

Xpert[®] Norovirus

REF GXNOV-10

For Information Only - Not A Controlled Copy



Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], Xpert[®], and Xpertise[™] are trademarks of Cepheid.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

NATtrol[™] is a trademark of ZeptoMetrix Corporation.

Armored RNA[®] is a registered trademark of Asuragen, Inc.

Licensed under U.S. Patent Nos. 7,202,032 and 7,351,819 and counterpart patents worldwide.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © Cepheid 2019. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], Xpert[®], e Xpertise[™] são marcas comerciais da Cepheid.

Windows[®] é uma marca comercial da Microsoft Corporation.

NATtrol[™] é uma marca comercial da ZeptoMetrix Corporation.

Armored RNA[®] é uma marca registada da Asuragen, Inc.

Licenciado ao abrigo das Patentes EUA com os Números 7,202,032 e 7,351,819 e patentes correspondentes no mundo.

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

Copyright © Cepheid 2019. Todos os direitos reservados.



Cepheid

904 Caribbean Drive

Sunnyvale, CA 94089

USA

Xpert[®] Norovirus

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.



1 Nome sujeito a direito de propriedade

Xpert[®] Norovirus

2 Nome comum ou usual

Xpert Norovirus Assay

3 Utilização prevista

O Xpert Norovirus Assay da Cepheid, realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert[®], é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo para a identificação e diferenciação do ARN do norovírus genogrupo I e genogrupo II de amostras fecais frescas ou não formadas e não conservadas colhidas em indivíduos com sintomas de gastroenterite aguda. O teste utiliza a transcriptase reversa da reacção em cadeia da polimerase (RT-PCR) automática em tempo real para detectar o ARN do norovírus. O Xpert Norovirus Assay destina-se a auxiliar no diagnóstico de infecções por norovírus quando utilizado em conjunto com a avaliação clínica, os resultados laboratoriais e a informação epidemiológica. O ensaio também auxilia na detecção e identificação de infecções por norovírus em contexto de surtos.

4 Resumo e explicação

Os norovírus são vírus ARN de cadeia simples, não encapsulados, do género *Norovirus*, família *Caliciviridae*, que causam gastroenterite aguda em seres humanos e em outros mamíferos. O norovírus protótipo foi identificado pela primeira vez como a causa de um surto de gastroenterite em Norwalk, Ohio, em 1968.¹ Estima-se que o norovírus possa ser o agente causador de mais de 23 milhões de casos anuais de gastroenterite nos Estados Unidos, representando aproximadamente 60% de todos os casos de gastroenterite aguda.² Os norovírus podem ser identificados em cinco genogrupos diferentes, dos quais o genogrupo I (GI) e o genogrupo II (GII) causam a maioria das infecções em seres humanos.

Os norovírus são uma causa importante de gastroenterite a nível mundial. Afectam todas as faixas etárias e estão frequentemente envolvidos em surtos em instalações comunitárias, como lares, hospitais, creches, prisões, e navios de cruzeiro.³⁻⁶ Os sintomas da infecção por norovírus são normalmente diarreia, vómitos, câibras no estômago, náuseas, e febre. A doença é normalmente de resolução espontânea e os sinais e sintomas podem perdurar por vários dias. Nos jovens, idosos, e doentes imunocomprometidos, a doença pode ser potencialmente mortal devido a desidratação. Os nomes frequentes associados à gastroenterite por norovírus são: doença de vómitos do Inverno, gripe estomacal, gastroenterite não bacteriana aguda, e gastroenterite viral. A cultura de norovírus só pode ser feita em sistemas de cultura celular muito especializados.⁷ Pode usar-se microscopia electrónica para visualizar directamente norovírus em amostras fecais, mas apresenta fraca sensibilidade.⁸

Os imunoenaios enzimáticos (EIA) disponíveis no mercado demonstraram ser úteis em situações de surtos de norovírus. Contudo, devido a baixa sensibilidade do ensaio, os EIA disponíveis no mercado são úteis apenas quando a prevalência de infecção por norovírus é elevada. Além disso, as orientações actuais dos CDC recomendam que todos os resultados negativos dos EIA sejam confirmados por métodos moleculares.⁸ Os EIA actualmente disponíveis são conhecidos como tendo baixa sensibilidade (36%-80%) comparados com os métodos RT-PCR e uma baixa a boa especificidade (47%-100%) dependendo do ambiente dos testes.⁹⁻¹⁵ Na Europa e no Japão, onde existem ensaios moleculares disponíveis comercialmente, são necessários técnicos de biologia molecular altamente qualificados para os ensaios e, pela forma com que os ensaios foram concebidos, torna-se necessário realizar os testes em lotes, o que dá origem a atrasos nos relatórios. Ao abrigo das actuais orientações dos CDC, recomenda-se que os prestadores de cuidados de saúde ponderem o desenvolvimento e adopção de políticas para as instalações para possibilitar a confirmação clínica e virológica de casos suspeitos de infecção sintomática por norovírus, implementando simultaneamente medidas de controlo imediato para reduzir a magnitude de um potencial surto de norovírus.¹⁶ O Xpert Norovirus Assay disponibiliza um teste molecular sob pedido, rápido e preciso para facilitar a confirmação e iniciar medidas imediatas de controlo do norovírus, independentemente da taxa de prevalência.

5 Princípio do procedimento

O teste é automático e utiliza transcriptase reversa da cadeia de reacção da polimerase (RT-PCR) em tempo real para detectar seqüências de genes virais específicas associadas ao norovírus genogrupo I e genogrupo II. As amostras fecais são colhidas em indivíduos com sintomas de gastroenterite aguda e transportadas para o laboratório num recipiente limpo. É inserida uma zaragatoa na amostra fecal, a qual é depois colocada num tubo que contenha reagente da amostra. Após uma breve agitação no agitador de vórtice, a amostra eluída é transferida para a câmara da amostra do cartucho de fluidos descartável (o cartucho GeneXpert). O cartucho GeneXpert é carregado na plataforma do sistema do instrumento GeneXpert, o qual realiza o processamento da amostra automático e sem intervenção humana e RT-PCR em tempo real para a detecção e diferenciação do genogrupo I e genogrupo II do norovírus.

