

## Istruzioni per l'uso

**FlexStar<sup>®</sup>**

**Norovirus Type & Rotavirus  
RT-PCR Detection Mix 1.5**

05/2022 IT

**Gastrointestinal**



# FlexStar<sup>®</sup>

## Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5

Per uso con

CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)

CFX96™ Dx System (Bio-Rad)

QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)



FS0071543



96



05 2022



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

## Contenuto

<b>1.</b>	<b>Indicazioni sulle istruzioni per l'uso .....</b>	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>Uso previsto .....</b>	<b>6</b>
<b>3.</b>	<b>Contenuto del prodotto .....</b>	<b>7</b>
<b>4.</b>	<b>Conservazione.....</b>	<b>8</b>
<b>5.</b>	<b>Informazioni generali .....</b>	<b>9</b>
<b>6.</b>	<b>Descrizione del prodotto .....</b>	<b>10</b>
6.1	Componenti .....	11
6.2	Strumenti PCR in tempo reale.....	12
6.3	Tipi di campioni.....	12
<b>7.</b>	<b>Materiale richiesto e non fornito.....</b>	<b>13</b>
<b>8.</b>	<b>Avvertenze, precauzioni e limitazioni.....</b>	<b>14</b>
<b>9.</b>	<b>Procedura .....</b>	<b>15</b>
9.1	Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni .....	16
9.2	Preparazione del campione.....	16
9.3	Preparazione della master mix .....	18
9.4	Preparazione della reazione.....	19
<b>10.</b>	<b>Programmazione dello strumento PCR in tempo reale .....</b>	<b>20</b>
10.1	Impostazioni .....	21
10.2	Sonde fluorescenti (coloranti).....	21
10.3	Profilo termico e acquisizione dei fluorofori .....	22
<b>11.</b>	<b>Analisi dei dati.....</b>	<b>22</b>
11.1	Validità dei test diagnostici .....	23
11.1.1	Test diagnostico valido .....	23

11.1.2	Test diagnostico non valido .....	23
11.2	Interpretazione dei risultati .....	23
11.2.1	Analisi qualitativa .....	24
<b>12.</b>	<b>Valutazione della performance .....</b>	<b>25</b>
12.1	Feci.....	25
12.1.1	Sensibilità analitica .....	25
12.1.2	Specificità analitica .....	28
12.1.2.1	Campioni negativi.....	29
12.1.2.2	Sostanze interferenti .....	29
12.1.2.3	Reattività crociata.....	30
12.1.3	Precisione.....	31
12.1.4	Percentuale totale di guasti .....	34
12.1.5	Contaminazione da trasferimento.....	34
12.1.6	Prestazioni cliniche.....	34
<b>13.</b>	<b>Smaltimento.....</b>	<b>36</b>
<b>14.</b>	<b>Controllo di qualità .....</b>	<b>37</b>
<b>15.</b>	<b>Assistenza tecnica .....</b>	<b>37</b>
<b>16.</b>	<b>Letteratura .....</b>	<b>37</b>
<b>17.</b>	<b>Marchi e brevetti.....</b>	<b>38</b>
<b>18.</b>	<b>Spiegazione dei simboli .....</b>	<b>39</b>
<b>19.</b>	<b>Cronologia delle revisioni .....</b>	<b>41</b>

## 1. Indicazioni sulle istruzioni per l'uso

Nel presente manuale, i termini ATTENZIONE e NOTA hanno i seguenti significati:

### ATTENZIONE



Pone l'attenzione su istruzioni e procedure di utilizzo che, se non seguite correttamente, rischiano di causare lesioni personali o compromettere le prestazioni del prodotto. Per ricevere assistenza, contattare l'assistenza tecnica Altona Diagnostics.

### NOTA



Informazioni utili che vengono comunicate all'utente ma che non sono essenziali per il compito da svolgere.

Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di utilizzare il prodotto.

## 2. Uso previsto

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è un test diagnostico *in vitro* basato sulla tecnologia PCR in tempo reale per il rilevamento qualitativo e la differenziazione di RNA specifico di norovirus genogruppo I (GI), norovirus genogruppo II (GII) e rotavirus in campioni di feci umane.

È destinato a essere utilizzato come aiuto nella diagnosi di infezione da norovirus e da rotavirus.

I risultati generati con il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 devono essere interpretati in associazione ad altri risultati clinici e di laboratorio.

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è destinato a essere utilizzato da personale qualificato nelle tecniche di biologia molecolare e nelle procedure di diagnostica *in vitro*.

### 3. Contenuto del prodotto

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 contiene i componenti che seguono:

**Tab. 1:** Componenti del kit

Colore tappo	Componente	Numero di fiale	Volume nominale [µl/fiala]
Blu	Detection Mix <sup>1)</sup>	8	60
Rosso	PC <sup>2)</sup>	2	250
Bianco	NTC <sup>3)</sup>	2	250

<sup>1)</sup> Contiene materiale biologico di origine animale

<sup>2)</sup> Positive Control (controllo positivo) (RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus)

<sup>3)</sup> No Template Control (controllo negativo)

#### ATTENZIONE



Prima del primo utilizzo controllare la completezza del prodotto e di tutti i suoi componenti rispetto a numero, tipo e riempimento. Non utilizzare un prodotto difettoso o incompleto, in quanto le sue prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

## 4. Conservazione

- Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 viene spedito in ghiaccio secco. I componenti del prodotto devono arrivare congelati. Se uno o più componenti non sono congelati al momento della ricezione o se le provette sono state danneggiate durante la spedizione, contattare l'assistenza tecnica Altona Diagnostics per assistenza (vedere capitolo 15. Assistenza tecnica).
- Tutti i componenti devono essere conservati tra -25°C e -15°C all'arrivo.
- Evitare lo scongelamento e il congelamento ripetuti del componente Detection Mix, poiché ciò potrebbe influire sulle prestazioni del prodotto.
- Evitare lo scongelamento e il congelamento ripetuti (più di 4 volte) del Positive Control (PC, controllo positivo) e del No Template Control (NTC, controllo negativo) poiché ciò potrebbe influire sulle prestazioni del prodotto.
- La conservazione a temperatura ambiente (max. +30°C) non deve superare un periodo di 2 ore.
- Proteggere il componente Detection Mix dalla luce.

