

Xpert[®] Norovirus

REF GXNOV-CE-10

Návod k použití

IVD C €



Diagnostický zdravotnický
prostředek *in vitro*

301-2440, Rev. H
Březen 2023

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

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

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

ZAKOUPENÍM TOHOTO VÝROBKU PŘECHÁZÍ NA KUPUJÍCÍHO NEPŘENOSNÉ PRÁVO POUŽÍVAT JEJ V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA NEJSOU PŘEVÁDĚNA VÝSLOVNĚ, IMPLICITNĚ ANI ZPROSTŘEDKOVANĚ. ZAKOUPENÍM TOHOTO VÝROBKU DÁLE NEVZNIKAJÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA DALŠÍ PRODEJ.

© 2014-2023 Cepheid.

Podrobný popis změn naleznete v části Historie revizí.

Xpert® Norovirus

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

1 Proprietární název

Xpert® Norovirus

2 Obecný nebo obvyklý název

Xpert Norovirus

3 Určené použití

Test Cepheid Xpert® Norovirus, prováděný na přístrojových systémech GeneXpert®, je kvalitativní *in vitro* diagnostický test pro identifikaci a rozlišení RNA norovirů genové skupiny I a genové skupiny II ze surových nebo nekonzervovaných vzorků stolice odebraných od osob s příznaky akutní gastroenteritidy. Test využívá k detekci norovirové RNA automatizovanou reverzní transkriptázovou polymerázovou řetězovou reakci v reálném čase (RT-PCR). Test Xpert Norovirus je určen k pomoci při diagnostice norovirových infekcí, pokud se používá ve spojení s klinickým hodnocením, laboratorními nálezy a epidemiologickými informacemi. Test také pomáhá při detekci a identifikaci norovirových infekcí v souvislosti s epidemiemi.

4 Shrnutí a vysvětlení

Noroviry jsou jednovláknové RNA neobalené viry rodu *Norovirus* z čeledi *Caliciviridae*, které způsobují akutní gastroenteritidu u lidí a dalších savců. Prototyp noroviru byl poprvé identifikován jako příčina epidemie gastroenteritidy v Norwalku ve státě Ohio v roce 1968.¹ Odhaduje se, že norovirus může být původcem více než 23 milionů případů gastroenteritidy ročně ve Spojených státech, což představuje přibližně 60 % všech akutních gastroenteritid.² Noroviry lze rozdělit do pěti různých genoskupin, z nichž genoskupina I (GI) a genoskupina II (GII) způsobují většinu infekcí u lidí.

Noroviry jsou celosvětově hlavní příčinou gastroenteritidy. Postihují všechny věkové kategorie a často propuknou v komunálních zařízeních, jako jsou domovy důchodců, nemocnice, jesle, věznice a výletní lodě.³⁻⁶ Příznaky norovirové infekce jsou obvykle průjem, zvracení, žaludeční křeče, nevolnost a horečka. Onemocnění obvykle probíhá samovolně a příznaky mohou trvat několik dní. U mladých, starších a imunosuprimovaných osob může být onemocnění v důsledku dehydratace život ohrožující. Běžné názvy spojené s norovirovou gastroenteritidou jsou zimní zvracení, žaludeční chřipka, akutní nebakteriální gastroenteritida a virová gastroenteritida. Norovirus lze kultivovat pouze ve velmi specializovaných systémech buněčných kultur.⁷ K přímé vizualizaci norovirů ve vzorcích stolice lze použít elektronovou mikroskopii, která má však nízkou citlivost.⁸

Komerčně dostupné enzymové imunoanalýzy (EIA) se ukázaly jako užitečné při epidemiích norovirů. Vzhledem k nízké citlivosti testu jsou však komerčně dostupné EIA užitečné pouze v případech vysoké prevalence norovirové infekce. Současné pokyny CDC navíc doporučují, aby všechny negativní výsledky EIA byly potvrzeny molekulárními metodami.⁸ Je známo, že v současnosti dostupné EIA mají nízkou citlivost (36-80 %) ve srovnání s metodami RT-PCR a nízkou až dobrou specifitostí (47-100 %) v závislosti na testovacím prostředí.⁹⁻¹⁵ V Evropě a Japonsku, kde jsou komerčně dostupné molekulární testy, tyto testy vyžadují vysoce kvalifikovaný personál v oblasti molekulární diagnostiky a z konstrukčního hlediska nutí provádět testování dávkově (v sériích), což vede ke zpoždění ve vydávání výsledků. Podle současných pokynů CDC se doporučuje, aby poskytovatelé zdravotní péče zvážili vypracování a přijetí zásad pro zařízení, které umožní klinické a virologické potvrzení podezření na symptomatickou norovirovou infekci a zároveň zavedou rychlá kontrolní opatření ke snížení rozsahu potenciální norovirové epidemie.¹⁶ Test Xpert Norovirus poskytuje rychlý a přesný molekulární test na vyžádání, který usnadňuje potvrzení a zahájení rychlých kontrolních opatření proti norovirům bez ohledu na míru prevalence.

5 Princip postupu

Test je automatizovaný a využívá reverzní transkriptázovou polymerázovou řetězovou reakci v reálném čase (RT-PCR) k detekci specifických sekvencí virových genů spojených s noroviry genové skupiny I a genové skupiny II. Vzorky stolice se odebírají od osob s příznaky akutní gastroenteritidy a do laboratoře se dopravují v čistém kontejneru. Do vzorku stolice se vloží tampon a poté se umístí do zkumavky obsahující činidlo pro odběr vzorků. Po krátkém promíchání se eluovaný vzorek přenesení do vzorkovací komory jednorázové fluidní kazety (kazeta GeneXpert). Kazeta GeneXpert je vložena do platformy GeneXpert Instrument System, která provádí automatizované zpracování vzorků a RT-PCR v reálném čase pro identifikaci a rozlišení norovirů genové skupiny I a genové skupiny II.

Přístrojové systémy GeneXpert automatizují a integrují přípravu vzorku, extrakci a amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílových sekvencí v jednoduchých nebo složitých vzorcích pomocí testů reverzní transkriptázové PCR (RT-PCR) a PCR v reálném čase. Systémy se skládají z přístroje, osobního počítače a předinstalovaného softwaru pro provádění testů a zobrazování výsledků. Systémy vyžadují použití jednorázových kazet GeneXpert, v nichž jsou uložena činidla pro RT-PCR a PCR a v nichž také probíhají procesy RT-PCR a PCR. Vzhledem k tomu, že kazety jsou samostatné, je minimalizována křížová kontaminace mezi vzorky. Úplný popis systémů naleznete v příslušné *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx* nebo *GeneXpert Infinity*.

Test Xpert Norovirus obsahuje činidla pro detekci sekvencí nukleových kyselin pro noroviry genové skupiny I a genové skupiny II ze surových nebo nekonzervovaných vzorků neformované stolice odebraných od osob s příznaky akutní gastroenteritidy. Součástí kazety je také kontrola zpracování vzorku (SPC) a kontrola sondy (PCC). SPC slouží ke kontrole adekvátního zpracování cílových virů a k monitorování přítomnosti inhibitorů v reakci PCR. PCC ověřuje rehydrataci suchého činidla, naplnění zkumavky PCR v kazetě, integritu sondy a stabilitu barviva.

6 Reagencie a přístroje

6.1 Poskytnuté materiály

Testovací souprava Xpert Norovirus (katalogové číslo GXNOV-CE-10) obsahuje dostatečné množství reagentů pro zpracování 10 vzorků nebo vzorků kontroly kvality. Souprava obsahuje následující:

kazety Xpert Norovirus s integrovanými reakčními zkumavkami.	10
• Kuličku 1, kuličku 2 a kuličku 3 (lyofilizované). • Eluční činidlo • Promývací činidlo • Vazebné činidlo (guanidinium thiokyanát)	1 kus na kazetu 1,5 ml na kazetu 1,0 ml na kazetu 2,7 ml na kazetu
Reagencie pro vzorky (guanidinium thiokyanát)	10 x 2,0 ml na lahvičku
CD	1 na sadu
• Soubor s definicí testu (ADF) • Pokyny pro import ADF do softwaru • Návod k použití (příbalová informace)	

Pozn Bezpečnostní listy (SDS) jsou k dispozici na adrese www.cepheid.com nebo www.cepheidinternational.com v sekci **PODPORA** záložce.

