

RIDA® GENE Clostridium difficile

REF PG0835



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Germania
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDA[®]GENE Clostridium difficile è un test di PCR multiplex real-time per la rivelazione diretta e qualitativa di *Clostridium difficile* (16s-rDNA) e dei geni delle tossine A (tcdA) / B (tcdB) di *Clostridium difficile* da campioni fecali umani e da colture. Il test RIDA[®]GENE Clostridium difficile di PCR multiplex real-time può essere usato come ausilio nella diagnosi di diarrea associata a *Clostridium difficile* (CDAD).

2. Sintesi e spiegazione del test

Clostridium difficile, un batterio anaerobio gram-positivo formante spore, è stato descritto per la prima volta nel 1935 da Hall e O'Toole come componente della microflora intestinale di neonati sani.¹ Alla fine degli anni '70, tuttavia, il *Clostridium difficile* è stato identificato fra le cause della diarrea associata alla terapia antibiotica e della colite pseudomembranosa.² Oggi, *Clostridium difficile* è una delle cause più comuni della diarrea nosocomiale.

Clostridium difficile è responsabile del 15 - 25% dei casi di diarrea associata alla terapia antibiotica e della quasi totalità dei casi di colite pseudomembranosa.³ I fattori di rischio che predispongono alla CDAD sono, ad esempio, l'esposizione agli antibiotici, l'età avanzata, il numero e la durata dei ricoveri ospedalieri.⁴ Tuttavia, l'infezione da *Clostridium difficile* si osserva anche in un numero crescente di soggetti non trattati con antibiotici e non ospedalizzati.

I sintomi spaziano da una lieve diarrea a infezioni intestinali di gravità variabile, inclusa la colite pseudomembranosa, la forma più grave di malattia infiammatoria intestinale indotta da antibiotici. I casi sintomatici sono provocati dai ceppi tossigeni di *Clostridium difficile* che producono la tossina A e la tossina B. Di recente, l'incidenza e la gravità delle infezioni da *Clostridium difficile* sono aumentate in tutto il mondo.

La PCR real-time permette di rivelare in modo rapido e con elevata sensibilità e specificità le infezioni da *Clostridium difficile*. La diagnosi precoce e affidabile di un'infezione da *Clostridium difficile* consente di somministrare terapie specifiche ai pazienti con CDAD e anche di attuare misure igieniche per prevenire la trasmissione nosocomiale.

3. Principio del test

RIDA[®]GENE Clostridium difficile è un test diagnostico molecolare di PCR multiplex real-time per la rivelazione diretta e qualitativa di *Clostridium difficile* (16s-rDNA) e dei geni delle tossine A (tcdA) / B (tcdB) di *Clostridium difficile* da campioni fecali umani e da colture.

Dopo l'isolamento del DNA, avviene l'amplificazione dei frammenti genetici specifici per *Clostridium difficile* e per le tossine A e B di *Clostridium difficile* (se presenti). I target amplificati vengono rivelati con sonde a idrolisi marcate su un'estremità con un quencher e sull'altra con un colorante fluorescente (fluoroforo). In presenza di un target, le sonde ibridano con gli ampliconi. Durante la fase di estensione, la Taq-Polymerase rompe la prossimità fra rivelatore (reporter) e attenuatore (quencher). Il reporter emette un segnale fluorescente che viene rivelato dall'unità ottica del ciclatore di PCR real-time. Il segnale di fluorescenza aumenta con la quantità di ampliconi formati. Il test RIDA[®]GENE Clostridium difficile contiene un Internal Control DNA (ICD) quale controllo interno della procedura di preparazione dei campioni e/o per la determinazione della possibile inibizione della PCR.

4. Contenuto della confezione

Tab. 1: Contenuto della confezione (i reagenti inclusi nel kit sono sufficienti per 100 determinazioni)

Codice del kit	Reagente	Quantità		Colore del coperchio
1	Reaction Mix	2	1050 µl	giallo
2	Taq-Polymerase	1	80 µl	rosso
D	Internal Control DNA	2	1700 µl	arancione
N	No Template Control	1	450 µl	bianco
P	Positive Control	1	200 µl	blu

5. Istruzioni di conservazione

- Proteggere tutti i reagenti dalla luce e conservare a una temperatura di -20 °C. Tutti i reagenti possono essere utilizzati fino alla data di scadenza. Dopo la scadenza la garanzia di qualità non è più valida.
- Scongellare accuratamente i reagenti prima dell'uso (ad esempio in un frigorifero a 2-8 °C).
- I reagenti possono sopportare fino a 20 cicli di congelamento/scongellamento senza compromettere i test (ad esempio dopo il primo scongelamento separare il reagente in aliquote e ricongelare immediatamente).