### ATTENZIONE



Condizioni di conservazione errate possono compromettere le prestazioni del prodotto.

### ATTENZIONE



Non superare il numero di sequenze di scongelamento e congelamento ripetuti e la durata delle manipolazioni specificate in queste istruzioni per l'uso, in quanto le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

### ATTENZIONE



Non usare i prodotti oltre la data di scadenza. L'uso di prodotti scaduti potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.



## 5. Informazioni generali

### Norovirus

Il genere *Norovirus* (norovirus) appartiene alla famiglia dei *Caliciviridae* ed era già noto con il nome di *virus di Norwalk*. I norovirus sono virus a RNA monofilamento, scoperti nel 1972 grazie al microscopio elettronico, e sono caratterizzati da un'elevata variabilità genomica. I norovirus sono stati classificati in dieci genogruppi (da GI a GX) sulla base della sequenza confrontando le regioni di RNA polimerasi e capsidi del genoma. I genogruppi I, II e IV sono associati a infezioni nell'essere umano. A oggi, i genogruppi GI e GII sono i gruppi con maggiore rilevanza clinica e sono suddivisi rispettivamente in almeno 9 e 27 genotipi.

I norovirus sono responsabili della maggior parte delle gastroenteriti acute non batteriche dell'essere umano nei paesi industrializzati. I sintomi del virus, vomito e diarrea, si presentano dopo un breve tempo di incubazione che va da 8 a 72 ore. I norovirus sono altamente infettivi.

Le infezioni possono essere causate da cibo e/o acqua potabile contaminati o dalla trasmissione virale da persona a persona. I norovirus possono causare ampi focolai nelle situazioni di stretto contatto umano come ospedali, case di riposo, navi da crociera, ecc. [1,2,3].

### Rotavirus

I rotavirus appartengono alla famiglia dei *Reoviridae* e sono suddivisi in specie da A a G. Le specie da A a C sono infettive per l'essere umano, e la specie A (Tassonomia: *Rotavirus A*) è il gruppo responsabile di oltre il 90% delle infezioni nell'essere umano. Il genoma è costituito da dsRNA segmentato con 11 segmenti. Le specie vengono classificate mediante il confronto della sequenza del segmento VP6. Il genoma del rotavirus è altamente eterogeneo in tutti i segmenti. Il rotavirus A è suddiviso in diversi genotipi.

I rotavirus sono stati riscontrati come agenti causanti in un numero elevato (>500.000; OMS) di casi di diarrea fatale nei bambini di età inferiore a 5 anni in tutto il mondo, in particolare nei paesi in via di sviluppo. Tuttavia, anche i bambini di età superiore ai 5 anni e gli adulti possono essere colpiti da questo patogeno, con un

decorso grave e perfino con casi fatali, dovuti per la maggior parte alla mancanza di servizi medici e a cattive condizioni igieniche nei paesi in via di sviluppo. Le epidemie di rotavirus si presentano più spesso in inverno (CDC), con un picco nel mese di marzo (“diarrea invernale”).

I sintomi sono diarrea, vomito, febbre e crampi addominali. Il tempo di incubazione è di circa 1-3 giorni, e il decorso della malattia dura circa 4-7 giorni. L'infezione da rotavirus si trasmette mediante oggetti, acqua e cibo contaminati con una bassa dose infettiva (<100 particelle virali). Il virus ha un'elevata tenacia e il carico virale può arrivare fino a  $10^{10}$  particelle virali/g di feci.

A oggi non è disponibile alcun trattamento medico, e i postumi di un'infezione possono essere ridotti solo con un trattamento preventivo [4,5].

### NOTA



A causa dell'evoluzione molecolare relativamente veloce dei virus RNA, sussiste un rischio intrinseco, per ogni sistema di test basato sulla RT-PCR, che un accumulo di mutazioni nel tempo possa portare a risultati falso-negativi.

## 6. Descrizione del prodotto

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è un test diagnostico *in vitro*. Utilizzato in combinazione con il FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5 consente il rilevamento qualitativo e la differenziazione di RNA specifico di norovirus genogruppo I (GI), norovirus genogruppo II (GII) e rotavirus in campioni di feci umane.

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 si basa sulla tecnologia RT-PCR in tempo reale utilizza la reazione della trascrittasi inversa (RT) per convertire l'RNA in DNA complementare (cDNA), la reazione a catena della polimerasi (PCR) per l'amplificazione di sequenze target di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus sonde target-specifiche marcate a fluorescenza per il rilevamento del cDNA amplificato.

Oltre ai sistemi di amplificazione e rilevamento specifico di RNA di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus, il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 contiene gli oligonucleotidi per l'amplificazione e il rilevamento del controllo interno (IC, AltoStar® Internal Control 1.5). L'IC viene aggiunto automaticamente all'inizio della procedura di purificazione degli acidi nucleici su AltoStar® Automation System AM16 (sistema di automazione) (di seguito abbreviato in AltoStar® AM16). Per ulteriori dettagli consultare le istruzioni per l'uso di AltoStar® Internal Control 1.5.

Rispettivamente, le sonde specifiche per il RNA di norovirus GI sono marcate con il fluoroforo Cy5, le sonde specifiche per il RNA di norovirus GII sono marcate con il fluoroforo ROX™ e le sonde specifiche per il RNA di rotavirus sono marcate con il fluoroforo FAM™. La sonda specifica per l'IC è marcata con il fluoroforo JOE™.

L'uso di sonde collegate a coloranti distinguibili consente il rilevamento in parallelo di norovirus GI, norovirus GII, rotavirus, nonché il rilevamento dell'IC nei corrispondenti canali di rilevamento dello strumento PCR in tempo reale.