Pozn Hovězí sérový albumin (BSA) v kuličkách tohoto výrobku byl vyroben a zpracován výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států. Zvířatům nebyly podávány žádné bílkoviny přežvýkavců ani jiné živočišné bílkoviny; zvířata prošla předsmrtným a posmrtným testováním. Během zpracování nedošlo ke smíchání materiálu s jinými živočišnými materiály.

7 Skladování a manipulace

- Testovací kazety Xpert Norovirus a reagentie skladujte při teplotě 2-8 °C.
- Nepoužívejte reagentie nebo kazety, u kterých již vypršela doba použitelnosti.
- Víko kazety neotvírejte, dokud nebudete připraveni provést testování.
- Kazetu použijte do 30 minut po otevření víka.

8 Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky

- Systém GeneXpert Dx nebo systém GeneXpert Infinity (katalogové číslo se liší podle konfigurace): GeneXpert, počítač s proprietárním softwarem GeneXpert verze 4.3 nebo vyšší, ruční snímač čárových kódů a návod k obsluze.
- Tiskárna: Kontaktujte obchodního zástupce společnosti Cepheid a domluvte se na zakoupení doporučené tiskárny.
- Vortex
- Jednorázové přenosové pipety
- Jednorázový suchý odběrový tampon s rayonovým (viskózním) vláknem (SDPS-120) nebo ekvivalentní tampon s rayonem pro přenos vzorku stolice z odběrové nádoby do lahvičky se vzorkovým činidlem.
- Čistá nádoba na vzorek bez konzervačních látek

9 Dostupné, ale nedodávané materiály

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

10 Upozornění a bezpečnostní opatření

10.1 Obecné informace

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet a reagentií, zacházejte, jako by mohly přenášet infekční agens. Protože často není možné zjistit, které z nich mohou být infekční, mělo by se se všemi biologickými vzorky zacházet za použití standardních bezpečnostních opatření. Pokyny pro zacházení se vzorky jsou k dispozici u amerických center pro kontrolu a prevenci nemocí¹⁹ a u Institutu pro klinické a laboratorní standardy²⁰.
- Biologické vzorky, přenosová zařízení a použité kazety by měly být považovány za vzorky schopné přenášet infekční agens vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagentií postupujte podle postupů pro ekologický odpad vaší instituce. Tyto materiály mohou vykazovat vlastnosti nebezpečného chemického odpadu vyžadující zvláštní národní nebo regionální postupy likvidace. Pokud národní nebo regionální předpisy neposkytují jasné pokyny pro správnou likvidaci, měly by být biologické vzorky a použité kazety likvidovány podle pokynů WHO [Světové zdravotnické organizace] pro nakládání se zdravotnickým odpadem a jeho likvidaci. O správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých činidel se poraďte s pracovníky vaší instituce, kteří se zabývají odpady z životního prostředí.

10.2 Vzorky

- Během přepravy vzorků dodržujte správné podmínky skladování, aby byla zajištěna neporušenost vzorku (viz část 12. Odběr, přeprava a skladování vzorků). Stabilita vzorku za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- Správný odběr, skladování a přeprava vzorků jsou nezbytné pro správné výsledky.

10.3 Analýza/reagentie

- Nenahrazujte reagentie testu Xpert Norovirus jinými reagenty.
- Neotvírejte víčko testovací kazety Xpert Norovirus, dokud nejste připraveni přidat vzorek.

- Nepoužívejte kazetu, která byla po vyjmutí ze soupravy upuštěna nebo s ní bylo zatřesen po otevření víčka kazety. Protřepání nebo upuštění kazety po otevření víčka může vést k falešným nebo neurčitým výsledkům.
- Neumísťujte identifikační štítek vzorku na víko kazety ani na štítek s čárovým kódem.
- Nepoužívejte kazetu, pokud se zdá být mokrá nebo pokud se zdá, že je porušeno těsnění víka.
- Vzorkové činidlo je čirá, bezbarvá kapalina. Nepoužívejte činidlo na vzorky, pokud je zakalené nebo změnilo barvu.
- Nepoužívejte kazetu, která má poškozenou reakční zkumavku.
- Každá jednorázová testovací kazeta Xpert Norovirus slouží ke zpracování jednoho testu. Spotřebované kazety nepoužívejte opakovaně.
- Je třeba dodržovat správnou laboratorní praxi a mezi manipulací s každým vzorkem od pacienta si vyměnit rukavice, aby nedošlo ke kontaminaci vzorků nebo reagentů. Pravidelně čistěte pracovní plochu/prostory 10% bělidlem a poté povrch znovu otřete 70% etanolem nebo izopropylalkoholem před a po zpracování vzorků Xpert Norovirus.
- Vzorky mohou obsahovat vysoké množství organismů. Zajistěte, aby se nádoby se vzorky vzájemně nedotýkaly. Vyměňte si rukavice, pokud přijdou do přímého kontaktu se vzorkem, a po zpracování každého vzorku, abyste zabránili kontaminaci dalších vzorků.

11 Chemická nebezpečí^{19,20}

- Piktogram nebezpečnosti podle GHS OSN 
- Signální slovo: VAROVÁNÍ
- Standardní věty o nebezpečnosti podle GHS OSN:
 - Škodlivé při požití.
 - Způsobuje mírné podráždění pokožky.
 - Způsobuje podráždění očí.
- Bezpečnostní pokyny GHS OSN:
 - **Prevence**
 - Po manipulaci s přípravkem jej důkladně omyjte.
 - **Reakce**
 - Pokud se necítíte dobře, zavolejte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře/lékařku.
 - Pokud dojde k podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření.
 - PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně několik minut vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li přítomny a lze-li to snadno provést. Pokračujte ve vyplachování.
 - Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc.
 - **Skladování/likvidace**
 - Obsah a/nebo obal likvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.

12 Odběr, přeprava a skladování vzorků

1. Odeberte nezpracovaný nebo nekonzervovaný vzorek stolice do čisté nádoby bez konzervačních látek. Postupujte podle pokynů vaší instituce pro odběr vzorků k testování na noroviry.
2. Označte nádobu se vzorkem stolice jménem pacienta a ID vzorku a odešlete do laboratoře.
3. Vzorek skladujte při teplotě 2-8 °C. Vzorek je při skladování při teplotě 2-8 °C stabilní až dva dny.

13 Postup

13.1 Příprava kazety

Poznámka Test začněte provádět do 30 minut po přidání činidla do kazety.

Přidání vzorku do kazety:

1. Vyjměte kazetu a lahvičku se vzorkovacím činidlem ze soupravy.

2. Ponořte tampon do surového nebo nekonzervovaného netvarovaného vzorku stolice. Správné množství vzorku, které má být použito pro test Xpert Norovirus, viz obrázek 1.

Pozn Omotejte sterilní gázu kolem držadla tamponu i hrdla lahvičky, abyste minimalizovali riziko kontaminace. Nepokrývejte celý vláknitý konec tamponu stolicí. Viz obrázek 1. Příliš mnoho stolice může vést k chybám nebo neplatným výsledkům.



Obrázek 1. Odběr vzorku na tampon

3. Po sejmutí uzávěru z lahvičky se vzorkovacím činidlem vložte tampon se vzorkem stolice do lahvičky obsahující vzorkovací činidlo.
4. Držte tampon za držadlo poblíž okraje lahvičky. Zvedněte tampon několik milimetrů ode dna lahvičky a ohněte držadlo přes její okraj tak, aby se zlomilo. Tampon tím zkrátíte natolik, aby se vešel do lahvičky a víčko šlo pevně uzavřít.
5. Uzavřete uzávěr lahvičky se vzorkovacím činidlem a deset sekund vortexujte vysokou rychlostí.
6. Otevřete víko kazety. Pomocí čisté přenosové pipety (není součástí dodávky) přeneste celý obsah lahvičky se vzorkovacím činidlem do vzorkovací komory testovací kazety Xpert Norovirus. viz obrázek 2.
7. Zavřete víko kazety a do 30 minut spusťte test.



Obrázek 2. Kazeta Xpert Norovirus (pohled shora)

13.2 Spuštění testu

Pozn Před spuštěním testu se ujistěte, že je soubor s definicí testu pro test Xpert Norovirus importován do softwaru. V této části jsou uvedeny základní kroky pro spuštění testu. Podrobné pokyny naleznete v *Příručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx* nebo v *Příručce pro obsluhu systému GeneXpert Infinity*, v závislosti na použitém modelu.

