti, med serijam, med dnevi, med operaterji in znotraj testov za vsakega člana panela so predstavljeni v Preglednica 14.

Preglednica 14. Povzetek podatkov o natančnosti

Vzorec	Testni kanal (analit)	N ^a	Povprečni Ct	Med instrumenti		Med serijami		Med dnevi		Med operaterji		Znotraj testa		Skupno	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg	SPC	192	31,8	0	0	0,44	1,4	0	0	0,08	0,2	0,39	1,2	0,59	1,9
GI – visoko neg.	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 – nizko poz.	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 – zmerno poz.	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 – visoko neg.	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 – nizko poz.	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 – zmerno poz.	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 Rezultati z vrednostjo Ct, različno od nič, od 192.

24 Reference

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 (glejte zadnjo izdajo, na voljo na spletnem naslovu <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (glejte zadnjo izdajo, na voljo na spletnem naslovu <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
19. UREDBA (ES) št. 1272/2008 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju označevanja in pakiranju snovi in mešanic, ki spreminja in razveljavlja Seznam previdnostnih stavkov, direktivi 67/548/EGS in 1999/45/ES (ki spreminja uredbo (ES) št. 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 Kraji sedeža družbe Cepheid

Sedež družbe

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sedež v Evropi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Tehnična pomoč

Preden stopite v stik z oddelkom za tehnično podporo Cepheid, zberite naslednje informacije:

- Ime izdelka
- Številka lota
- Serijska številka instrumenta
- Sporočila o napakah (če so se prikazala)
- Različica programske opreme in, če je primerno, številko značke računalniškega servisa

Kontaktne informacije

Združene države Amerike


















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

Francija

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

Informacije za stik z vsemi oddelki za tehnično podporo Cepheid so na voljo na naši spletni strani: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

27 Preglednica simbolov

Simbol	Pomen
	Kataloška številka
	In vitro diagnostični medicinski pripomoček
	Ne uporabite ponovno
	Številka serije
	Glejte navodila za uporabo
	Svarilo
	Izdelovalec
	Država izdelave
	Vsebina zadostuje <i>zan</i> testov
	Kontrola
	Rok uporabnosti
	Oznaka CE – skladnost z evropskimi predpisi
	Omejitev temperature
	Biološka tveganja
	Opozorilo
	Pooblaščen zastopnik v Švici
	Uvoznik



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Švedska



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



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



28 Zgodovina revizij

Razdelek	Opis spremembe
Preglednica simbolov	Dodan pooblaščen zastopnik za Švico (CH REP) in simboli uvoznika ter opredelitve v tabeli simbolov. Dodan pooblaščen zastopnik za Švico (CH REP) in informacije uvoznika z naslovom v Švici.
Zgodovina revizij	Posodobljena preglednica Zgodovina revizij.