### 6.1 Componenti

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 contiene reagenti sufficienti per 96 reazioni. Il prodotto consiste nei componenti che seguono:

- Detection Mix<sup>1)</sup>
- PC<sup>2)</sup>
- NTC<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Contiene materiale biologico di origine animale

<sup>2)</sup> Positive Control (controllo positivo) (RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus)

<sup>3)</sup> No Template Control (controllo negativo)

Tranne la DNA polimerasi e la trascrittasi inversa, che sono inclusa nel FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5, il componente Detection Mix contiene tutti i reagenti (tampone PCR, sali di magnesio, primer e sonde) per il rilevamento e la differenziazione del RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus, nonché del RNA specifico dell'IC.

Il PC contiene RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus. Viene utilizzato per verificare la funzionalità dei sistemi di amplificazione e rilevamento specifici del RNA di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus.

L'NTC non contiene RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII o rotavirus, ma contiene l'IC template. L'NTC viene utilizzato come controllo negativo per la PCR in tempo reale specifica del RNA di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus e indica la possibile contaminazione del componente Detection Mix.

### 6.2 Strumenti PCR in tempo reale

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è stato sviluppato e validato per essere utilizzato con i seguenti strumenti PCR in tempo reale:

- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

#### NOTA



Assicurarsi che tutti gli strumenti utilizzati siano stati installati, calibrati, controllati e sottoposti a manutenzione secondo le istruzioni e le raccomandazioni del fabbricante.

### 6.3 Tipi di campioni

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è stato validato per essere utilizzato con il seguente tipo di campione:

- Feci umane

#### ATTENZIONE



Non utilizzare altri tipi di campione! L'uso di altri tipi di campione potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

## 7. Materiale richiesto e non fornito

I seguenti strumenti e materiali di consumo aggiuntivi sono necessari per l'uso del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 ma non sono forniti insieme al prodotto:

- Strumento PCR in tempo reale appropriato (vedere capitolo 6.2 Strumenti PCR in tempo reale)
- Sistema o kit di estrazione di acidi nucleici appropriato (vedere capitolo 9.2 Preparazione del campione)
- Vortex mixer
- Centrifuga (per es. centrifuga da banco) per centrifugazione dei reagenti del kit
- Centrifuga per centrifugazione delle piastre di PCR
- Piastre di reazione o provette di reazione appropriate a 96 pozzetti con materiale di chiusura (ottico) corrispondente
- Pipette (regolabili)
- Puntali con filtro (monouso)
- Guanti senza polvere (monouso)

Reagenti richiesti ma non inclusi nel FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5:

- FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5 (ordine N° FS0011515)
- AltoStar® Internal Control 1.5 (ordine N° IC15-46)

## 8. Avvertenze, precauzioni e limitazioni

- Prima del primo utilizzo controllare la completezza del prodotto e di tutti i suoi componenti rispetto a numero, tipo e riempimento. Non utilizzare un prodotto difettoso o incompleto, in quanto le sue prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.
- Condizioni di conservazione errate possono compromettere le prestazioni del prodotto.
- Non superare il numero di sequenze di scongelamento e congelamento ripetuti e la durata delle manipolazioni specificate in queste istruzioni per l'uso, in quanto le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.
- Non usare i prodotti oltre la data di scadenza. L'uso di prodotti scaduti potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.
- Non utilizzare altri tipi di campione! L'uso di altri tipi di campione potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.
- La manipolazione errata dei componenti del prodotto e dei campioni può causare contaminazione e compromettere le prestazioni del prodotto:
  - Non scambiare le provette o i tappi dei flaconi.
  - Conservare il materiale positivo e/o potenzialmente positivo separato dai componenti del kit.
  - Utilizzare aree di lavoro separate per preparazione del campione, impostazione della reazione e attività di amplificazione/rilevazione.
  - Smaltire sempre i guanti dopo la manipolazione di materiale positivo e/o potenzialmente positivo.
  - Non aprire le piastre di PCR e/o le provette dopo l'amplificazione.
- Non mescolare i componenti di lotti di FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 diversi, in quanto le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.
- Trattare sempre i campioni come materiale infetto e ad elevato rischio (biologico) conformemente alle procedure di sicurezza e di laboratorio. Pulire immediatamente gli sversamenti di campioni utilizzando un disinfettante adatto. Manipolare i materiali contaminati come se fossero a rischio biologico.
- La presenza di inibitori della PCR potrebbe causare risultati falsi negativi o invalidi.
- Lo smaltimento dei rifiuti pericolosi e biologici deve essere conforme alle normative locali e nazionali in modo da evitare la contaminazione ambientale.

- Errate condizioni di conservazione degli eluati possono causare la degradazione delle sequenze target di norovirus GI, norovirus GII e/o rotavirus e compromettere le prestazioni del prodotto.
- La mancata centrifugazione dei componenti del prodotto dopo lo scongelamento potrebbe causare una contaminazione con residui del reagente nei coperchi e potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.
- Non superare la durata di conservazione della miscela PCR, in quanto le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.
- Come con qualsiasi test diagnostico, i risultati vanno interpretati tenendo conto di tutti i risultati clinici e di laboratorio.
- Nel caso in cui il campione contenga altri patogeni diversi da norovirus GI, norovirus GII e/o rotavirus potrebbe presentarsi una competizione con l'amplificazione del target o reattività crociata, causando risultati errati nell'esame DIV.
- Le potenziali mutazioni all'interno delle regioni target del genoma di norovirus GI, norovirus GII e/o rotavirus coperte dai primer e/o dalle sonde utilizzate nel kit possono causare il mancato rilevamento della presenza dei patogeni.

## 9. Procedura

### ATTENZIONE

La manipolazione errata dei componenti del prodotto e dei campioni può causare contaminazione e compromettere le prestazioni del prodotto:

- Non scambiare le provette o i tappi dei flaconi.
- Conservare il materiale positivo e/o potenzialmente positivo separato dai componenti del kit.
- Utilizzare aree di lavoro separate per preparazione del campione, impostazione della reazione e attività di amplificazione/rilevazione.
- Smaltire sempre i guanti dopo la manipolazione di materiale positivo e/o potenzialmente positivo.
- Non aprire le piastre di PCR e/o le provette dopo l'amplificazione.