Poznámka Kroky, které budete provádět, se mohou lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Zapněte přístroj GeneXpert:
 - a) Pokud používáte přístroj GeneXpert Dx, nejprve zapněte přístroj a poté zapněte počítač. Software GeneXpert se spustí automaticky nebo může být nutné dvakrát kliknout na ikonu softwaru GeneXpert Dx na ploše systému Windows®. nebo .

- b) Pokud používáte přístroj GeneXpert Infinity, zapněte přístroj. Software GeneXpert se spustí automaticky nebo může vyžadovat dvojklik na ikonu softwaru Xpertise na pracovní ploše systému Windows®.
2. Přihlaste se k softwaru systému přístroje GeneXpert pomocí svého uživatelského jména a hesla.
3. V okně systému GeneXpert klikněte na tlačítko **Vytvořit test** (GeneXpert Dx) nebo na tlačítko **Objednávky a objednat test** (GeneXpert Infinity). Otevře se okno Vytvořit test.
4. Naskenujte (nebo zadejte) ID pacienta (volitelné). Pokud zadáváte ID pacienta, ujistěte se, že je ID pacienta zadáno správně. ID pacienta se zobrazuje na levé straně okna View Results (Zobrazit výsledky) a je spojeno s výsledky testu.
5. Naskenujte (nebo zadejte) ID vzorku. Pokud zadáváte ID vzorku, ujistěte se, že je ID vzorku zadáno správně. ID vzorku je zobrazeno na levé straně okna View Results (Zobrazit výsledky) a je spojeno s výsledky testu.
6. Naskenujte čárový kód na testovací kazetě Xpert Norovirus. Na základě informací z čárového kódu software automaticky vyplní pole pro následující položky: Vybrat test, ID šarže reagentie, SN kazety a datum expirace.

Pozn

Pokud se čárový kód na kazetě s testem Xpert Norovirus naskenuje, opakujte test s novou kazetou podle postupu uvedeného v části Postup opakování testu.

7. Klikněte na tlačítko **Start Test** (GeneXpert Dx) nebo **Submit** (GeneXpert Infinity). Do zobrazeného dialogového okna zadejte své heslo.
8. U systému GeneXpert Infinity umístěte kazetu na dopravní pás. Kazeta se automaticky vloží, test proběhne a použitá kazeta se vloží do odpadní nádoby.

nebo

Pro přístroj GeneXpert Dx:

- a) Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a vložte kazetu.
- b) Zavřete dvířka. Test se spustí a zelená kontrolka přestane blikat. Po dokončení testu kontrolka zhasne.
- c) Před otevřením dvířek modulu a vyjmutím kazety počkejte, dokud systém neuvolní zámek dvířek.
- d) Použité kazety by měly být zlikvidovány v příslušných kontejnerech na odpadní vzorky v souladu se standardními postupy vaší instituce.

14 Zobrazení a tisk výsledků

V této části jsou uvedeny základní kroky pro zobrazení a tisk výsledků. Podrobnější pokyny k prohlížení a tisku výsledků naleznete v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx* nebo v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Infinity*.

1. Výsledky zobrazíte kliknutím na ikonu **Zobrazit výsledky**.
2. Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Report (Zpráva)** v okně View Results (Zobrazení výsledků) a zobrazte a/nebo vygenerujte soubor zprávy PDF.

15 Kontrola kvality

15.1 Vnitřní automatické kontroly kvality

Každý test obsahuje kontrolu zpracování vzorku (SPC) a kontrolu sondy (PCC).

- **Kontrola zpracování vzorku (SPC):** Zajišťuje, že vzorek byl zpracován správně. SPC obsahuje Armored RNA®, která je součástí každé kazety a ověřuje adekvátní zpracování vzorku. SPC ověřuje, zda došlo k uvolnění RNA z viru, pokud je organismus přítomen, a ověřuje, zda je zpracování vzorku adekvátní. Tato kontrola navíc zjišťuje inhibici reakcí RT-PCR a PCR spojenou se vzorkem. SPC by měl být pozitivní v negativním vzorku a může být negativní nebo pozitivní u pozitivního vzorku. SPC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.
- **Kontrola kontroly sondy (PCC):** Před zahájením reakce PCR měří přístrojový systém GeneXpert fluorescenční signál ze sond (SPC, QC1 a QC2, jedna pro každou ze dvou reagenčních kuliček), aby bylo možné sledovat rehydrataci kuliček, naplnění reakční zkumavky, integritu sondy a stabilitu barviva. Kontrola sondy projde, pokud splňuje přiřazená kritéria přijatelnosti.

15.2 Externí kontroly

- Externí kontroly: ZeptoMetrix NATtrol Rotavirus Stock (katalogové číslo NATROTA-6MC) jako externí negativní kontrola a ZeptoMetrix NATtrol Norovirus GI Stock a NATtrol Norovirus GII Stock (katalogová čísla NATNOVI-6MC a NATNOVII-6MC) jako externí pozitivní kontroly mohou být použity v souladu s místními, státními a federálními akreditačními organizacemi, pokud je to vhodné.

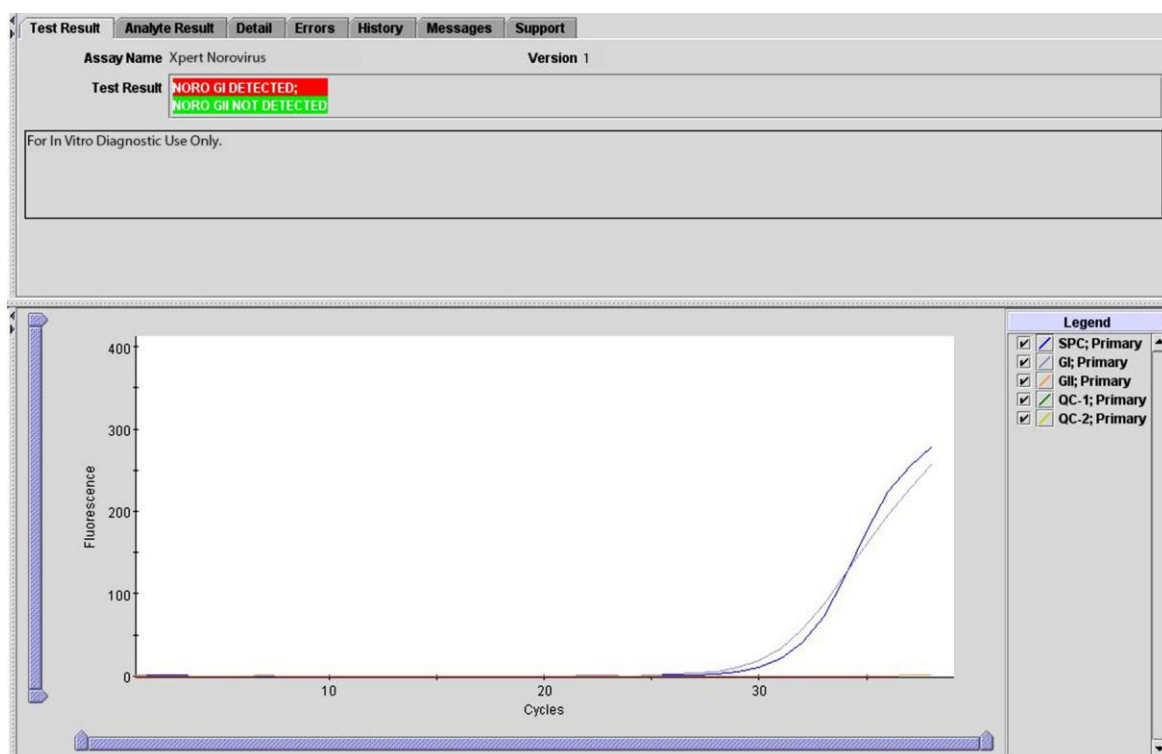
16 Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpretovány přístrojovými systémy GeneXpert z naměřených fluorescenčních signálů a zabudovaných výpočetních algoritmů a zobrazí se v okně View Results (Zobrazit výsledky). Možné výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