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

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

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit do Xpert Norovirus Assay contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 amostras ou amostras para controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Xpert Norovirus Assay cartuchos com tubos de reacção integrados	10
• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (secagem por congelamento)	1 de cada por cartucho
• Reagente de eluição	1,5 ml por cartucho
• Reagente de enxaguamento	1,0 ml por cartucho
• Reagente de fixação (tiocianato de guanidina)	2,7 ml por cartucho
Reagente da amostra (tiocianato de guanidina)	10 x 2,0 ml por frasco
CD	1 por kit
• Ficheiro de definição do ensaio (ADF — assay definition file)	
• Instruções para importar o ADF para o software	
• Instruções de utilização (folheto informativo)	

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

Nota A seroalbumina bovina (BSA) presente nas esferas deste produto foi produzida a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminantes nem com qualquer outra proteína animal; os animais passaram em testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

7 Conservação e manuseamento



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

8 Materiais necessários mas não fornecidos

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

9 Materiais disponíveis mas não fornecidos

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

10 Advertências e precauções

10.1 Geral

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Para utilização exclusiva através de prescrição.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados e reagentes, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention¹⁷ e no Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁸
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde). Consulte os técnicos responsáveis pelos resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados.

10.2 Amostra


- Mantenha condições de conservação adequadas durante o transporte de amostras, de modo a assegurar a integridade da amostra (consultar a Secção 12, Colheita, transporte e conservação de amostras). Não foi avaliada a estabilidade da amostra em condições de transporte que não as recomendadas.
- A colheita, conservação e transporte adequados de amostras é essencial para a obtenção de resultados correctos.

10.3 Ensaio/reagente

- Não substitua reagentes do Xpert Norovirus Assay por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do Xpert Norovirus Assay até estar pronto para adicionar uma amostra.
- Não utilize cartuchos que tenham caído após a remoção do kit ou agitados após a abertura da respectiva tampa. Agitar ou deixar cair o cartucho depois da abertura da tampa pode produzir resultados falsos ou indeterminados.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho nem no rótulo do código de barras.

- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- O reagente de amostra é um líquido transparente e incolor. Não utilize o reagente da amostra se este se apresentar turvo ou com alterações de coloração.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reacção danificado.
- ② • Cada cartucho de utilização única do Xpert Norovirus Assay é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- É necessário cumprir as boas práticas de laboratório e trocar as luvas entre o manuseamento de amostras de doentes diferentes para evitar a contaminação quer das amostras, quer dos reagentes. Limpe regularmente as superfícies/áreas de trabalho com lixívia a 10% e volte a limpar a superfície com etanol ou álcool isopropílico a 70% antes e depois de processar amostras para Xpert Norovirus.
- As amostras podem conter níveis elevados de organismos. Garanta que os recipientes das amostras não entram em contacto uns com os outros. A fim de evitar a contaminação de outras amostras, troque de luvas se estas entrarem em contacto directo com a amostra e após o processamento de cada uma delas.

11 Perigos químicos^{19,20}

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

12 Colheita, transporte e conservação de amostras

1. Faça a colheita da amostra fecal fresca ou não conservada e não formada para um recipiente limpo e sem conservantes. Siga as orientações da sua instituição para a colheita de amostras para testes de norovírus.
2. Rotule o recipiente da amostra fecal com o nome do doente e a ID da amostra e envie para o laboratório.
3. Conserve a amostra entre 2 °C e 8 °C. A amostra ficará estável até dois dias quando conservada entre 2 °C e 8 °C.



13 Procedimento

13.1 Preparação do cartucho

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

Para adicionar a amostra ao cartucho:

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

Nota

Envolva a haste da zaragatoa e a abertura do frasco com gaze esterilizada para minimizar o risco de contaminação. Não cubra com fezes toda a ponta de fibra da zaragatoa. Consulte a figura 1. Muita quantidade de fezes pode originar erros ou resultados inválidos.

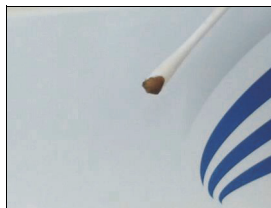
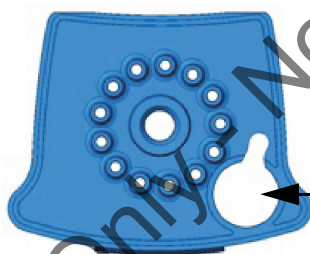
Pouca quantidade de amostra**Quantidade correcta de amostra****Muita quantidade de amostra**

Figura 1. Colheita de amostra na zaragatoa

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



**Câmara da amostra
(Abertura grande)**

Figura 2. Cartucho do Xpert Norovirus Assay (vista superior)

13.2 Iniciar o teste

Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio do Xpert Norovirus Assay foi importado para o software. Esta secção discrimina os passos básicos para realizar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do utilizador do GeneXpert Infinity System*, dependendo do modelo que estiver a utilizar.

Nota

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

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Caso utilize o instrumento GeneXpert Infinity, ligue a alimentação do instrumento. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no software do GeneXpert Instrument System utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do GeneXpert System, clique em **Criar teste (Create Test)** (GeneXpert Dx) ou clique em **Encomendas (Orders)** e em **Encomendar teste (Order Test)** (GeneXpert Infinity). Aparece a janela Criar teste (Create Test).

4. Leia (ou introduza) a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se introduzir a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que introduza a ID do paciente (Patient ID) correcta. A ID do paciente (Patient ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado do teste.
5. Leia (ou introduza) a ID da amostra (Sample ID). Se introduzir a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que introduza a ID da amostra (Sample ID) correcta. A ID da amostra (Sample ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado do teste.
6. Faça a leitura do código de barras no cartucho do Xpert Norovirus Assay. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: Seleccionar ensaio (Select Assay), ID do lote de reagente (Reagent Lot ID), N.º de série do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

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

7. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (GeneXpert Infinity). Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que surge.
8. Para o GeneXpert Infinity System: coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

ou

Para o instrumento GeneXpert Dx:

- A. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- B. Feche a porta. O teste inicia-se e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
- C. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho.
- D. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

14 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina as etapas básicas para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas adicionais sobre a visualização e a impressão dos resultados, consulte o *Manual do operador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do operador do GeneXpert Infinity System*.