**ATTENZIONE**



Non mescolare i componenti di lotti di FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 diversi, in quanto le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

## 9.1 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni

Prima dell'uso, la sospensione fecale non deve essere conservata per più di 48 ore a temperatura ambiente (da +20°C a +25°C), 72 ore da +2°C a +8°C o 7 giorni da -25°C a -15°C.

**ATTENZIONE**



Trattare sempre i campioni come materiale infetto e ad elevato rischio (biologico) conformemente alle procedure di sicurezza e di laboratorio. Pulire immediatamente gli sversamenti di campioni utilizzando un disinfettante adatto. Manipolare i materiali contaminati come se fossero a rischio biologico.

**NOTA**



La conservazione dei campioni congelati non compromette le prestazioni del kit. Quando si lavora con campioni congelati, assicurarsi che i campioni siano completamente scongelati e miscelati prima dell'uso.

## 9.2 Preparazione del campione

L'RNA estratto è il materiale di partenza per il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5. La qualità dell'RNA estratto ha un profondo impatto sulle prestazioni del prodotto.

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è stato validato con campioni di feci umane, con l'uso di AltoStar® AM16 in combinazione con il kit AltoStar® Purification Kit 1.5.



Al termine della procedura di estrazione degli acidi nucleici con AltoStar® AM16, gli eluati nella eluate plate (piastra degli eluati) non sigillata sono stabili a temperatura ambiente (max. +30°C) per un totale di 4 ore.

Gli eluati in una eluate plate (piastra degli eluati) sigillata possono essere conservati da +2°C a +8°C fino a 24 ore prima dell'avvio dell'impostazione di una reazione. Per ulteriori dettagli sulla sigillatura della eluate plate (piastra degli eluati) consultare le istruzioni per l'uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

È possibile che sistemi e kit di estrazione di acidi nucleici alternativi risultino adeguati. Tuttavia, l'idoneità della procedura di estrazione degli acidi nucleici da utilizzare con il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 deve essere convalidata dall'utente.

### ATTENZIONE



Non utilizzare altri tipi di campione! L'uso di altri tipi di campione potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

### ATTENZIONE



Trattare sempre i campioni come materiale infetto e ad elevato rischio (biologico) conformemente alle procedure di sicurezza e di laboratorio. Pulire immediatamente gli sversamenti di campioni utilizzando un disinfettante adatto. Manipolare i materiali contaminati come se fossero a rischio biologico.

### ATTENZIONE



La presenza di inibitori della PCR potrebbe causare risultati falsi negativi o invalidi.

### ATTENZIONE



Lo smaltimento dei rifiuti pericolosi e biologici deve essere conforme alle normative locali e nazionali in modo da evitare la contaminazione ambientale.

### ATTENZIONE



Errate condizioni di conservazione degli eluati possono causare la degradazione delle sequenze target di norovirus GI, norovirus GII e/o rotavirus e compromettere le prestazioni del prodotto.

Per ricevere ulteriori informazioni e assistenza tecnica riguardanti pre-trattamento e preparazione del campione contattare il servizio di assistenza tecnica Altona Diagnostics (vedere capitolo 15. Assistenza tecnica).

### 9.3 Preparazione della master mix

Tutti i reagenti e i campioni devono essere completamente scongelati, miscelati (mediante pipettatura o vortice delicato) e centrifugati brevemente prima dell'uso.

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è configurato per l'uso con il FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5 e con AltoStar® Internal Control 1.5, che permette di controllare la procedura di preparazione del campione (estrazione degli acidi nucleici) e la successiva RT-PCR.

- ▶ L'IC viene aggiunto automaticamente all'inizio della procedura di purificazione degli acidi nucleici sull'AltoStar® AM16.
- ▶ Quando si utilizzano metodi diversi per l'estrazione degli acidi nucleici, l'IC deve essere aggiunto durante la fase di lisi, manualmente o automaticamente da parte del rispettivo strumento.
- ▶ Indipendentemente dal metodo/sistema utilizzato per l'estrazione degli acidi nucleici, non aggiungere mai l'IC direttamente al campione. L'IC deve essere sempre aggiunto alla miscela campione/tampone di lisi. Il volume dell'IC da aggiungere dipende sempre e soltanto dal volume di eluizione. Rappresenta il 50% del volume di eluizione. Ad esempio, se l'acido nucleico deve essere eluito in 60 µl di tampone di eluizione o acqua, devono essere aggiunti 30 µl di IC per campione nella miscela campione/tampone di lisi.

- ▶ Preparare la master mix secondo lo schema di pipettaggio che segue:

**Tab. 2:** Schema di pipettaggio (preparazione della master mix)

Numero di reazioni (rxns)	1	12
Detection Mix	5 µl	60 µl
Amplification Mix	15 µl	180 µl
<b>Volume master mix</b>	<b>20 µl</b>	<b>240 µl</b>

### ATTENZIONE



La mancata centrifugazione dei componenti del prodotto dopo lo scongelamento potrebbe causare una contaminazione con residui del reagente nei coperchi e potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

## 9.4 Preparazione della reazione

- ▶ Pipettare 20 µl di master mix in ciascuno dei pozzetti richiesti di un'appropriata piastra di reazione ottica a 96 pozzetti o di un'appropriata provetta di reazione ottica.
- ▶ Aggiungere 10 µl di campione (eluato dall'estrazione degli acidi nucleici) o 10 µl dei controlli (PC o NTC).

**Tab. 3:** Schema di pipettaggio (preparazione della reazione)

Preparazione della reazione	
Master mix	20 µl
Campione o controllo	10 µl
<b>Volume totale</b>	<b>30 µl</b>

- ▶ Assicurarsi che siano utilizzati almeno 1 PC e 1 NTC per ogni processo.
- ▶ Miscelare accuratamente i campioni e i controlli con la master mix pipettando su e giù.