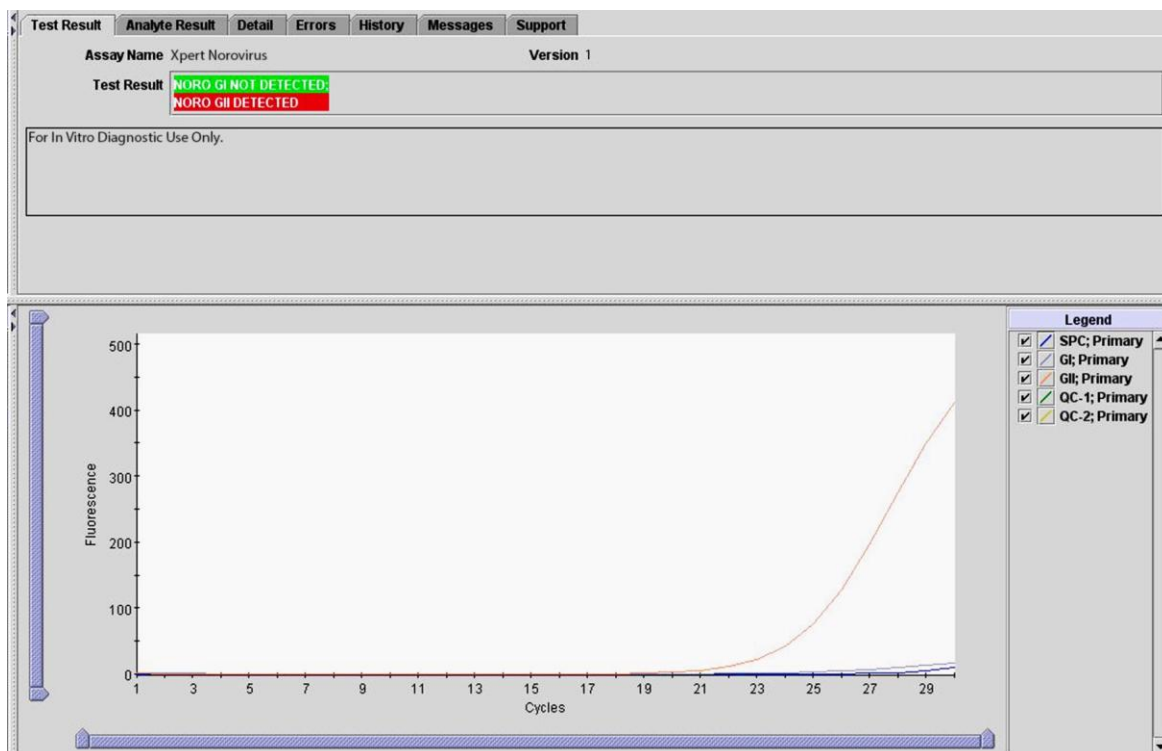
Tabulka 1. Výsledky testu Xpert Norovirus a jejich interpretace

Výsledek	Interpretace
NORO GI DETEKOVÁN, NORO GII NEDETEKOVÁN Viz obrázek 3.	Zjištěna sekvence RNA noroviru genové skupiny I (GI). • Cílová sekvence RNA genoskupiny I (GI) noroviru má Ct v platném rozmezí a koncový bod nad nastaveným prahem. • SPC - NA (nepoužitelné); SPC se ignoruje, protože cílová amplifikace noroviru může s touto kontrolou soutěžit. • PCC - PASS; všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
NORO GI NEDETEKOVÁN, NORO GII DETEKOVÁN Viz obrázek 4.	Je detekována sekvence RNA noroviru genové skupiny II (GII). • Sekvence cílové RNA noroviru genové skupiny II (GII) má Ct v platném rozmezí a koncový bod nad nastavenou prahovou hodnotou. • SPC - NA (nepoužije se); SPC se ignoruje, protože amplifikace cílové skupiny noroviru může s touto kontrolou soutěžit. • PCC - PASS; všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
NORO GI DETEKOVÁN, NORO GII DETEKOVÁN Viz obrázek 5.	Je detekována sekvence RNA noroviru genové skupiny I (GI) a je detekována sekvence RNA noroviru genové skupiny II (GII). • Cílová sekvence RNA noroviru genoskupiny I (GI) má Ct v platném rozsahu a koncový bod nad nastavenou prahovou hodnotou. • Sekvence cílové RNA genoskupiny II (GII) noroviru má Ct v platném rozmezí a koncový bod nad prahovým nastavením. • SPC - NA (nepoužije se); SPC se ignoruje, protože cílová amplifikace noroviru může s touto kontrolou soutěžit. • PCC - PASS; všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.

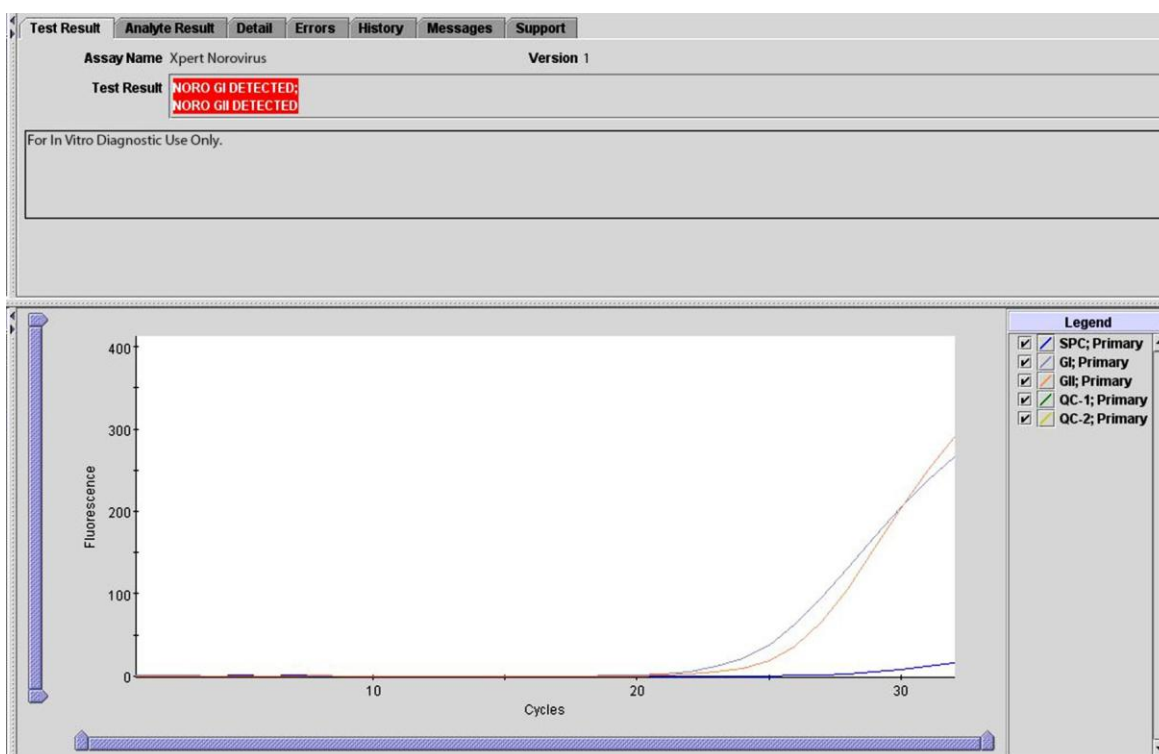
Výsledek	Interpretace
NORO GI NEDETEKOVÁN, NORO GII NEDETEKOVÁN Viz obrázek 6.	Sekvence cílové RNA noroviru nejsou detekovány. • Sekvence cílové RNA noroviru nejsou detekovány. • SPC - PASS; SPC má Ct v platném rozsahu a koncový bod nad nastavením prahové hodnoty koncového bodu. • PCC - PASS; všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
INVALIDNÍ - NEPLATNÉ Viz obrázek 7.	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí norovirové RNA nelze určit. Opakujte test podle pokynů v oddíle 17.2. • Norovirus GI - INVALIDNÍ • Norovirus GII - INVALIDNÍ • SPC - FAIL; SPC Ct není v platném rozsahu a koncový bod je pod prahovou hodnotou. • PCC - PASS; všechny výsledky kontroly sond jsou vyhovující.
ERROR	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí norovirové RNA nelze určit. Opakujte test podle pokynů v oddíle 17.2. • Norovirus GI - CHYBA • Norovirus GII - CHYBA • PCC - FAIL*; jeden nebo více výsledků kontroly sond selhaly. * Pokud kontrola sondou proběhla úspěšně, chyba je způsobena překročením limitu maximálního tlaku v přijatelném rozsahu.
NENÍ VÝSLEDEK	Přítomnost nebo nepřítomnost cílových sekvencí norovirové RNA nelze určit. Opakujte test podle pokynů v oddíle 17.2. Výsledek NO RESULT znamená, že nebyl shromážděn dostatek údajů. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení. • Norovirus GI - ŽÁDNÝ VÝSLEDEK • Norovirus GII - ŽÁDNÝ VÝSLEDEK • PCC - NA (nepoužije se).