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

15 Controlo da qualidade

15.1 Controlos de qualidade integrados

CONTROL

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

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

15.2 Controlos externos

- **Controlos externos:** Podem ser utilizados stocks de rotavírus ZeptoMetrix NATrol (catálogo n.º. NATROTA-6MC) como controlo negativo externo e stocks de norovírus GI ZeptoMetrix NATrol e stocks de norovírus GII ZeptoMetrix NATrol Norovirus (catálogo n.º. NATNOVI-6MC e NATNOVII-6MC) como controlos positivos externos, de acordo com as organizações de acreditação locais, estatais ou federais, conforme aplicável.

16 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados pelos GeneXpert Instrument System através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela View Results (Ver resultados). Os resultados possíveis são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Resultados e interpretação do Xpert Norovirus Assay

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

Tabela 1. Resultados e interpretação do Xpert Norovirus Assay (Continuação)

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

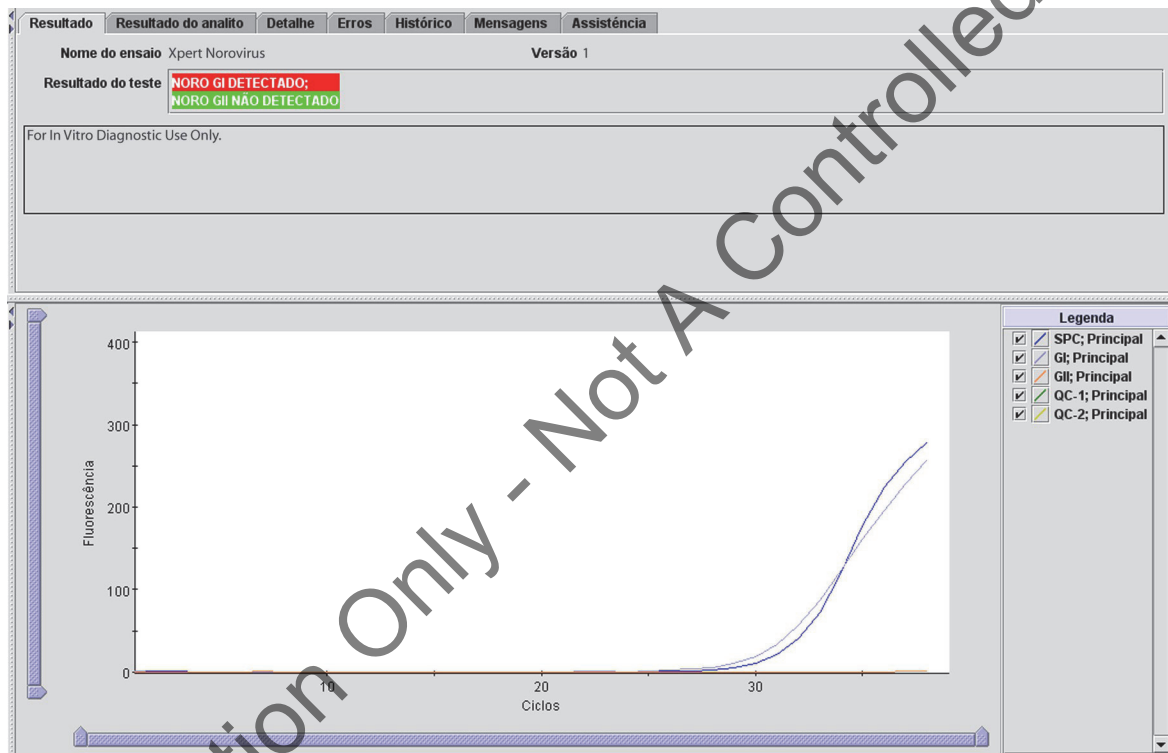


Figura 3. Norovírus GI detectado; Norovírus GII não detectado



Figura 4. Norovírus GI não detectado; Norovírus GII detectado

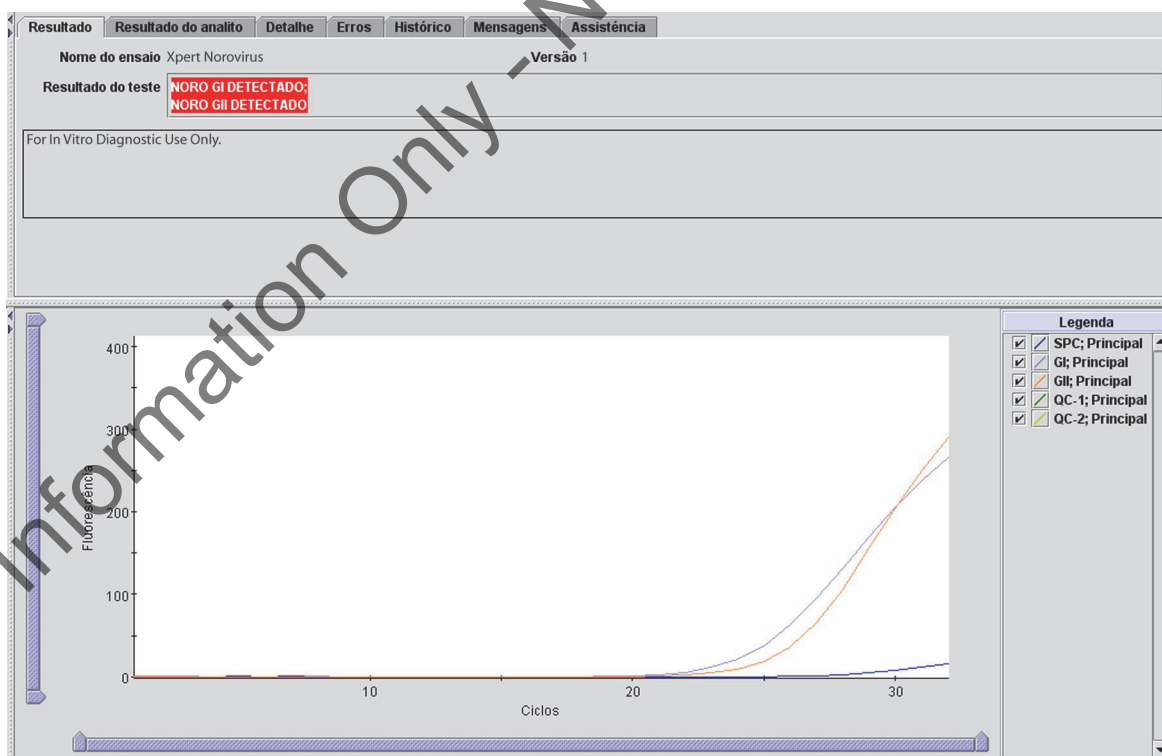


Figura 5. Norovírus GI detectado; Norovírus GII detectado

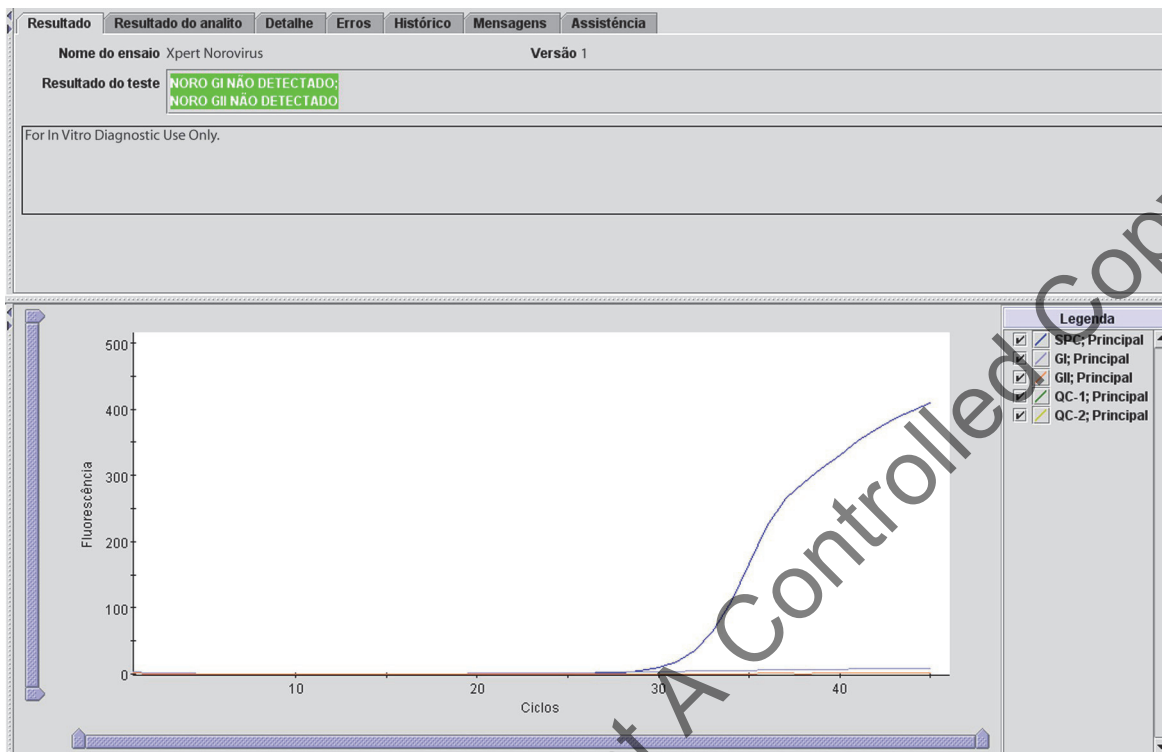


Figura 6. Norovírus GI não detectado, Norovírus GII não detectado

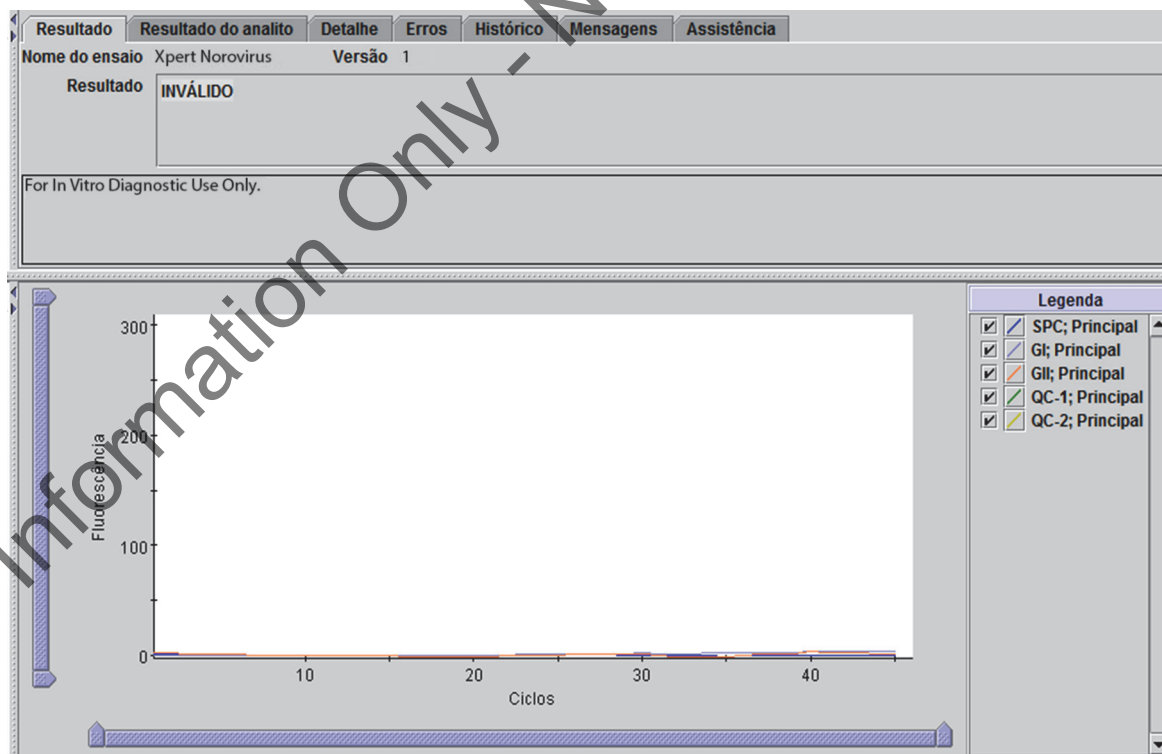


Figura 7. INVÁLIDO

17 Repetição do teste

17.1 Motivos para repetir um ensaio

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

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

17.2 Procedimento de repetição do teste

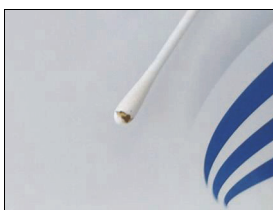
Para repetições do teste de amostras com o resultado **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)**, ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, utilize um novo cartucho (não reutilize o cartucho) e um novo frasco de reagente da amostra.