- ▶ Chiudere la piastra di reazione a 96 pozzetti con tappi o pellicola adesiva ottica adeguati e le provette di reazione con tappi appropriati.
- ▶ Centrifugare la piastra di reazione a 96 pozzetti in una centrifuga con rotore per piastra di microtitolazione e le provette di reazione in una centrifuga appropriata per 30 secondi a circa 1.000 x g (~ 3.000 rpm).
- ▶ L'NTC non contiene già il template dell'IC nella concentrazione corretta.

Dopo il completamento del processo di preparazione della miscela PCR, la miscela RT-PCR nella piastra di PCR sigillata è stabile a temperatura ambiente (max. +30°C) per un massimo di 30 minuti.

### ATTENZIONE



Non superare la durata di conservazione della miscela PCR, in quanto le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

## 10. Programmazione dello strumento PCR in tempo reale

Per informazioni di base sull'impostazione e la programmazione dei diversi strumenti PCR in tempo reale, consultare il manuale d'uso del rispettivo strumento.

Per istruzioni dettagliate sulla programmazione per l'utilizzo del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 su specifici strumenti PCR in tempo reale, contattare l'assistenza tecnica Altona Diagnostics (vedere capitolo 15. Assistenza tecnica).

## 10.1 Impostazioni

- Definire i seguenti parametri:

**Tab. 4:** Impostazioni di processo

Impostazioni	
Volume di reazione	30 µl
Velocità di rampa	Default
Riferimento passivo	Nessuno

## 10.2 Sonde fluorescenti (coloranti)

- Definire le seguenti sonde fluorescenti (coloranti):

**Tab. 5:** Sonde fluorescenti

Target	Nome della sonda	Reporter	Quencher
RNA specifico di norovirus GI	Norovirus GI	Cy5	(Nessuno)
RNA specifico di norovirus GII	Norovirus GII	ROX™	(Nessuno)
RNA specifico di rotavirus	Rotavirus	FAM™	(Nessuno)
Internal Control (controllo interno)	Internal Control	JOE™	(Nessuno)

### 10.3 Profilo termico e acquisizione dei fluorofori

- Impostare il profilo della temperatura e l'acquisizione del colorante:

**Tab. 6:** Profilo termico e acquisizione dei fluorofori

	Stadio	Ripeti- zioni del ciclo	Acquisizione	Temperatura [°C]	Tempo [min:s]
Trascrizione inversa	Hold	1	-	52	05:00
Denaturazione	Hold	1	-	95	00:05
Amplificazione	Cycling	45	-	95	00:05
			Sì	58	00:25

## 11. Analisi dei dati

Per informazioni di base sull'analisi dei dati su specifici strumenti PCR in tempo reale, consultare il manuale d'uso del rispettivo strumento.

Per istruzioni dettagliate sull'analisi dei dati generati con il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 su diversi strumenti PCR in tempo reale, contattare l'assistenza tecnica Altona Diagnostics (vedere capitolo 15. Assistenza tecnica).

## 11.1 Validità dei test diagnostici

### 11.1.1 Test diagnostico valido

Un test diagnostico è **valido** se sono soddisfatte le seguenti condizioni di controllo:

**Tab. 7:** Condizioni di controllo per un test valido

ID controllo	Canale di rilevamento			
	Cy5	ROX™	FAM™	JOE™
Controllo positivo (RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus)	+	+	+	Non applicabile
Controllo negativo	-	-	-	+

### 11.1.2 Test diagnostico non valido

Un test diagnostico **non è valido**, (i) se il processo non è stato completato o (ii) se una delle condizioni di controllo per un test diagnostico **valido** non è soddisfatta.

In caso di test diagnostici **non validi** ripetere i test utilizzando gli acidi nucleici purificati rimanenti o ricominciare dai campioni originali.

## 11.2 Interpretazione dei risultati

### ATTENZIONE



Come con qualsiasi test diagnostico, i risultati vanno interpretati tenendo conto di tutti i risultati clinici e di laboratorio.

## 11.2.1 Analisi qualitativa

Tab. 8: Interpretazione dei risultati

Canale di rilevamento				Interpretazione dei risultati
Cy5 (norovirus GI)	ROX™ (norovirus GII)	FAM™ (rotavirus)	JOE™ (IC)	
+	+	-	+/-*	Rilevato RNA specifico di norovirus GI e norovirus GII.
+	-	-	+/-*	Rilevato solo RNA specifico di norovirus GI.
-	+	-	+/-*	Rilevato solo RNA specifico di norovirus GII.
-	-	+	+/-*	Rilevato solo RNA specifico di rotavirus.
+	-	+	+/-*	Rilevato RNA specifico di norovirus GI e rotavirus.
-	+	+	+/-*	Rilevato RNA specifico di norovirus GII e rotavirus.
+	+	+	+/-*	Rilevato RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus.
-	-	-	+	Nessun RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII o rotavirus rilevato. Il campione non contiene quantità rilevabili di RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII o rotavirus.
-	-	-	-	Inibizione della RT-PCR o guasto del reagente. Ripetere i test dal campione originale o raccogliere e testare un nuovo campione.

\* Il rilevamento dell'IC nel canale di rilevamento JOE™ non è necessario in caso di risultati positivi del canale di rilevamento Cy5 e/o ROX™ e/o FAM™. Un'elevata carica di RNA di norovirus GI e/o di norovirus GII e/o di rotavirus nel campione può portare a segnali IC ridotti o assenti.



## 12. Valutazione della performance

Le prestazioni del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 sono state valutate utilizzando materiale virale di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus disponibile in commercio.

### 12.1 Feci

#### 12.1.1 Sensibilità analitica

Per la determinazione del limite di rilevabilità (limit of detection, LoD) per norovirus GI e norovirus GII è stata creata una serie di diluizioni di materiale virale disponibile in commercio in feci artificiali. Per la determinazione del LoD per rotavirus è stata creata una serie di diluizioni di materiale virale disponibile in commercio in sospensione fecale.