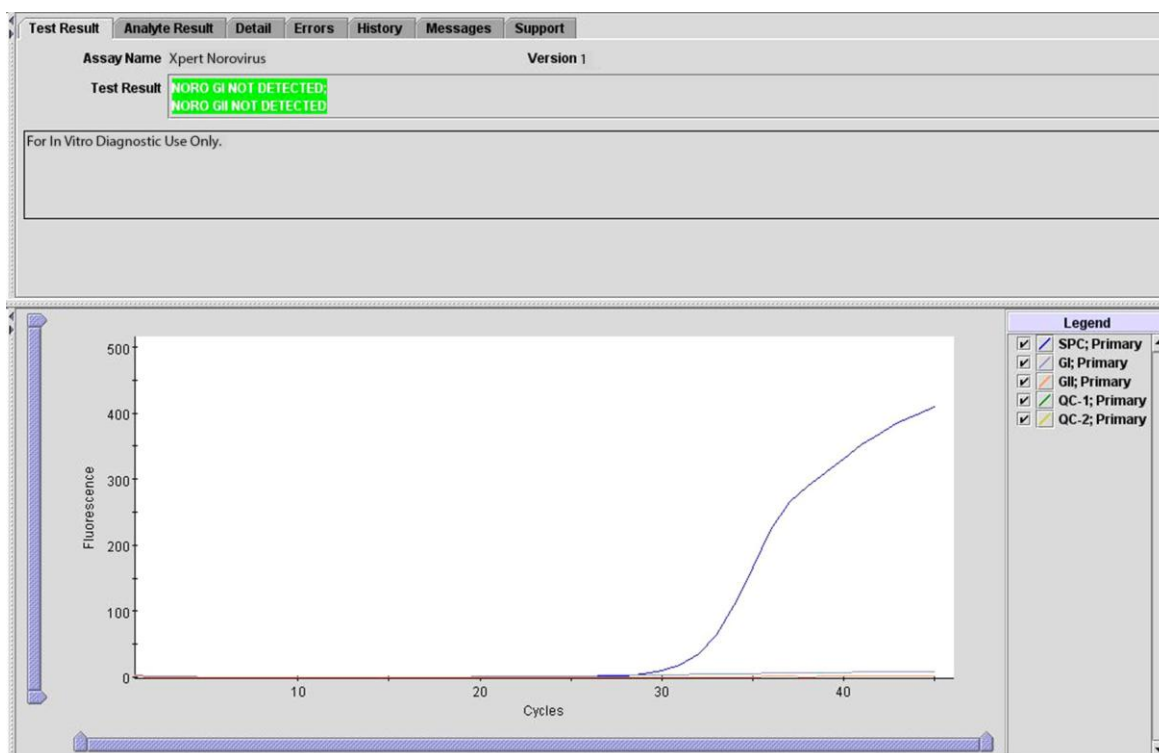
Obrázek 3. Zjištěn norovirus GI; norovirus GII nezjištěn.



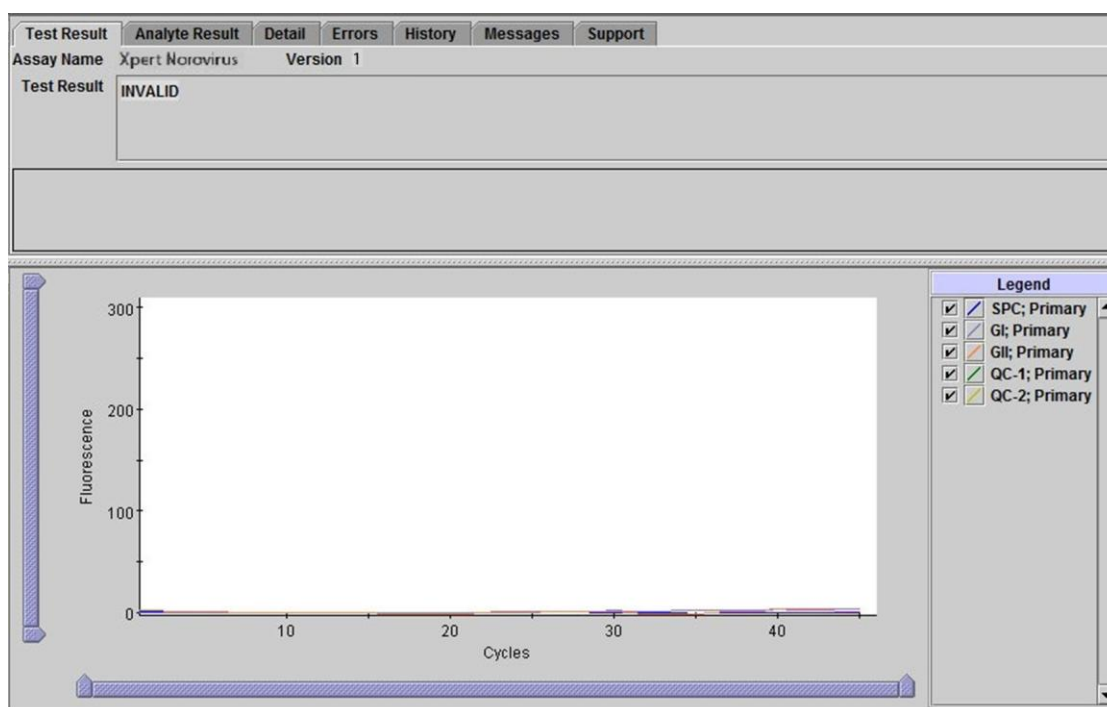
Obrázek 4. Norovirus GI nezjištěn; norovirus GII zjištěn



Obrázek 5. Zjištěn norovirus GI; zjištěn norovirus GII



Obrázek 6. Norovirus GI nedetekován; norovirus GII nedetekován



Obrázek 7. INVALIDNÍ

17 Opakované testy

17.1 Důvody pro opakování testu

Pokud se objeví některý z níže uvedených výsledků testu, opakujte test podle pokynů v části 17.2. Postup opakování zkoušky.

- Výsledek **INVALID** znamená, že SPC selhalo. Vzorek nebyl správně zpracován, PCR je inhibována nebo vzorek nebyl správně odebrán.
- Výsledek **ERROR** může být mimo jiné způsoben selháním kontroly sondy nebo překročením maximálních limitů tlaku.
- Výsledek **NO RESULT** znamená, že nebyl shromážděn dostatek údajů. Například obsluha zastavila probíhající test nebo došlo k výpadku napájení.

17.2 Postup opakování testu

Při opakovaném testování vzorků s výsledkem **INVALID**, **ERROR** nebo **NO RESULT** použijte novou kazetu (kazetu nepoužívejte opakovaně) a novou lahvičku se vzorkovacím činidlem.

1. Vyjměte kazetu a lahvičku se vzorkovacím činidlem ze soupravy Xpert Norovirus.
2. Po sejmutí uzávěru z lahvičky se vzorkovacím činidlem krátce ponořte tampon do nezformovaného vzorku stolice. Správné množství vzorku, které má být použito pro test Xpert Norovirus, viz obrázek 8.

Pozn

Omotejte sterilní gázu kolem držadla tamponu i hrdla lahvičky, abyste minimalizovali riziko kontaminace. Nepokrývejte celý vláknitý konec tamponu stolicí. Viz obrázek 8. Příliš mnoho stolice může vést k chybám nebo neplatným výsledkům.