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

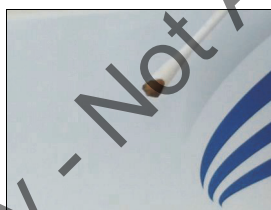
Nota

Envolva a haste da zaragatoa e a abertura do frasco com gaze esterilizada para minimizar o risco de contaminação. Não cubra com fezes toda a ponta de fibra da zaragatoa. Consulte a figura 8. Muita quantidade de fezes pode originar erros ou resultados inválidos.

Pouca quantidade de amostra



Quantidade correcta de amostra



Muita quantidade de amostra



Figura 8. Colheita de amostra na zaragatoa

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

18 Limitações

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- O desempenho do Xpert Norovirus Assay foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo.
- Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste. Os resultados do Xpert Norovirus Assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- Podem ocorrer resultados erróneos devido a incorrecções na recolha, no manuseamento ou no armazenamento da amostra, troca de amostras ou por o número de organismos na amostra ser inferior ao limite de detecção do teste. O cumprimento cuidadoso das instruções deste folheto é necessário para evitar resultados errados.
- Com amostras fecais frescas, não conservadas e não formadas, poderá observar-se interferência no ensaio na presença de sulfato de bário ($\geq 1\%$ p/p) e de cloreto de benzalcónio a todas as concentrações testadas (1% p/v, 0,2%, p/v e 0,04% p/v).

- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador ou da sonda podem afectar a detecção de variantes novas ou desconhecidas de norovírus, originando resultados falsos negativos.
- Na eventualidade de uma infecção mista de Norovirus GI e GII, nos casos em que a titulação de um genogrupo tiver uma titulação mais elevada do que o outro genogrupo, o genogrupo com a titulação mais elevada das duas infecções será reportado como detectado; o genogrupo com a titulação mais baixa pode ser reportado como não detectado.

19 Valores esperados

No estudo clínico do Xpert Norovirus Assay, foram incluídas um total de 914 amostras fecais colhidas prospectivamente, frescas, recentes ou não conservadas e não formadas provenientes de setes centros de estudo. O número e a percentagem de casos positivos de norovírus GI e norovírus GII, calculadas por grupo etário, são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2. Prevalência observada do GI e GII por grupo etário

Idade (anos)	Nº. de GI positivos	Prevalência observada do GI %	Nº. de GII positivos	Prevalência observada do GII %
0-1	0/8	0	0/8	0
>1-5	1/6	16,7	0/6	0
>5-12	0/10	0	1/10	10,0
>12-21	0/29	0	3/29	10,3
>21-65	9/520	1,7	35/520	6,7
>65	6/341	1,8	35/341	10,3
Total	16/914	1,8	74/914	8,1

20 Características do desempenho

20.1 Desempenho clínico

As características de desempenho do Xpert Norovirus Assay foram avaliadas em sete instituições dos EUA e da UE. As amostras do estudo consistiram em amostras fecais frescas, não conservadas e não formadas de indivíduos com sintomas de gastroenterite aguda. O desempenho do Xpert Norovirus Assay foi comparado a um método de teste de referência composto realizado no Centers for Disease Control and Prevention (CDC; Atlanta, GA, US).

Foram testadas no total 1403 amostras para o norovírus GI pelo Xpert Norovirus Assay e o teste de referência composto. Das 1403 amostras, 914 eram frescas e colhidas prospectivamente e 489 eram amostras congeladas e arquivadas. Foram testadas no total 1401 amostras para o norovírus GII pelo Xpert Norovirus Assay e o teste de referência composto. Das 1401 amostras, 914 eram frescas e colhidas prospectivamente e 487 eram amostras congeladas e arquivadas.

Em amostras frescas, colhidas prospectivamente, o Xpert Norovirus Assay demonstrou 100% PPA e 99,6% NPA para a detecção do norovírus GI relativamente ao teste de referência composto (tabela 3). O Xpert Norovirus Assay demonstrou um PPA de 98,5% e um NPA de 98,8% para a detecção do norovírus GII (tabela 4).

Em amostras congeladas e arquivadas, o Xpert Norovirus Assay demonstrou um PPA de 98,1% e um NPA de 94,6% para a detecção do norovírus GI, relativamente ao teste de referência composto (tabela 5). O Xpert Norovirus Assay demonstrou um PPA de 100% PPA e um NPA de 96,8% para a detecção do norovírus GII (tabela 6).

Tabela 3. Xpert Norovirus Assay – Desempenho para o GI vs. Teste de referência composto – amostras frescas

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

Tabela 4. Xpert Norovirus Assay – Desempenho para o GII vs. Teste de referência composto – amostras frescas

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

Tabela 5. Xpert Norovirus Assay – Desempenho para o GI vs. Teste de referência composto – amostras congeladas

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

Tabela 6. Xpert Norovirus Assay – Desempenho para o GII vs. Teste de referência composto – amostras congeladas

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

21 Desempenho analítico

21.1 Sensibilidade analítica (Limite de detecção)

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

As estimativas do LD e os LD confirmados para cada genótipo testado encontram-se resumidas na tabela 7.