Ogni diluizione è stata analizzata in 8 replicati in 3 diversi processi (n totale = 24 per diluizione) utilizzando combinazioni di:

- 3 lotti di FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5
- 3 lotti di FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 3 lotti di kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lotti di AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 strumenti AltoStar® AM16
- 3 strumenti CFX96™ DW Dx

Per ogni virus sono stati combinati i dati da tutti i test ed è stata quindi effettuata un'analisi probit per determinare il valore LoD 95%.

**Tab. 9:** Risultati della PCR utilizzati per il calcolo della sensibilità analitica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 per norovirus GI in sospensione fecale artificiale

Concentrazione [copie/ml]	N [totale]	N [positivo]	Tasso di successo [%]
1,00E+05	24	24	100
3,16E+04	24	24	100
1,00E+04	24	24	100
3,16E+03	24	21	88
1,00E+03	24	11	46
3,16E+02	24	0	0
1,00E+02	24	2	8
3,16E+01	24	0	0
1,00E+01	24	0	0

Il LoD del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 per il rilevamento di norovirus GI in sospensione fecale artificiale è di 5.939 copie/ml (intervallo di confidenza del 95%: 3.673-12.942 copie/ml).

**Tab. 10:** Risultati della PCR utilizzati per il calcolo della sensibilità analitica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 per norovirus GII in sospensione fecale artificiale

Concentrazione [copie/ml]	N [totale]	N [positivo]	Tasso di successo [%]
1,00E+05	24	24	100
3,16E+04	24	24	100
1,00E+04	24	24	100
3,16E+03	24	24	100
1,00E+03	24	17	71
3,16E+02	24	6	25
1,00E+02	24	4	17
3,16E+01	24	4	17
1,00E+01	23*	1	4

\* Un campione non è stato analizzato.

Il LoD del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 per il rilevamento di norovirus GII in sospensione fecale artificiale è di 5.228 copie/ml (intervallo di confidenza del 95%: 2.790-13.337 copie/ml).

**Tab. 11:** Risultati della PCR utilizzati per il calcolo della sensibilità analitica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 per rotavirus in sospensione fecale

Concentrazione [copie/ml]	N [totale]	N [positivo]	Tasso di successo [%]
1,00E+05	24	24	100
3,16E+04	24	24	100
1,00E+04	24	23	96
3,16E+03	24	14	58
1,00E+03	24	3	13
3,16E+02	24	1	4
1,00E+02	24	0	0
3,16E+01	24	0	0

Il LoD del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 per il rilevamento di rotavirus in sospensione fecale è di 11.133 copie/ml (intervallo di confidenza del 95%: 7.126-23.522 copie/ml).

### 12.1.2 Specificità analitica

La specificità analitica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è assicurata dall'accurata selezione degli oligonucleotidi (primer e sonde). Gli oligonucleotidi sono stati controllati mediante analisi comparativa delle sequenze rispetto a sequenze pubblicamente disponibili per garantire che tutti i genotipi pertinenti di norovirus ed rotavirus fossero rilevati.

Per la verifica della specificità analitica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 sono stati condotti i seguenti esperimenti (vedere i capitoli da 12.1.2.1 Campioni negativi a 12.1.2.3 Reattività crociata).

### 12.1.2.1 Campioni negativi

32 campioni di feci negativi per norovirus GI, norovirus GII e rotavirus da singoli donatori sono stati testati con il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5. Tutti i campioni (32 su 32) sono risultati negativi per RNA specifico di norovirus GI, norovirus GII e rotavirus e positivi per l'IC. La specificità analitica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 per i campioni di feci è  $\geq 95\%$ .

### 12.1.2.2 Sostanze interferenti

Al fine di valutare l'impatto delle sostanze endogene ed esogene potenzialmente interferenti sulle prestazioni del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5, sostanze selezionate sono state inoculate in sospensione fecale artificiale contenente norovirus GI, norovirus GII e rotavirus a una concentrazione di 3 x LoD (rispettivamente 17.817 copie/ml, 15.684 copie/ml e 33.399 copie/ml) in una sospensione fecale artificiale non contenente norovirus GI, norovirus GII e rotavirus.

I risultati ottenuti per campioni contenenti sostanze potenzialmente interferenti sono stati confrontati con risultati generati per una sospensione fecale artificiale senza alcuna sostanza interferente aggiunta. Ogni campione è stato analizzato in 3 replicati.

Non è stata osservata alcuna interferenza nei campioni contenenti livelli elevati di:

- Sostanze endogene
  - Colesterolo
  - DNA genomico umano
  - Sangue intero umano
  - Mucine
  - Trigliceridi
- Sostanze esogene
  - Cloruro di benzalconio

- Etanolo
- Idrocortisone
- Mesalazina
- Naprossene sodico
- Nistatina

### ATTENZIONE



La presenza di inibitori della PCR potrebbe causare risultati falsi negativi o invalidi.

### 12.1.2.3 Reattività crociata

La specificità analitica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 rispetto alla reattività crociata con patogeni diversi da norovirus GI, norovirus GII e rotavirus è stata valutata analizzando:

- Patogeni correlati a norovirus GI, norovirus GII e rotavirus
- Patogeni che causano sintomi analoghi a quelli di un'infezione da norovirus GI, norovirus GII o rotavirus
- Patogeni probabilmente presenti in pazienti affetti da infezione da norovirus GI, norovirus GII o rotavirus

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 non ha reagito in modo incrociato con nessuno dei seguenti patogeni:

- *Astrovirus*
- *Campylobacter coli*
- *Campylobacter jejuni*
- *Clostridium difficile*
- *Escherichia coli* enteroemorragico (EHEC)
- *Escherichia coli*
- *Salmonella enterica*
- Sapovirus
- *Vibrio cholerae*

Inoltre sono stati analizzati i patogeni norovirus GI, norovirus GII e rotavirus. Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 non ha generato segnali falsi positivi né nel canale di rilevamento specifico di norovirus GI (Cy5) durante l'analisi di norovirus GII e rotavirus, né nel canale di rilevamento specifico di norovirus GII (ROX™) durante l'analisi di norovirus GI e rotavirus, né nel canale di rilevamento specifico di Rotavirus (FAM™) durante l'analisi di norovirus GI e norovirus GII.