Obrázek 8. Odběr vzorku na tampon

- Po sejmutí uzávěru z lahvičky se vzorkovacím činidlem vložte tampon se vzorkem stolice do lahvičky obsahující vzorkovací činidlo.
- Držte tampon za držadlo poblíž okraje lahvičky. Zvedněte tampon několik milimetrů ode dna lahvičky a zatlačte držadlem o okraj lahvičky, abyste ho zlomili. Ujistěte se, že je tampon dostatečně krátký, aby šlo víčko pevně uzavřít.
- Uzavřete uzávěr lahvičky se vzorkovacím činidlem a deset sekund vortexujte vysokou rychlostí.
- Otevřete víčko kazety. Pomocí čisté přenosové pipety (není součástí dodávky) přeneste celý obsah vzorkovacího činidla do vzorkovací komory testovací kazety Xpert Norovirus.
- Zavřete víko kazety a do 30 minut spusťte test.

18 Omezení

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Výkonnost testu Xpert Norovirus byla ověřena pouze pomocí postupů uvedených v této příručce.
- Modifikace těchto postupů může změnit výkonnost testu. Výsledky testu Xpert Norovirus by měly být interpretovány ve spojení s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- K chybným výsledkům testu může dojít v důsledku nesprávného odběru, manipulace nebo skladování vzorku, záměny vzorku nebo proto, že počet organismů ve vzorku je pod limitem detekce testu. Aby se předešlo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat pokyny uvedené v této příručce.
- U surových nebo nekonzervovaných vzorků stolice může být pozorována interference testu v přítomnosti siranu barnatého ($\geq 1\%$ w/w) a chloridu benzalkonia ve všech testovaných koncentracích (1% w/v, $0,2\%$ w/v a $0,04\%$ w/v).
- Mutace nebo polymorfismy ve vazebných oblastech primerů nebo sond mohou ovlivnit detekci nových nebo neznámých variant noroviru, což může vést k falešně negativnímu výsledku.
- V případě smíšené norovirové infekce GI a GII, kdy titr jedné genoskupiny má vyšší titr než druhá genoskupina, bude genoskupina s vyšším titrem z obou infekcí hlášena jako detekovaná; genoskupina s nižším titrem může být hlášena jako nedetekovaná.

19 Očekávané hodnoty

Do klinické studie testu Xpert Norovirus bylo zahrnuto celkem 914 prospektivně odebraných čerstvých, nezpracovaných nebo nekonzervovaných vzorků stolice ze sedmi studijních center. Počet a procento pozitivních případů na noroviry GI a noroviry GII, vypočtené podle věkových skupin, jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2. Pozorovaná prevalence GI a GII podle věkových skupin

Věk (v letech)	Počet pozitivních případů GI	Pozorovaná prevalence GI %	Počet pozitivních GII	Pozorovaná prevalence GII %
0-1	0/8	0	0/8	0
>1-5	1/6	16.7	0/6	0
>5-12	0/10	0	1/10	10.0
>12-21	0/29	0	3/29	10.3
>21-65	9/520	1.7	35/520	6.7

Věk (v letech)	Počet pozitivních GI	Pozorovaná prevalence GI %	Počet pozitivních GII	Pozorovaná prevalence GII %
>65	6/341	1.8	35/341	10.3
Celkem	16/914	1.8	74/914	8.1

20 Výkonnostní charakteristiky

20.1 Klinická výkonnost

Výkonnostní charakteristiky testu Xpert Norovirus byly hodnoceny v sedmi institucích v USA a v EU. Studijní vzorky se skládaly ze surových nebo nekonzervovaných neformovaných vzorků stolice od subjektů s příznaky akutní gastroenteritidy. Výkonnost testu Xpert Norovirus byla porovnána se složenou referenční testovací metodou prováděnou v Centru pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC; Atlanta, GA, USA).

Celkem bylo testováno 1403 vzorků na přítomnost noroviru GI pomocí testu Xpert Norovirus a složeného referenčního testu. Ze 1403 vzorků bylo 914 čerstvých, prospektivně odebraných vzorků a 489 zmrazených, archivovaných vzorků. Celkem 1401 vzorků bylo testováno na norovirus GII pomocí testu Xpert Norovirus a složeného referenčního testu. Ze 1401 vzorků bylo 914 čerstvých, prospektivně odebraných vzorků a 487 vzorků bylo zmrazených, archivovaných.

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

U zmrazených archivovaných vzorků prokázal test Xpert Norovirus 98,1 % PPA a 94,6 % NPA pro detekci noroviru GI v porovnání se složeným referenčním testem (tabulka 5). Test Xpert Norovirus prokázal 100% PPA a 96,8% NPA pro detekci noroviru GII (tabulka 6).

Tabulka 3. Výkonnost testu Xpert Norovirus pro GI oproti složenému referenčnímu testu - čerstvé vzorky

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

Tabulka 4. Výkonnost testu Xpert Norovirus pro GII vs. složený referenční test - čerstvé vzorky

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

Tabulka 5. Výkonnost testu Xpert Norovirus pro GI vs. složený referenční test - zmrazené vzorky

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

Tabulka 6. Výkonnost testu Xpert Norovirus pro GII vs. složený referenční test - zmrazené vzorky

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

21 Analytická výkonnost

21.1 Analytická citlivost (limit detekce)

Studie limitu detekce (LoD) byla provedena za účelem vyhodnocení analytické citlivosti testu Xpert Norovirus s pozitivními vzorky klinické stolice obsahujícími norovirus GI.3 nebo norovirus GII.4 zředěnými do směsné negativní matrice stolice. LoD je definována jako nejnižší koncentrace (kopie/ml) ve vzorku, kterou lze s 95% spolehlivostí reprodukovatelně odlišit od negativních vzorků. Bylo vyhodnoceno nejméně 23 replikátů v sedmi koncentracích pro norovirus GI.3 a norovirus GII.4 a LoD byly odhadnuty probitovou analýzou. Odhadované LoD byly potvrzeny testováním nejméně 20 replikovaných vzorků s virem zředěným na odhadované LoD koncentrace.

Bodové odhady LoD a potvrzené LoD pro každou testovanou genoskupinu jsou shrnuty v tabulce 7.

Tabulka 7. Mez detekce testu Xpert Norovirus

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

21.2 Analytická specifita (křížová reaktivita)

Analytická specifita testu Xpert Norovirus byla hodnocena testováním panelu 68 organismů, který se skládal z 54 bakterií, 1 plísň, 9 virů a 4 parazitů představujících běžné patogeny gastroenteritidy nebo ty, které se mohou vyskytovat ve stolici. Byly testovány minimálně tři repliky všech bakteriálních a plísňových kmenů v koncentracích $\geq 10^6$ CFU/ml. Minimálně tři replikáty všech virů byly testovány v koncentracích $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml s výjimkou dvou virů získaných z klinických vzorků s neznámými koncentracemi. Minimálně tři replikáty všech parazitů byly testovány při koncentracích $\geq 10^6$ kopií/ml. Všechny testované organismy byly testem Xpert Norovirus správně hlášeny jako **NORO GI NEDETEKTOVÁNO**; **NORO GII NEDETEKTOVÁNO**. Analytická specifita byla 100 %. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 8.

Tabulka 8. Analytická specifita testu Xpert Norovirus

Organismus	ID kmene	Koncentrace
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	$>3,0 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	$6,7 \times 10^8$ CFU/ml
<i>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>Clostridioides 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
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	$4,5 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichiacoli</i> O157:H7	ATCC 43888	$8,4 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i> O26:H11	CDC 033014	$7,4 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i> O45:H2	CDC 003039	$3,3 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i> O103:H11	CDC 063008	$5,4 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i> O11	CDC 201114	$6,9 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i> O121	CDC 023211	$1,4 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i> O145	CDC 993311	$7,1 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	$1,5 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ^a	ATCC 31647	$9,6 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	$1,5 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	$1,2 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	$4,0 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	$1,2 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	$1,8 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	$1,3 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	CCUG 7835	$1,5 \times 10^9$ CFU/ml
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	$3,1 \times 10^8$ CFU/ml
<i>Prevotella oralis</i> ^a	ATCC 33269	$1,2 \times 10^9$ CFU/ml

Organismus	ID kmene	Koncentrace
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	>3,0 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1,2 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 x 10 ⁹ CFU/ml
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	>3,0 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	>3,0 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATCC 12386	9,6 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	7,2 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,5 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	5,2 x 10 ⁹ kopii/ m L
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	3,8 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	7,1 x 10 ⁸ CFU/ml
<i>Adenovirus</i>	Typ 31	3,6 x 10 ⁵ TCID50/ml
<i>Adenovirus</i>	Typ 40	2,8 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Adenovirus</i>	Typ 41	4,6 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Astrovirus</i> ^c	–	Neuplatňuje se ^d
<i>Coxsackievirus</i>	Typ B5	1,4 x 10 ⁵ TCID50/ml
<i>Echovirus</i>	11	3,3 x 10 ⁹ TCID50/ml
<i>Parechovirus</i>	Typ 6	1,9 x 10 ⁷ TCID50/ml
<i>Rotavirus</i>	Typ Wa	1,0 x 10 ⁶ TCID50/ml
<i>Sapovirus</i> ^c	–	Neuplatňuje se ^e
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	>3,0 x 10 ⁷ CFU/ml
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	BT1	1,0 x 10 ⁹ kopii/ml
<i>Cryptosporidium parvum</i> ^b	Iowa	6,1 x 10 ⁹ kopii/ml
<i>Giardia lamblia</i> ^b	Portland-1	3,05 x 10 ⁹ kopii/ml

Organismus	ID kmene	Koncentrace
<i>Entamoeba histolytica</i> ^b	ATCC 30459D	4,9 x 10 ⁶ kopií/ml

^a Přísně anaerobní bakterie.