- Durante la preparazione della PCR tutti i reagenti devono essere conservati al freddo in modo appropriato (2 - 8 °C).

6. Reagenti aggiuntivi e dispositivi necessari

Il test RIDA®GENE Clostridium difficile PCR multiplex real-time è adatto per l'uso con le seguenti piattaforme di estrazione e strumenti per la PCR real-time:

Tab. 2: Attrezzatura necessaria

Piattaforme di estrazione	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
bioMérieux	NucliSENS® easyMAG™
Strumenti per la PCR real-time	
Roche	LightCycler® 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Nota: sullo strumento Rotor-Gene Q (QIAGEN) utilizzare solo provette da 0,1 ml.

Se si desidera utilizzare altre piattaforme di estrazione o strumenti per la PCR real-time, contattare R-Biopharm all'indirizzo mdx@r-biopharm.de.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) per l'uso con LightCycler® 480II
- Materiali di consumo per PCR real-time (piastre, provette, fogli)
- Centrifuga con rotore per cuvette di reazione
- Agitatore a vortice
- Pipette (0,5–20 µl, 20–200 µl, 100–1000 µl)
- Puntali con filtro
- Guanti monouso senza talco
- **Acqua per PCR (grado bioscientifico, priva di nucleasi, trattata con DEPC)**

7. Precauzioni per gli utilizzatori

Per la diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici. Attenersi al manuale di istruzioni per l'esecuzione del test. Non pipettare campioni o reagenti con la bocca. Evitare il contatto con lesioni cutanee o mucose. Quando si maneggiano reagenti o campioni, indossare abbigliamento di sicurezza adeguato (guanti, camice, occhiali di sicurezza idonei) e lavarsi le mani dopo l'esecuzione del test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni.

- L'estrazione, la preparazione della PCR e l'esecuzione della PCR devono avvenire in stanze separate per evitare contaminazione crociata.

- I campioni devono essere trattati come potenzialmente infettivi, così come tutti i reagenti e i materiali esposti ai campioni, e devono essere maneggiati nel rispetto delle disposizioni di sicurezza nazionali.

- Non utilizzare il kit dopo la data di scadenza.

Tutti i reagenti e i materiali utilizzati devono essere smaltiti correttamente dopo l'uso. Attenersi alle disposizioni nazionali in vigore in materia di smaltimento.

Per maggiori informazioni consultare le schede di dati di sicurezza (SDS) all'indirizzo www.r-biopharm.com.

8. Raccolta e conservazione di campioni

8.1 Preparazione del campione da campioni di feci

Per l'isolamento del DNA da campioni fecali umani utilizzare un kit (ad es. RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) o un sistema di estrazione disponibile in commercio (ad es. Maxwell[®] RSC (Promega)). Estrarre il DNA in base alle istruzioni del produttore. Prima dell'estrazione si raccomanda di diluire i campioni di feci con acqua in rapporto 1:3. Vorticare vigorosamente il campione di feci diluito e centrifugare a 1000 x g per 30 sec. Utilizzare il volume appropriato di surnatante in base alle istruzioni del produttore.

Il kit RIDA[®] GENE Clostridium difficile contiene un **Internal Control DNA** che rivela l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia sufficiente. L' **Internal Control DNA** può essere utilizzato come controllo dell'inibizione della PCR o come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR.

Se l' **Internal Control DNA** viene usato solo come controllo di inibizione della PCR, aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla Master Mix (vedere Tab. 4).

Se l' **Internal Control DNA** viene usato come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR, aggiungere 20 µl di **Internal Control DNA** durante la procedura di estrazione.

L' **Internal Control DNA** deve sempre essere aggiunto alla miscela tampone di lisi del campione e **non** direttamente ai campioni. Si raccomanda inoltre di aggiungere 1 µl di Internal Control DNA alla PCR Mix di controllo positivo e negativo.