### ATTENZIONE



Nel caso in cui il campione contenga altri patogeni diversi da norovirus GI, norovirus GII e/o rotavirus potrebbe presentarsi una competizione con l'amplificazione del target o reattività crociata, causando risultati errati nell'esame DIV.

### 12.1.3 Precisione

La precisione del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è stata valutata utilizzando un pannello costituito da:

- 1 campione di sospensione fecale artificiale fortemente positivo per norovirus GI [50 x LoD (2,97E+05 copie/ml)]
- 1 campione di sospensione fecale artificiale fortemente positivo per norovirus GII [50 x LoD (2,61E+05 copie/ml)]
- 1 campione di sospensione fecale artificiale fortemente positivo per rotavirus [50 x LoD (5,57E+05 copie/ml)]
- 1 campione di sospensione fecale artificiale debolmente positivo per norovirus GI [3 x LoD (1,78E+04 copie/ml)]
- 1 campione di sospensione fecale artificiale debolmente positivo per norovirus GII [3 x LoD (1,57E+04 copie/ml)]
- 1 campione di sospensione fecale artificiale debolmente positivo per rotavirus [3 x LoD (3.34E+04 copie/ml)]
- 1 campione di sospensione fecale artificiale negativo per norovirus GI, norovirus GII e rotavirus

Ogni membro del pannello è stato testato in 6 replicati per processo.

Sono stati effettuati 5 test in 5 giorni diversi utilizzando combinazioni di:

- 3 lotti di FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5
- 3 lotti di FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 3 lotti di kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lotti di AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 strumenti AltoStar® AM16
- 3 strumenti CFX96™ DW Dx

La ripetibilità (variabilità intra-test), la variabilità inter-lotto e la riproducibilità (variabilità totale) sono state determinate in base a quanto segue:

- Valori del ciclo soglia ( $C_q^*$ ) per campioni fortemente positivi per norovirus GI, norovirus GII e rotavirus (vedere tabelle 12-14).
- Valori del ciclo soglia ( $C_q^*$ ) per l'IC nei campioni negativi per norovirus GI, norovirus GII e rotavirus (vedere tabella 15).

\* Notare che il termine  $C_q$  selezionato è equivalente alla designazione di  $C_t$ , che potrebbe essere utilizzato da altri termociclatori diversi da CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad).

**Tab. 12:** Dati di precisione (CV % basato su valori  $C_q$ ) per campioni di sospensione fecale artificiale fortemente positivi per norovirus GI

	Campione fortemente positivo per norovirus GI (CV % basato su valori $C_q$ )
Variabilità intra-test	0,26-0,78
Variabilità inter-lotto	0,97
Variabilità totale	0,81

Tutti i campioni analizzati a 3 x LoD (campioni debolmente positivi) sono risultati positivi per norovirus GI.



**Tab. 13:** Dati di precisione (CV % basato su valori  $C_q$ ) per campioni di sospensione fecale artificiale fortemente positivi per norovirus GII

	Campione fortemente positivo per norovirus GII (CV % basato su valori $C_q$ )
Variabilità intra-test	0,28-0,80
Variabilità inter-lotto	2,26
Variabilità totale	1,85

Tutti i campioni analizzati a 3 x LoD (campioni debolmente positivi) sono risultati positivi per norovirus GII.

**Tab. 14:** Dati di precisione (CV % basato su valori  $C_q$ ) per campioni di sospensione fecale artificiale fortemente positivi per rotavirus

	Campione fortemente positivo per rotavirus (CV % basato su valori $C_q$ )
Variabilità intra-test	0,43-0,64
Variabilità inter-lotto	0,66
Variabilità totale	1,61

Tutti i campioni analizzati a 3 x LoD (campioni debolmente positivi) sono risultati positivi per rotavirus.

**Tab. 15:** Dati di precisione (CV % basato su valori  $C_q$ ) per l'IC in campioni di sospensione fecale artificiale negativi per norovirus GI, norovirus GII e rotavirus

	IC
Variabilità intra-test	0,81-1,28
Variabilità inter-lotto	1,48
Variabilità totale	2,10

### 12.1.4 Percentuale totale di guasti

La robustezza del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è stata valutata testando 33 campioni di feci umane negativi per norovirus GI e norovirus GII e 32 campioni di feci umane negative per rotavirus da singoli donatori, inoculati con norovirus GI, norovirus GII e rotavirus a una concentrazione finale di 3 x LoD (1,78E+04 copie/ml, 1,57E+04 copie/ml e 3,34E+04 copie/ml). Tutti i campioni (33 su 33 e 32 su 32) sono risultati positivi nei canali di rilevamento fluorescenti specifici di norovirus GI e norovirus GII (rispettivamente Cy5 e ROX™) e nel canale di rilevamento fluorescente (FAM™) specifico di rotavirus.

### 12.1.5 Contaminazione da trasferimento

La contaminazione da trasferimento è soprattutto un rischio dipendente dal flusso di lavoro e indipendente dal test PCR utilizzato. Per l'AltoStar® Workflow (flusso di lavoro) come modello di esempio è stato usato il kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. Il potenziale di contaminazione crociata da trasferimento da campioni altamente positivi è stato valutato analizzando alternando campioni fortemente positivi (1,00E+07 UI/ml) e campioni negativi a parvovirus B19 (n = 44 ciascuno per processo; 2 processi) con il kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. Non è stata osservata alcuna contaminazione da trasferimento, cioè tutti i campioni negativi per parvovirus B19 hanno dato un risultato negativo.

### 12.1.6 Prestazioni cliniche

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è stato valutato in uno studio comparativo con il kit marcato CE Allplex™ GI-Virus Assay (Seegene). Retrospectivamente, 99 campioni singoli di feci umane sono stati testati in parallelo:

Il Allplex™ GI-Virus Assay (Seegene) è stato utilizzato in combinazione con gli strumenti STARMag 96 X 4 (Seegene) e NIMBUS (Seegene).

Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è stato utilizzato in combinazione con il FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5, il kit AltoStar® Purification Kit 1.5 e il AltoStar® Internal Control 1.5 sugli strumenti AltoStar® AM16 e CFX96™ DW Dx.

Per l'analisi qualitativa sono stati esclusi tutti i campioni con risultato invalido per uno o entrambi i test.

I risultati dei campioni rimanenti (94 per norovirus GI e norovirus GII e 96 per rotavirus) sono riportati rispettivamente nelle tabelle 16 e 17.

**Tab. 16:** Risultati della valutazione della sensibilità e della specificità diagnostica per norovirus GI e norovirus GII in campioni di feci

		Allplex™ GI-Virus Assay (Seegene)	
		POSITIVO	NEGATIVO
FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5	POSITIVO	38	0
	NEGATIVO	0	56

Sensibilità e specificità diagnostica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 rispetto al Allplex™ GI-Virus Assay (Seegene) per norovirus GI e norovirus GII erano del 100% (intervalli di confidenza rispettivamente al 90,26%-100% e 93,62%-100%).

**Tab. 17:** Risultati della valutazione della sensibilità e della specificità diagnostica per rotavirus in campioni di feci

		Allplex™ GI-Virus Assay (Seegene)	
		POSITIVO	NEGATIVO
FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5	POSITIVO	22	0
	NEGATIVO	0	74

Sensibilità e specificità diagnostica del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 rispetto al Allplex™ GI-Virus Assay (Seegene) per rotavirus erano del 100% (intervalli di confidenza rispettivamente all'84,56%-100% e 95,14%-100%).

### 13. Smaltimento

Smaltire i rifiuti pericolosi e biologici conformemente alle normative locali e nazionali. I componenti del prodotto residui e i rifiuti non devono essere sversati in fogne, corsi d'acqua o nel terreno.

#### ATTENZIONE



Trattare sempre i campioni come materiale infetto e ad elevato rischio (biologico) conformemente alle procedure di sicurezza e di laboratorio. Pulire immediatamente gli sversamenti di campioni utilizzando un disinfettante adatto. Manipolare i materiali contaminati come se fossero a rischio biologico.

#### ATTENZIONE



Lo smaltimento dei rifiuti pericolosi e biologici deve essere conforme alle normative locali e nazionali in modo da evitare la contaminazione ambientale.

## 14. Controllo di qualità

In conformità con il sistema di gestione della qualità di Altona Diagnostics GmbH certificato EN ISO 13485, ogni lotto del FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è testato in base a specifiche prestabilite per garantire una qualità costante del prodotto.

## 15. Assistenza tecnica

Per l'assistenza ai clienti, contattare l'assistenza tecnica Altona Diagnostics:

**e-mail:** [support@altona-diagnostics.com](mailto:support@altona-diagnostics.com)

**telefono:** **+49-(0)40-5480676-0**

#### NOTA



In caso di incidenti gravi verificatisi in relazione al prodotto informare Altona Diagnostics e l'autorità nazionale competente.

## 16. Letteratura

- [1] Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, Chan MC, Green K, Martella V, Wang Q, White PA, Katayama K, Vennema H, Koopmans MPG, Vinjé J. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. *Journal of Virology*. Ottobre 2019; Volume 100(10):1393-1406. doi: 10.1099/jgv.0.001318. PMID: 31483239.
- [2] Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, Koopmans M, Lopman BA. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. Giugno 2014; Volume 14, Numero 8, 725-730. doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70767-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70767-4).

- [3] Vinjé J. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *Journal of Clinical Microbiology*. Gennaio 2015; Volume 53:373-381. doi: 10.1128/JCM.01535-14. PMID: 24989606.
- [4] Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise and David W. Warnock (ed). *Manual of Clinical Microbiology*. 10ª edizione. ASM Press, 2011.
- [5] Cohen, Jonathan, Powderly, William G, and Steven M Opal. *Infectious Diseases*, 3ª edizione. Mosby, 2010.

### 17. Marchi e brevetti

AltoStar®, FlexStar® (altona Diagnostics); QuantStudio™ (Applied Biosystems); CFX96™ (Bio-Rad); JOE™ (Life Technologies); Rotor-Gene® (QIAGEN); Allplex™ (Seegene); FAM™, ROX™ (Thermo Fisher Scientific).

Nomi registrati, marchi, ecc. utilizzati in questo documento, anche se non specificamente contrassegnati come tali, non devono essere considerati non protetti dalla legge.
















Il FlexStar® Norovirus Type & Rotavirus RT-PCR Detection Mix 1.5 è un kit diagnostico marcato CE secondo la direttiva diagnostica *in vitro* europea 98/79/CE.




Prodotto non concesso in licenza con Health Canada e non approvato o autorizzato dalla FDA.

Non disponibile in tutti i paesi.

© 2022 altona Diagnostics GmbH; tutti i diritti riservati.

## 18. Spiegazione dei simboli

Simbolo	Spiegazione
	Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>
	Global Trade Item Number
	Codice lotto
	Indice
	Colore del tappo
	Numero di catalogo
	Numero
	Componente
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Contiene sufficienti per "n" test / reazioni (rxns)
	Limite di temperatura
	Da usare entro
	Fabbricante
	Attenzione
	Numero materiale

Simbolo	Spiegazione
	Versione
	Nota
	Contiene materiale biologico di origine animale



## 19. Cronologia delle revisioni

**Tab. 18:** Cronologia delle revisioni

Identificativo	Data di emissione [mese/anno]	Modifiche
MAN-FS0071540-IT-S01	05/2022	Release iniziale

**pagina lasciata vuota volontariamente**



altona Diagnostics GmbH  
Mörkenstr. 12  
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0  
fax +49 40 548 0676 10  
e-mail [info@altona-diagnostics.com](mailto:info@altona-diagnostics.com)

**[www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)**