^b Testováno jako genomová DNA.

^c Klinický vzorek.

^d Koncentrace není známa u klinických vzorků Astroviru, které byly získány z KUL; hodnoty Ct podle testu KUL se pohybovaly v rozmezí 12-27.

^e Koncentrace není známa u klinických vzorků Sapovirus, které byly získány z KUL; hodnoty Ct podle testu KUL byly v rozmezí 19-23.

21.3 Analytická reaktivita (inkluzivita)

Analytická reaktivita testu Xpert Norovirus byla hodnocena proti jednatřiceti genotypům reprezentujícím obě genové skupiny norovirů (GI a GII). Třicet jedna kmenů norovirů hodnocených v této studii bylo testováno v blízkosti koncentrace LoD testu (tabulka 9). Pro každý kmen byly testovány tři opakování.

Tabulka 9. Výsledky analytické reaktivity testu Xpert Norovirus

Kmen noroviru	Odhadovaná koncentrace (kopie/ml) ^(a)	Výsledek	
		GI	GI
GI.1	9.0 x 10 ⁶	POS	NEG
GI.2	3.7 x 10 ⁸	POS	NEG
GI.3	1.4 x 10 ⁶	POS	NEG
GI.4	1.0 x 10 ⁵	POS	NEG
GI. ^{5b)}	2.5 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.6 ^b	2.5 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.7 ^b	2.5 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.8	3.7 x 10 ⁵	POS	NEG
GI.14	3.0 x 10 ⁶	POS	NEG
GII.1	3.6 x 10 ⁶	NEG	POS
GII.2	1.1 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.3 ^{b)}	1.3 x 10 ³	NEG	POS
GII.4 (2006a)	1.2 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.4 (2006b)	2.4 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.4 (2008)	4.3 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.4 (2009) New Orleans	1.7 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.4 (2010)	9.6 x 10 ⁴	NEG	POS
GII.4 (2012) Sydney	1.2 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.5 ^b	1.3 x 10 ³	NEG	POS
GII.6 ^b	1.3 x 10 ³	NEG	POS
GII.7	8.0 x 10 ⁴	NEG	POS

Kmen noroviru	Odhadovaná koncentrace (kopie/ml) ^(a)	Výsledek	
		GI	GII
GII.8 ^{b)}	1.3 x 10 ³	NEG	POS
GII.9b ⁾	1.3 x 10 ³	NEG	POS
GII.10 ^{b)}	1.3 x 10 ³	NEG	POS
GII.11	2.6 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.12	5.7 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.13	6.9 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.14	1.5 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.15	1.7 x 10 ⁵	NEG	POS
GII.16 ^{b)}	1.3 x 10 ³	NEG	POS
GII.17 ^{b)}	1.3 x 10 ³	NEG	POS

^a Byla uvedena odhadovaná koncentrace nebo titr na základě hodnoty Ct (vzhledem k obtížnosti kultivace částic noroviru nelze uvést přesnou koncentraci). Hodnota Ct pro každý klinický vzorek ve studii inkuzivity byla extrapolována na titr získaný ze studie LoD pro dobře charakterizované vzorky GI a GII pomocí standardní křivky CDC.

^b Pro tyto kmény byly použity přepisy čisté, neobalené RNA molekuly, klinické vzorky nebyly v době testování k dispozici.

21.4 Studie interferujících látek

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

Negativní vzorky byly testovány v 8 opakováních s každou látkou v negativní matici stolice, aby se zjistil vliv na výkonnost kontroly zpracování vzorku (SPC). Pozitivní vzorky byly testovány v opakováních po 8 vzorcích pro každou látku s jedním klinickým izolátem noroviru GI a jedním klinickým izolátem noroviru GII v blízkosti LoD.

Všechny výsledky byly porovnány s pozitivními a negativními kontrolami připravenými v negativní matici stolice. Všechny platné pozitivní a negativní kontrolní vzorky byly správně zaznamenány pomocí testu Xpert Norovirus.

Inhibice testu Xpert Norovirus byla pozorována v přítomnosti chloridu benzalkonia (1 % w/v, 0,2 % w/v a 0,04 % w/v). U cílového testu na norovirus GII byly zaznamenány falešně negativní výsledky při použití (1 % w/v) benzalkoniumchloridu. V přítomnosti síranu barnatého (5 % w/w) byl pozorován statisticky významný inhibiční účinek na Ct Norovirus GII u pozitivních vzorků ve srovnání s kontrolou (p-hodnota <0,05). V přítomnosti síranu barnatého (1 % w/w) nebyl pozorován žádný statisticky významný účinek na Ct noroviru GII vzhledem ke kontrole.

Nebyl zjištěn inhibiční účinek žádných dalších potenciálních interferujících látek a nebyly zaznamenány žádné falešně negativní výsledky pro tyto látky.

Tabulka 10. Potenciálně interferující látky v testu Xpert Norovirus

Endogenní látky		
Látka	Popis / účinná látka	Testovaná koncentrace
Cholesterol	Fekální tuk / cholesterol	5 % w/v
Hemoglobin	Hemoglobin lidský	12,5 % hm.
Mucin	purifikovaný protein mucin	5 % hm.
Kyselina sterová/kyselina palmitová (1:1)	Mastné kyseliny/kyselina sterová, kyselina palmitová	5 % hm.

Endogenní látky		
Triglyceridy	Směs fekálního tuku a triglyceridů	5 % hm.
Plná krev	Lidská plná krev	10 % v/v
Exogenní látky		
Látka	Popis /účinná látka	Testovaná koncentrace
Paracetamol	Paracetamol	5 % m/V
Amoxicilin	Antibiotikum/Amoxicilin	5 % m/V
Ampicilin	Sodná sůl ampicilinu	152 µmol/l
Aspartam	Aspartam	5 % w/v
Síran barnatý	Kontrastní látka/síranatan barnatý	5 % hm., 1 % hm.
Benzalkoniumchlorid Komerční alkohol	Antiseptické ubrousky/ Benzalkonium chlorid v ethanolu	1 %, 0,2 %, 0,04 % w/v
Bismut subsalicylát	Subsalicylát vizmutu (III) (aktivní složka Peptobismolu)	1 % m/V
CaCO ₃	Uhličitan vápenatý	5 % hm.
Hydrokortizon	Hydrokortizon	50 % m/V
Ibuprofen	Ibuprofen	5 % w/v
Imodium	Loperamid HCl	5 % obj.
Kaopektát	Attapulgate	5 mg/ml
Metronidazol	Metronidazol	5 % w/v
Mycostatin	Nystatin	50 % hm.
Naprosyn	Naproxen sodný	2,2 µmol/ml
Novaluzid	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ a MgCO ₃	5 % w/v
Polymyxin B sulfát Bacitracin zinek	Polysporin/Polymyxin B sulfát a Bacitracin zinek	50 % m/V
Pursennid	Sennaglykosidy	5 % m/V
Rexall Minerální olejové projímadlo	Minerální olej	50 % obj.