8.2 Preparazione del campione da colture

Per l'isolamento del DNA dalla coltura si raccomanda la seguente procedura: Dispensare 1 µl di acqua per PCR in una provetta di preparazione. Raccogliere le colonie con un'ansa da inoculo e sospenderle nell'acqua per PCR preparata. Tagliare o rompere il gambo dell'ansa da inoculo. Chiudere la provetta di preparazione ermeticamente e agitare vigorosamente per 60 secondi. Scaldare e agitare la provetta di preparazione a 95 °C per 10 minuti in un modulo riscaldante. Centrifugare per 1 minuto a 13,000 x g e applicare il surnatante come campione.

Nota: ripetere la fase di centrifugazione in caso di forte torbidità (se necessario).

Il kit RIDA[®]GENE Clostridium difficile contiene un **Internal Control DNA** che rivela l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia sufficiente. L' **Internal Control DNA** può essere utilizzato come controllo dell'inibizione della PCR o come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR.

Se l' **Internal Control DNA** viene usato solo come controllo di inibizione della PCR, aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla Master Mix (vedere Tab. 4).

Se l' **Internal Control DNA** viene usato come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR, aggiungere 20 µl di **Internal Control DNA** durante la procedura di estrazione. L' **Internal Control DNA** deve sempre essere aggiunto alla miscela campione-acqua per PCR e **non** direttamente ai campioni. Si raccomanda inoltre di aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla PCR Mix di controllo positivo e negativo.

9. Esecuzione del test

9.1 Preparazione della Master Mix

Calcolare il numero totale di reazioni di PCR (reazioni campione e di controllo) necessarie. Ogni volta che viene eseguito il test è necessario includere un controllo positivo e un controllo negativo.

Si raccomanda di calcolare un volume aggiuntivo del 10 % a compensazione di un pipettaggio non preciso (vedere Tab. 3, Tab. 4). Prima dell'uso scongelare, miscelare delicatamente e centrifugare brevemente la **Reaction Mix**, la **Taq-Polymerase**, il **Positive Control**, il **No Template Control** e l' **Internal Control DNA**. Durante la fase di lavorazione tenere i reagenti adeguatamente refrigerati (2-8 °C).

Tab. 3: Esempio di calcolo e pipettaggio per 10 reazioni della Master Mix (ICD come controllo di estrazione e inibizione della PCR)

Codice del kit	Componenti della Master Mix	Volume per reazione	10 reazioni (10 % extra)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
	Totale	20 µl	220 µl

Miscelare con cura i componenti della Master Mix ed eseguire un breve spin down.

Tab. 4: Esempio di calcolo e pipettaggio per 10 reazioni della Master Mix (ICD solo come controllo di inibizione della PCR)

Codice del kit	Componenti della Master Mix	Volume per reazione	10 reazioni (10% extra)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
D	Internal Control DNA	1,0 µl	11 µl
	Totale	21,0 µl	231,0 µl

Miscelare con cura i componenti della Master Mix ed eseguire un breve spin down.

9.2 Preparazione della PCR Mix

Pipettare 20 µl della Master Mix in ogni cuvetta di reazione (provetta o piastra).

Controllo negativo: dispensare 5 µl di **No Template Control** nella Master Mix pre-pipettata.

Nota: se l' **Internal Control DNA** viene usato come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione

della PCR, si raccomanda di aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla PCR Mix del controllo negativo.

Campione: dispensare 5 µl di estratto di DNA alla Master Mix pre-pipettata.

Controllo positivo: dispensare 5 µl di **Positive Control** alla Master Mix pre-pipettata.

Nota: se l' **Internal Control DNA** viene usato come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR, si raccomanda di aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla PCR Mix del controllo positivo.

Coprire le provette o la piastra. Eseguire lo spin down e collocarle nello strumento per PCR real time. La reazione PCR deve essere avviata in base all'impostazione dello strumento per PCR (vedere Tab. 5, Tab. 6, Tab.7, Tab. 8).

9.3 Impostazione dello strumento per PCR

9.3.1 Profilo della PCR real-time per DNA

Tab. 5: Profilo della PCR real-time per DNA per la serie LightCycler® e Rotor-Gene Q

Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	10 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	15 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura / velocità di rampa	Massima

Nota: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

Tab. 6: Profilo della PCR real-time per DNA per Mx3005P, ABI7500 e CFX96™

Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	15 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	30 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura / velocità di rampa	Massima

Nota: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

9.3.2 Profilo PCR real-time universale

Nota: Il profilo per PCR real-time universale deve essere utilizzato per i test del DNA solo quando i test di PCR real-time RIDA®GENE DNA e RNA vengono effettuati in un unico ciclo.