Tabela 7. Limite de detecção do Xpert Norovirus Assay

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

21.2 Especificidade analítica (reactividade cruzada)

A especificidade analítica do Xpert Norovirus Assay foi avaliada ao testar um painel de 68 organismos, consistindo em 54 bactérias, 1 fungo, 9 vírus e 4 parasitas, representando agentes patogénicos comuns responsáveis por gastroenterite ou os potencialmente encontrados nas fezes. Foram testadas no mínimo três réplicas de todas as estirpes de bactérias e fungos a concentrações $\geq 10^6$ UFC/ml. Foram testadas no mínimo três réplicas de todos os vírus a concentrações $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml, à excepção de dois vírus obtidos de amostras clínicas com concentrações desconhecidas. Foram testadas no mínimo três réplicas de todos os parasitas a concentrações $\geq 10^6$ cópias/ml. Todos os organismos testados foram correctamente reportados como **NORO GI NÃO DETECTADO; NORO GII NÃO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED; NORO GII NOT DETECTED)** pelo Xpert Norovirus Assay. A especificidade analítica foi de 100%. Os resultados são apresentados na tabela 8.

Tabela 8. Especificidade analítica do Xpert Norovirus

Organismo	ID da estirpe	Concentração
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	>3,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	6,7 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Bacterioides fragilis</i> ^a	ATCC 25285	1,4 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43478	1,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	1,3 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	3,4 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	1,5 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Clostridium difficile</i> ^a	ATCC 9689	2,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Clostridium sordelli</i> ^a	DSMZ 2141	2,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Eggerthella lenta</i>	ATCC 43055	>3,0 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 70021	1,0 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	1,0 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	5,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	8,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	4,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichiacoli</i> O157:H7	ATCC 43888	8,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O26:H11	CDC 033014	7,4 x 10 ⁸ UFC/ml

Tabela 8. Especificidade analítica do Xpert Norovirus (Continuação)

Organismo	ID da estirpe	Concentração
<i>Escherichia coli</i> O45:H2	CDC 003039	3,3 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O103:H11	CDC 063008	5,4 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O11	CDC 201114	6,9 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O121	CDC 023211	1,4 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> O145	CDC 993311	7,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	1,5 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ^a	ATCC 31647	9,6 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	1,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	1,2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	4,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	1,2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	1,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1,3 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	CCUG 7835	1,5 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	3,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Prevotella oralis</i> ^a	ATCC 33269	1,2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	>3,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1,2 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 x 10 ⁹ UFC/ml
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	>3,0 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	>3,0 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATCC 12386	9,6 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	7,2 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,5 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	5,2 x 10 ⁹ cópias/μL
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	3,8 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	7,1 x 10 ⁸ UFC/ml
Adenovírus	Tipo 31	3,6 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Adenovírus	Tipo 40	2,8 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /ml
Adenovírus	Tipo 41	4,6 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /ml

Tabela 8. Especificidade analítica do Xpert Norovirus (Continuação)

Organismo	ID da estirpe	Concentração
Astrovírus ^d	--	Não aplicável ^c
Ecovírus	11	3,3 x 10 ⁹ TCID ₅₀ /ml
Parechovírus	Tipo 6	1,9 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /ml
Rotavírus	Tipo Wa	1,0 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
Sapovírus ^d	--	Não aplicável ^e
Vírus Coxsackie	Tipo B5	1,4 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	>3,0 x 10 ⁷ UFC/ml
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	BT1	1,0 x 10 ⁹ cópias/ml
<i>Cryptosporidium parvum</i> ^b	Iowa	6,1 x 10 ⁹ cópias/ml
<i>Giardia lamblia</i> ^b	Portland-1	3,05 x 10 ⁹ cópias/ml
<i>Entamoeba histolytica</i> ^b	ATCC 30459D	4,9 x 10 ⁶ cópias/ml

a. Estritamente bactérias anaeróbias.

b. Testado como ADN genómico.

c. A concentração não é conhecida para as amostras clínicas de astrovírus obtidas a partir do KUL; os valores de Ct (limiar de ciclo) de acordo com o ensaio KUL encontravam-se no intervalo de 12-27.

d. Amostra clínica.

e. A concentração não é conhecida para as amostras clínicas de sapovírus obtidas a partir do KUL; os valores de Ct (limiar de ciclo) de acordo com o ensaio KUL encontravam-se no intervalo de 19-23.

21.3 Reactividade analítica (Inclusividade)

A reactividade analítica do Xpert Norovirus Assay foi avaliada relativamente a trinta e um genótipos representantes de ambos os grupos de norovírus (GI e GII). As trinta e uma estirpes de norovírus avaliadas neste estudo foram testadas perto da concentração do LD do ensaio (tabela 9). Foram testadas três réplicas para cada estirpe.

Tabela 9. Resultados da reactividade analítica do Xpert Norovirus Assay

Estirpe de norovírus	Concentração estimada (cópias/ml) ^a	Resultado	
		GI	GII
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.5 ^b	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

Tabela 9. Resultados da reactividade analítica do Xpert Norovirus Assay (Continuação)

Estirpe de norovírus	Concentração estimada (cópias/ml) ^a	Resultado	
		GI	GII
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
GII.8 ^b	1,3 x 10 ³	NEG	POS
GII.9 ^b	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. Foi facultada uma concentração estimada ou uma titulação com base do valor de Ct (limiar de ciclo) (devido à dificuldade na cultura de partículas de norovírus, não pôde ser facultada uma concentração exacta). O valor de Ct (limiar de ciclo) para cada amostra clínica no estudo de inclusividade foi extrapolado para a titulação obtida a partir do estudo do LD para amostras de GI e GII bem caracterizadas utilizando uma curva padrão no CDC.
- b. Foram utilizadas transcriptases de ARN não encapsulado para estas estirpes; as amostras clínicas não se encontravam disponíveis na altura do teste.

21.4 Estudo de substâncias que interferem

As substâncias potencialmente interferentes que podem estar presentes nas fezes, foram avaliadas directamente relativamente ao desempenho do Xpert Norovirus Assay. As substâncias potencialmente interferentes incluíram hemoglobina, mucina, colesterol, triglicéridos e sangue total, para além das substâncias endógenas e exógenas adicionais indicadas na tabela 10.

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

Todos os resultados foram comparados com controlos positivos e negativos preparados em matriz de fezes negativa. Todas as amostras de controlo válidas positivas e negativas foram correctamente reportadas utilizando o Xpert Norovirus Assay.