21.5 Studie kontaminace přeneseným znečištěním

Byla provedena studie, která prokázala, že jednorázové samostatné kazety GeneXpert zabraňují kontaminaci přenosem u negativních vzorků, po nichž následují velmi pozitivní vzorky ve stejném modulu GeneXpert. Studie se skládala z negativního vzorku zpracovaného ve stejném modulu GeneXpert bezprostředně po vysoce pozitivním vzorku Norovirus GII. Toto testovací schéma bylo opakováno 21krát mezi dvěma moduly GeneXpert pro celkem 42 běhů pro 20 pozitivních a 22 negativních vzorků. Všechny 19 pozitivních vzorků bylo správně hlášeno jako **NORO GI NEDETEKOVÁNO**; **NORO GII DETEKOVÁNO** a jeden pozitivní vzorek byl hlášen jako **ERROR**. Všechny 22 negativních vzorků bylo správně hlášeno jako **NORO GI NEDETEKOVÁNO**; **NORO GII NEDETEKOVÁNO**.

22 Reprodukovatelnost

Panel 7 vzorků s různou koncentrací noroviru GI a noroviru GII byl testován dvakrát v pěti různých dnech dvěma různými operátory na každém ze tří pracovišť (7 vzorků x 2 časy/den x 5 dní x 2 operátoři x 3 pracoviště). Na každém ze tří testovacích míst byla použita jedna šarže testovacích kazet Xpert Norovirus. Test Xpert Norovirus byl proveden podle postupu testu Xpert Norovirus. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 11.

Tabulka 11. Souhrn výsledků reprodukovatelnosti

ID vzorku	Místo 1	Místo 2	Místo 3	Celkově
Negativní	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
GI - vysoká negativita	30.0% (6/20)	15.0% (3/20)	30.0% (6/20)	25.0% (15/60)
GI - nízká poz	100% (20/20)	85.0% (17/20)	95.0% (19/20)	93.3% (56/60)
GI – střední poz	100% (19/19)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (59/59) ^(a)
GII - vysoká neg	25.0% (5/20)	30.0% (6/20)	35.0% (7/20)	30.0% (18/60)
GII - nízká poz	100% (20/20)	95.0% (19/20)	90.0% (18/20)	95.0% (57/60)
GII – střední poz	95.0% (19/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	98.3% (59/60)

^a Jeden vzorek 2x neurčitý

Reprodukovatelnost testu Xpert Norovirus byla rovněž hodnocena z hlediska fluorescenčního signálu vyjádřeného v hodnotách Ct pro každý detekovaný cíl. Průměr, směrodatná odchylka (SD) a variační koeficient (CV) mezi jednotlivými místy, mezi jednotlivými dny a mezi jednotlivými operátory pro každého člena panelu jsou uvedeny v tabulce 12.

Tabulka 12. Souhrn údajů o reprodukovatelnosti

Vzorek	Kanalál analýzy (analyt)	N ^a	Průměrná Ct	Mezi lokalitami		Mezi dny		Mezi operátory		V rámci testu		Celkem	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg	SPC	60	31.9	0.17	0.5	0.06	0.2	0.06	0.2	0.26	0.8	0.32	1.0
GI - Vysoká Negativita	GI	60	39.4	0	0	0.46	1.2	0	0	1.80	4.6	1.86	4.7
GI - Nízká Pozitivita	GI	59	37.9	0.29	0.8	0	0	0.36	1.0	1.03	2.7	1.13	3.0
GI - Střední Poz	GI	57	34.7	0.09	0.2	0.07	0.2	0	0	0.41	1.2	1.01	1.2
GII - Vysoká Neg	GII	54	38.9	0	0	0	0	0.77	2.0	1.77	4.5	1.93	5.0
GII - Nízká Poz	GII	60	37.3	0	0	0	0	0.58	1.6	1.33	3.6	1.45	3.9
GII - Střední Poz	GII	59	34.3	0.22	0.6	0	0	0	0	0.45	1.3	0.50	1.5

^a Výsledky s nenulovými hodnotami Ct z 60

^b n=3 odlehlé vzorky (2 GI střední Poz a 1 GII střední Poz), které byly více než 5 směrodatných odchylek od průměru, byly považovány za odlehlé hodnoty a byly z analýzy odstraněny.

23 Přesnost přístrojového systému

Byla provedena interní studie přesnosti s cílem porovnat výkonnost přístrojových systémů GeneXpert Dx a GeneXpert Infinity. Panel 7 vzorků s různými koncentracemi noroviru GI a noroviru GII byl testován ve 12 různých dnech dvěma operátory. Každý operátor provedl čtyři testy každého panelu vzorků za den na každém ze dvou přístrojů. (7 vzorků x 4krát denně x 12 dní x 2 operátory x 2 přístrojové systémy). Pro studii byly použity tři šarže testovacích kazet Xpert Norovirus. Test Xpert Norovirus byl proveden podle postupu Xpert Norovirus. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 13.

Tabulka 13. Souhrn výsledků přesnosti přístrojového systému (Dx vs. Infinity)

Vzorek	GeneXpert Dx			Infinity			% Celková shoda podle vzorku
	Op 1	Op 2	Inst	Op 1	Op 2	Inst	
Negativní	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (192/192)
GI – vysoká negativita	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 - nízká pozitivita	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 – střední poz	100% ^(a) (47/47)	100% (48/48)	100% (95/95)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (191/191)
GII - vysoká 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 - nízká 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)
GII – střední poz	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (48/48)	100% ^(b) (47/47)	100% (95/95)	100% (191/191)

^a Jeden vzorek GI střední poz nebyl testován.

^b Jeden vzorek GII střední poz neurčitý a netestovaný.

Přesnost testu Xpert Norovirus byla rovněž hodnocena z hlediska fluorescenčního signálu vyjádřeného v hodnotách Ct pro každý detekovaný cíl. Průměr, směrodatná odchylka (SD) a variační koeficient (CV) mezi přístroji, mezi šaržemi, mezi dny, mezi operátory a v rámci testů pro každého člena panelu jsou uvedeny v tabulce 14.

Tabulka 14. Souhrn údajů o přesnosti

Vzorek	Analytický kanál (analyt)	N ^a	Průměrné Ct	Mezi přístroji		Mezi šaržemi		Mezi dny		Mezi operátory		V rámci testu		Celkem	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Neg	SPC	192	31.8	0	0	0.44	1.4	0	0	0.08	0.2	0.39	1.2	0.59	1.9
GI - vysoká negativita	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 - nízká pozitivita	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 – střední pozitivita	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 - vysoká 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 - nízká 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

Vzorek	Analytický kanál (analýt)	N ^a	Průměrné Ct	Mezi přístroji		Mezi šaržemi		Mezi dny		Mezi operátory		V rámci testu		Celkem	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
GII - Střední 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 Výsledky s nenulovými hodnotami Ct ze 192.

24 Odkazy

- 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.
- Mead PS, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(5):607-625.
- 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.
- Johnston CP, et al. Outbreak management and implications of a nosocomial Norovirus outbreak. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(5):534-540.
- 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.
- 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.
- Straub TM, et al. In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Inf Dis.* 2007; 13(3): 396-403.
- CDC. Updated Norovirus Outbreak Management and Disease Prevention Guidelines. *MMWR Recomm Rep.* 2011; 60(No. RR-3):1-15.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (refer to latest edition, available at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition, available at <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
- 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 1907/2007).
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

25 Sídla společnosti Cepheid

Sídlo společnosti

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Evropské ústředí

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francie

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

26 Technická pomoc

Než se obrátíte na technickou podporu společnosti Cepheid, shromážděte následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo
- Chybová hlášení (pokud existují)
- verzi softwaru a případně číslo servisního štítku počítače

Nahlásit závažné incidenty spojené s testem společnosti Cepheid a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém k závažnému incidentu došlo.

Technická podpora ve Spojených státech

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

Technická podpora Francie

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

Kontaktní informace na všechny pobočky technické podpory společnosti Cepheid jsou k dispozici na našich webových stránkách: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

27 Tabulka symbolů

Symbol	Význam
	Katalogové číslo
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Nepoužívat opakovaně
	Kód šarže
	Konzultujte návod k použití
	Upozornění
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro n testů
	Kontrola
	Datum expirace
	Označení CE - evropská shoda
	Omezení teploty
	Biologická rizika
	Varování
	Autorizovaný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Švédsko



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



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



28 Historie revizí

Oddíl	Popis změny
Tabulka symbolů	Do tabulky symbolů byly přidány symboly a definice CH REP a Importér. Přidány informace o CH REP a Importér s adresou Švýcarska.
Historie revizí	Aktualizována tabulka historie revizí.