Tab. 7: Profilo PCR real-time universale per la serie LightCycler®

<u>Trascrizione inversa</u>	10 min, 58 °C
Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	10 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	15 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura / velocità di rampa	Massima

Nota: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

Tab. 8: Profilo PCR real-time universale per Mx3005P, ABI7500, Rotor-Gene Q e CFX96™

<u>Trascrizione inversa</u>	10 min, 58 °C
Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	15 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	30 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura / velocità di rampa	Massima

Nota: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

9.4 Impostazione del canale di rivelazione

Tab. 9: Selezione dei canali di rivelazione appropriati

Strumento per la PCR real-time	Rivelazione	Canale di rivelazione	Nota
Roche LightCycler® 480II	<i>Clostridium difficile</i>	465/510	RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) necessario
	ICD	533/580	
	Gene tossina A/B di <i>C. difficile</i>	618/660	
ABI 7500	<i>Clostridium difficile</i>	FAM	Controllare che l'opzione di riferimento passivo ROX sia impostata su nessuno
	ICD	VIC	
	Gene tossina A/B di <i>C. difficile</i>	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>Clostridium difficile</i>	FAM	Controllare che non vi sia colorante di riferimento
	ICD	HEX	
	Gene tossina A/B di <i>C. difficile</i>	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>Clostridium difficile</i>	Verde	L'amplificazione (gain) deve essere regolata su 5, in base alle impostazioni predefinite
	ICD	Giallo	
	Gene tossina A/B di <i>C. difficile</i>	Rosso	
Bio-Rad CFX96™	<i>Clostridium difficile</i>	FAM	
	ICD	VIC	
	Gene tossina A/B di <i>C. difficile</i>	Cy5	

10. Controllo qualità

L'analisi dei campioni viene eseguita dal software dello strumento per PCR real-time utilizzato, in base alle istruzioni del produttore. Perché l'esecuzione sia valida, i controlli positivo e negativo devono mostrare risultati corretti (vedere Tabella 10, Fig. 1, Fig. 2).

Il **Positive Control** per *Clostridium difficile* e i geni delle tossine A/B di *Clostridium difficile* ha una concentrazione di 10^3 copie/ μ l. In ogni ciclo di PCR viene usato in una quantità totale di 5×10^3 copie, rispettivamente.

Tab. 10: Perché l'esecuzione sia valida occorre che siano soddisfatte le seguenti condizioni:

Campione	Risultato del test	Ct ICD	Ct Target
Controllo positivo	Positivo	NA ^{*1}	Vedere certificato di garanzia di qualità
Controllo negativo	Negativo	Ct > 20	0

^{*1} Per ottenere un risultato positivo del controllo positivo non occorre un valore Ct per l'ICD.

Se il controllo positivo non è positivo nel range Ct specificato, ma il controllo negativo è valido, preparare tutte le reazioni nuove includendo i controlli.

Se il controllo negativo non è negativo, ma il controllo positivo è valido, preparare tutte le reazioni nuove includendo i controlli.

Se i criteri richiesti non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità della strumentazione utilizzata
- Corretta esecuzione del test