Foi observada inibição do Xpert Norovirus Assay na presença de cloreto de benzalcónio (1% p/v, 0,2% p/v e 0,04% p/v). Foram comunicados resultados de teste de falso negativo para o alvo do norovírus GII a (1% p/v) de cloreto de benzalcónio. Na presença de sulfato de bário (5% p/p), foi observado um efeito inibidor estatisticamente significativo no Ct (limiar de ciclo) do norovírus GII em amostras positivas relativamente ao controlo (valor p < 0,05). Não foi observado um efeito estatisticamente significativo no Ct (limiar de ciclo) do norovírus GII relativamente ao controlo na presença de sulfato de bário (1% p/p).

Não se concluiu que outras substâncias potencialmente interferentes fossem inibidoras e não foram reportados falsos negativos para estas substâncias.

Tabela 10. Substâncias que podem interferir no Xpert Norovirus Assay

Substâncias endógenas		
Substância	Descrição / princípio activo	Concentração testada
Ácido esteárico / ácido palmítico (1:1)	Ácidos gordos / ácido esteárico / ácido palmítico	5% p/p
Colesterol	Gordura fecal/colesterol	5% p/v
Hemoglobina	Hemoglobina humana	12,5% p/v
Mucina	Proteína de mucina purificada	5% p/v
Sangue total	Sangue total humano	10% v/v
Triglicéridos	Gordura fecal/mistura de triglicéridos	5% p/v
Substâncias exógenas		
Substância	Descrição / princípio activo	Concentração testada
Acetaminofeno	Acetaminofeno	5% p/v
Amoxicilina	Antibiótico / amoxicilina	5% p/v
Ampicillin	Sal sódico de ampicilina	152 µmol/l
Aspartame	Aspartame	5% p/v
CaCO ₃	Carbonato de cálcio	5% p/v
Cloreto de benzalcónio Álcool comercial	Toalhetes antissépticos / cloreto de benzalcónio em etanol	1%, 0,2%, 0,04% p/v
Hidrocortisona	Hidrocortisona	50% p/v
Ibuprofeno	Ibuprofeno	5% p/v
Imodium	Loperamida HCl	5% v/v
Kaopectate	Atapulgite	5 mg/ml
Metronidazol	Metronidazol	5% p/v
Mycostatin	Nistatina	50% p/p
Naprosyn	Naproxeno sódico	2,2 µmol/ml
Novaluzid	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ e MgCO ₃	5% p/v
Óleo mineral laxante Rexall	Óleo mineral	50% v/v
Purseamid	Senosidos	5% p/v
Subsalicilato de bismuto	Subsalicilato de bismuto (III) (um princípio activo no Peptobismol)	1% p/v
Sulfato de bário	Meio de contraste / sulfato de bário	5% p/p, 1% p/p
Sulfato de polimixina B Bacitracina de zinco	Polysporin / sulfato de polimixina B e bacitracina de zinco	50% p/v

21.5 Estudo de contaminação cruzada

Foi realizado um estudo para demonstrar que cartuchos GeneXpert de utilização única e autónomos previnem a contaminação cruzada em amostras negativas executadas após amostras positivas muito elevadas no mesmo módulo GeneXpert. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo, imediatamente seguida por uma amostra de norovírus GII altamente positiva. Este esquema de teste foi repetido 21 vezes entre dois GeneXpert módulos para um total de 42 execuções para 20 amostras positivas e 22 negativas. Todas as 19 amostras positivas foram correctamente reportadas como **NORO GI NÃO DETECTADO; NORO GII DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED; NORO GII DETECTED)** e uma amostra positiva foi reportada como ERRO (ERROR). Todas as 22 amostras negativas foram correctamente reportadas como **NORO GI NÃO DETECTADO; NORO GII NÃO DETECTADO (NORO GI NOT DETECTED; NORO GII NOT DETECTED)**.

22 Reprodutibilidade

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

Tabela 11. Resumo dos resultados de reprodutibilidade

ID de amostra	Local 1	Local 2	Local 3	Global
Neg	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
GI - Neg. Alto	30,0% (6/20)	15,0% (3/20)	30,0% (6/20)	25,0% (15/60)
GI - Pos. Baixo	100% (20/20)	85,0% (17/20)	95,0% (19/20)	93,3% (56/60)
GI - Pos. Mod.	100% (19/19)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (59/59) ^a
GII - Neg. Alto	25,0% (5/20)	30,0% (6/20)	35,0% (7/20)	30,0% (18/60)
GII - Pos. Baixo	100% (20/20)	95,0% (19/20)	90,0% (18/20)	95,0% (57/60)
GII - Pos. Mod.	95,0% (19/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	98,3% (59/60)

a. Uma amostra 2 x indeterminada

A reprodutibilidade do Xpert Norovirus Assay também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct (limiar de ciclo) para cada alvo detectado. O desvio padrão (DP) médio e o coeficiente de variação (CV) entre locais, entre dias e entre operadores para cada elemento do painel são apresentados na tabela 12.

Tabela 12. Resumo dos dados de reprodutibilidade

Preparação	Canal de ensaio (analito)	N ^a	Ct médio	Entre locais		Entre dias		Entre operadores		Dentro do ensaio		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Neg	SPC	60	31,9	0,17	0,5	0,06	0,2	0,06	0,2	0,26	0,8	0,32	1,0
GI - Neg. Alto	GI	60	39,4	0	0	0,46	1,2	0	0	1,80	4,6	1,86	4,7
GI - Pos. Baixo	GI	59	37,9	0,29	0,8	0	0	0,36	1,0	1,03	2,7	1,13	3,0
GI - Pos. Mod. ^b	GI	57	34,7	0,09	0,2	0,07	0,2	0	0	0,41	1,2	1,01	1,2
GII - Neg. Alto	GII	54	38,9	0	0	0	0	0,77	2,0	1,77	4,5	1,93	5,0
GII - Pos. Baixo	GII	60	37,3	0	0	0	0	0,58	1,6	1,33	3,6	1,45	3,9
GII - Pos. Mod. ^b	GII	59	34,3	0,22	0,6	0	0	0	0	0,45	1,3	0,50	1,5

a. Resultados com valores do Ct (limiar de ciclo) diferentes de zero em 60

b. n=3 amostras com valores atípicos (2 GI Pos. Mod. e 1 GII Pos. Mod.) superiores a 5 desvios padrão da média foram considerados valores atípicos e foram removidos da análise.