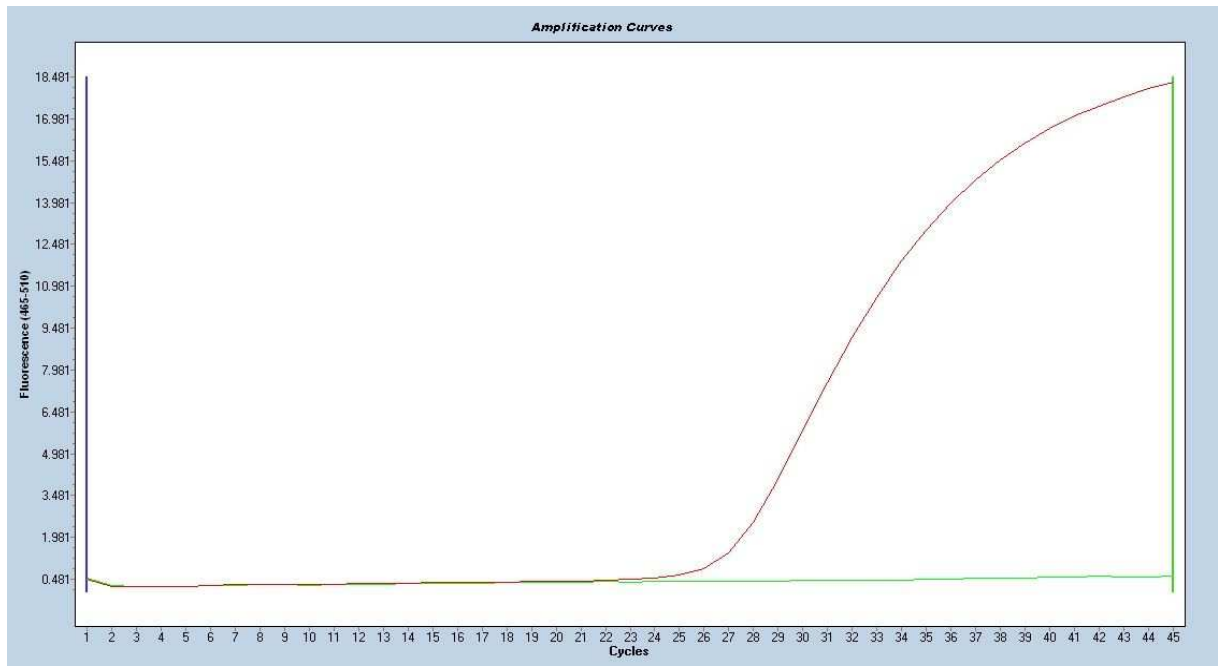


Fig. 1: Esecuzione corretta del controllo positivo e negativo (*Clostridium difficile*) sul LightCycler® 480II

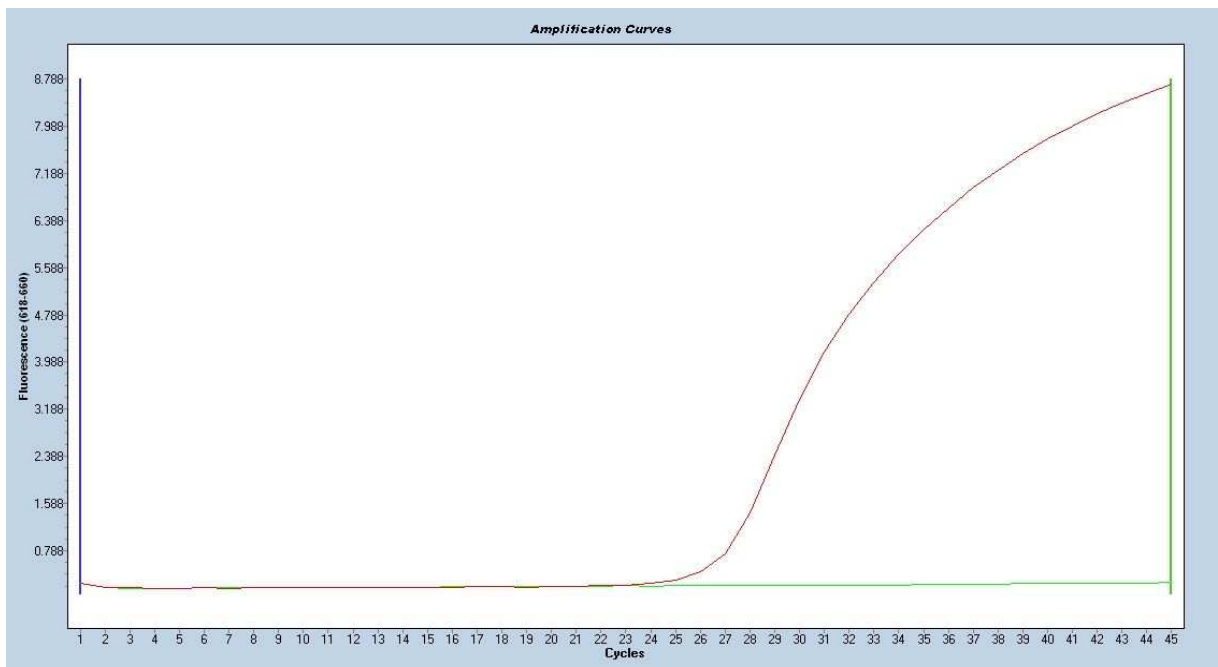


Fig. 2: Esecuzione corretta del controllo positivo e negativo (gene tossina A/B di *C. difficile*) sul LightCycler® 480II

11. Interpretazione del risultato

Il risultato viene interpretato in base alla Tabella 11.

Tab. 11: Interpretazione del campione

Geni target			
<i>C. difficile</i>	Geni tossine A/B	ICD	Risultato
positivo	positivo	positivo/negativo	Ceppo tossigeno di <i>C. difficile</i> rivelato
positivo	negativo	positivo/negativo	Ceppo non tossigeno di <i>C. difficile</i> rivelato
negativo	positivo	positivo/negativo	Non valido
negativo	negativo	positivo	Geni target non rivelati
negativo	negativo	negativo	Non valido

La rivelazione di un ceppo di *C. difficile* tossigeno o non tossigeno avviene se nel sistema di rivelazione sia il DNA del campione sia l' **Internal Control DNA** mostrano un segnale di amplificazione.

Inoltre, la rivelazione di un ceppo di *C. difficile* tossigeno o non tossigeno avviene anche se nel sistema di rivelazione il DNA del campione mostra un segnale di amplificazione, ma l' **Internal Control DNA** non mostra nessun segnale di amplificazione. La rivelazione del controllo di amplificazione interno non è necessaria, in quanto elevate concentrazioni dell'amplicone possono far sì che il segnale dell' **Internal Control DNA** sia debole o assente.

La rivelazione di un ceppo di *C. difficile* tossigeno o non tossigeno non avviene se nel sistema di rivelazione il DNA del campione non mostra alcun segnale di amplificazione, ma è presente un segnale di amplificazione per l' **Internal Control DNA**. La rivelazione dell' **Internal Control DNA** esclude l'inibizione della reazione di PCR.

Un campione non è valido se né il DNA del campione né l' **Internal Control DNA** mostrano segnali di amplificazione nel sistema di rivelazione. In questo caso il campione contiene un inibitore della PCR o si è verificato un errore nella procedura di estrazione. Il campione estratto deve essere ulteriormente diluito con acqua per PCR (1:10) e ri-amplificato, oppure occorre migliorare l'isolamento e la purificazione del campione.

12. Limiti del metodo

1. Il risultato dell'analisi molecolare non deve condurre alla diagnosi, ma deve essere sempre considerato nel contesto dell'anamnesi medica e dei sintomi del paziente.
2. Questo test è idoneo solo per campioni fecali e colturali.
3. Procedure errate di raccolta, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni o un carico di agenti patogeni nei campioni al di sotto della sensibilità analitica possono produrre falsi negativi.
4. La presenza di inibitori della PCR può causare risultati non validi.
5. Le mutazioni o i polimorfismi nelle regioni di legame del primer o della sonda possono influenzare la rivelazione di nuove varianti e determinare un risultato falso negativo con il test RIDA[®]GENE Clostridium difficile.
6. Come per tutti i test diagnostici *in vitro* basati sulla PCR, livelli estremamente bassi di target sotto il limite di rivelabilità (LoD) possono essere rivelati, ma i risultati potrebbero non essere riproducibili.
7. Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Tuttavia, un risultato positivo è indicativo della presenza dei geni target (16s-rDNA, tcdA/tcdB).

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1 Sensibilità analitica

Il test RIDA[®] GENE Clostridium difficile di PCR multiplex real time ha un limite di rivelazione ≥ 10 copie di DNA per reazione per *Clostridium difficile* e o geni delle tossine di *C. difficile* (vedere Fig. 3, Fig. 4).

Le figure 3 e 4 seguenti mostrano le serie di diluizioni di *Clostridium difficile* e geni delle tossine di *C. difficile* (ciascuno $10^5 - 10^1$ copie di DNA per μl) sul LightCycler[®] 480II.