23 Precisão do sistema do instrumento

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

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

Preparação	GeneXpert Dx			Infinity			% de concordância total por amostra
	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 - Neg. Alto	14,6% (7/48)	10,4% (5/48)	12,5% (12/96)	14,6% (7/48)	25,0% (12/48)	19,8% (19/96)	16,2% (31/192)
GI - Pos. Baixo	100% (48/48)	97,9% (47/48)	99,0% (95/96)	97,9% (47/48)	97,9% (47/48)	97,9% (94/96)	98,4% (189/192)
GI - Pos. Mod.	100% ^a (47/47)	100% (48/48)	100% (95/95)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (191/191)
GII - Neg. Alto	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 - Pos. Baixo	89,6% (43/48)	89,6% (43/48)	89,6% (86/96)	83,3% (40/48)	95,7% (44/46)	87,5% (84/96)	88,5% (170/192)
GII - Pos. Mod.	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (48/48)	100% ^b (47/47)	100% (95/95)	100% (191/191)

a. Uma amostra GI Pos. Mod. não testada.

b. Uma amostra GII Pos. Mod. indeterminada e não testada.

A precisão do Xpert Norovirus Assay também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct (limiar de ciclo) para cada alvo detectado. A média, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) entre instrumentos, entre lotes, entre dias, entre operadores e nos ensaios para cada membro do painel encontram-se apresentadas na tabela 14.

Tabela 14. Resumo dos dados de precisão

Preparação	Canal de ensaio (analito)	N ^o	Ct médio	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre dias		Entre operadores		Dentro do ensaio		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Neg	SPC	192	31,8	0	0	0,44	1,4	0	0	0,08	0,2	0,39	1,2	0,59	1,9
GI - Neg. Alto	GI	188	38,6	0,19	0,5	0,25	0,7	0,18	0,5	0	0	1,40	3,6	1,45	3,8
GI - Pos. Baixo	GI	192	37,1	0,39	1,1	0,26	0,7	0,19	0,5	0	0	0,95	2,6	1,08	2,9
GI - Pos. Mod.	GI	191	34,0	0	0	0,36	1,1	0,04	0,1	0,08	0,2	0,38	1,1	0,53	1,6
GII - Neg. Alto	GII	178	38,7	0,16	0,4	0	0	0,29	0,7	0	0	2,03	5,3	2,06	5,3
GII - Pos. Baixo	GII	187	37,6	0,10	0,2	0	0	0	0	0,45	1,2	1,65	4,4	1,71	4,6
GII - Pos. Mod.	GII	191	34,3	0	0	0,09	0,2	0	0	0,17	0,5	0,42	1,2	0,46	1,3

a. Resultados com valores do Ct (limiar de ciclo) diferentes de zero em 192.

24 Referências

1. Kapikian AZ, et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972;10(5):1075-1081.
2. Mead PS, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(5):607-625.
3. Kaplan JE, et al. An outbreak of acute nonbacterial gastroenteritis in a nursing home: demonstration of person-to-person transmission by temporal clustering of cases. *Am J Epidemiol* 1982; 116(6):940-948.
4. Johnston CP, et al. Outbreak management and implications of a nosocomial Norovirus outbreak. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(5):534-540.
5. Corwin AL, et al. Shipboard impact of a probable Norwalk virus outbreak from coastal Japan. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61(6):898-903.
6. Leshem E, et al. Effects and Clinical Significance of GII.4 Sydney Norovirus, United States, 2012-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(8):1231-1238.
7. Straub TM, et al. *In vitro* cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Inf Dis.* 2007; 13(3): 396-403.
8. CDC. Updated Norovirus Outbreak Management and Disease Prevention Guidelines. *MMWR Recomm Rep.* 2011; 60(No. RR-3):1-15.
9. Okitsu-Negishi S, et al. Detection of norovirus antigens from recombinant virus-like particles and stool samples by a commercial norovirus enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J Clin Microbiol* 2006;44(10):3784-3786.
10. Burton-MacLeod JA, et al. Evaluation and comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of antigenically diverse human noroviruses in stool samples. *J Clin Microbiol* 2004;42(6):2587-2595.
11. Dimitriadis A, et al. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for detection of norovirus in outbreak specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24(9):615-618.
12. Richards AF, et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* 2003;26(1):109-115.
13. Morillo SG, et al. Norovirus 3rd generation kit: an improvement for rapid diagnosis of sporadic gastroenteritis cases and valuable for outbreak detection. *J Virol Methods* 2011;173(1):13-16.
14. Wilhelmi de Cal I, et al. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for the detection of norovirus in faecal samples from hospitalised children with sporadic acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(3):341-343.
15. Costantini V, et al. Diagnostic accuracy and analytical sensitivity of IDEIA Norovirus assay for routine screening of human norovirus. *J Clin Microbiol* 2010;48(8):2770-2778.
16. MacCannell T, et al. Guideline for the prevention and control of Norovirus Gastroenteritis outbreaks in healthcare settings. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32(10):939-969.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (refer to latest edition, available at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition, available at <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
19. 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).
20. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

25 Locais das sedes da Cepheid

Sede corporativa	Sede europeia
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 EUA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France
Telefone: + 1 408 541 4191	Telefone: + 33 563 825 300
Fax: + 1 408 541 4192	Fax: + 33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

26 Assistência Técnica

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
















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

Região	Telefone	E-mail
EUA	+ 1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Austrália e Nova Zelândia	+ 1800 130 821 + 0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Bélgica, Países Baixos e Luxemburgo	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Brasil e América Latina	+ 55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
China	+ 86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
França	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Alemanha	+ 49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
Índia, Bangladeche, Butão, Nepal e Sri Lanka	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Itália	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Portugal	+ 351 800 913 174	support@cepheideurope.com
Espanha	+ 34 919 90 67 62	support@cepheideurope.com
África do Sul	+ 27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Reino Unido	+ 44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Outros países da Europa, do Médio Oriente e de África	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Outros países não indicados acima	+ 1 408 400 8495	techsupport@cepheid.com

As informações de contacto dos outros escritórios da Cepheid estão disponíveis no nosso sítio Web em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**. Selecione a opção **Contacte-nos (Contact Us)**.

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

27 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Advertência
	Para utilização apenas com receita médica



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089
 EUA



For Information Only - Not A Controlled Copy