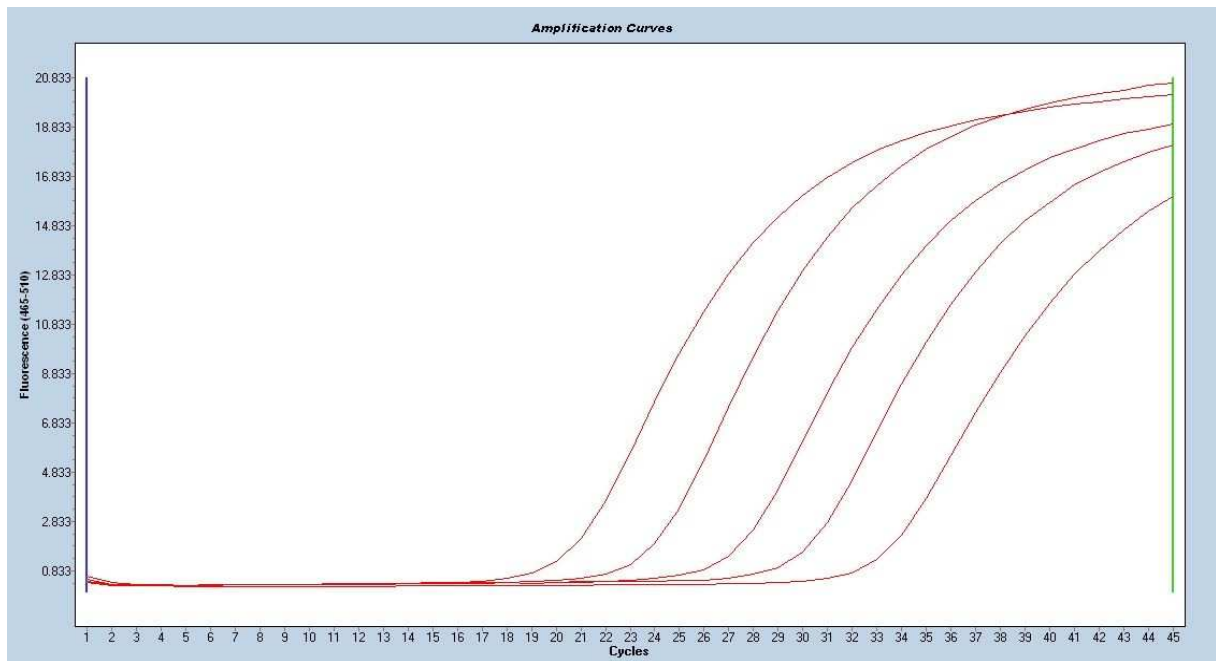


Fig. 3: Serie di diluizioni di *Clostridium difficile* ($10^5 - 10^1$ copie di DNA / μl) sul LightCycler[®] 480II

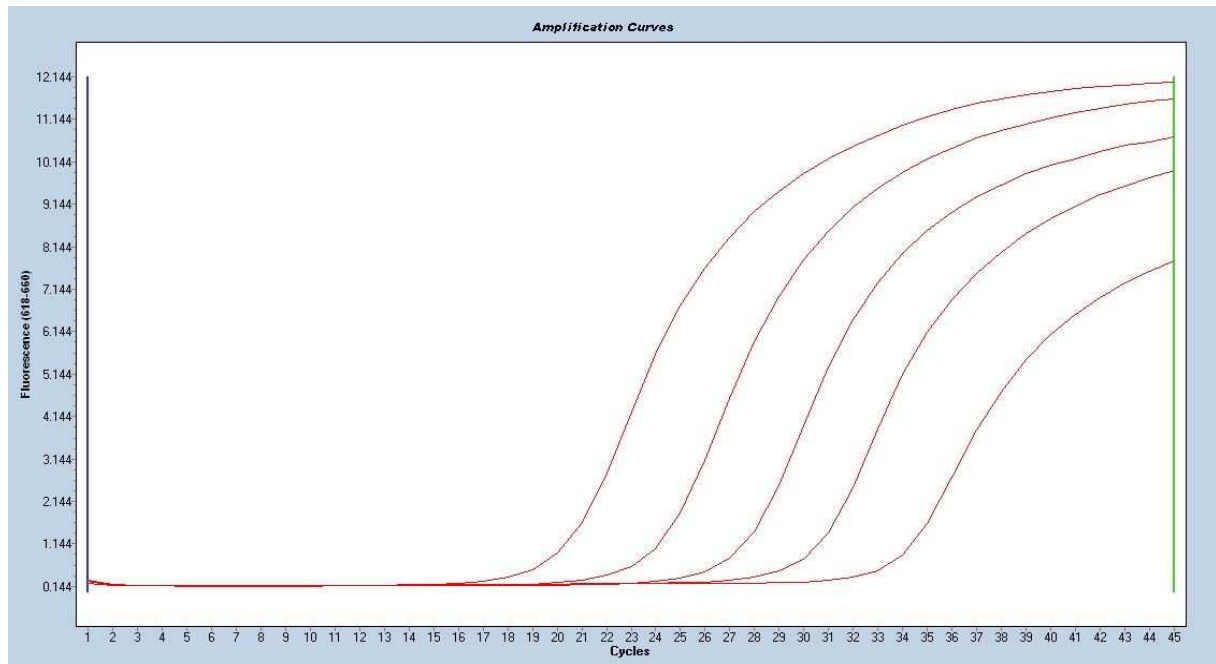


Fig. 4: Serie di diluizioni di geni delle tossine A/B di *C. difficile* (10^5 - 10^1 copie di DNA / μ l) sul LightCycler® 480II

Il limite di rivelabilità dell'intera procedura dipende dalla matrice del campione, dall'estrazione del DNA e dalla concentrazione del DNA.

13.2 Specificità analitica

Il test RIDA®GENE Clostridium difficile PCR multiplex real-time è specifico per *Clostridium difficile* (16s-rDNA) e i geni delle tossine A/B di *C. difficile*. Non è stata rilevata alcuna reazione crociata per le seguenti specie (vedere Tab. 12):

Tab. 12: Test di reattività crociata

Adenovirus 1, umano, ceppo Adenoid 71	-	<i>Campylobacter lari</i> sottosp. <i>lari</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
Adenovirus 7, umano, ceppo Gomen	-	<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Adenovirus 40, umano, ceppo Dugan	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	Rotavirus	-
Adenovirus 41, umano, ceppo Tak	-	<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium bifirmentans</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
Astrovirus	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland 1	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Clostridium septicum</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB Clone C6	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>Clostridium sordellii</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Campylobacter fetus</i> sottosp. <i>fetus</i>	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-	Norovirus GG I	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	Norovirus GG II	-		

13.3 Reattività analitica

La reattività del test PCR multiplex real-time RIDA® GENE Parasitic Stool Panel II è stata testata con *Clostridium difficile* (vedere Tab. 13). Tutti i ceppi di *Clostridium difficile* testati sono stati rivelati con il test PCR multiplex real-time RIDA® GENE Parasitic Stool Panel II o mediante allineamento di sequenze.

Tab. 13: Test di reattività analitica










<i>Clostridium difficile</i>					
<i>C. difficile</i> ribotipo 001	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 027	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 078	+
<i>C. difficile</i> ribotipo 002	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 046	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 0126	+
<i>C. difficile</i> ribotipo 017	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 056	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 0131	+
<i>C. difficile</i> ribotipo 020	+	<i>C. difficile</i> ribotipo 075	+	<i>C. difficile</i> ribotipo FK012	+
<i>C. difficile</i> ribotipo 023	+				
<i>C. difficile</i> tossinotipo 0	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo X	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXI	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo I	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XIa	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXII	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo II	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XIb	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXIV	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo IIIa	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XIc	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXV	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo IIIb	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XI d	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXVI	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo IIIc	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XII	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXVII	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo IV	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XIII	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXVIII	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo V	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XIVa	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXIX	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo VI	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XIVb	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXX	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo VII	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XVI	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXXI	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo VIII	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XVII	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXXII	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo IXa	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XVIII	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXXIII	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo IXb	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XIX	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XXXIV	+
<i>C. difficile</i> tossinotipo IXc	+	<i>C. difficile</i> tossinotipo XX	+		

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e designazione
17/04/2013	Versione di rilascio
11/05/2018	Revisione generale
11/05/2018	4. Contenuto della confezione 6. Reagenti aggiuntivi e dispositivi necessari 9. Esecuzione del test 10. Controllo qualità 13. Prestazioni e caratteristiche 14. Cronologia delle versioni 15. Descrizione dei simboli

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

	Diagnostica <i>in vitro</i>
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici nel testo

Non pertinente

16. Bibliografia

1. Hall IC and O'Toole E. Intestinal flora in new-born infants: with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *Am J Dis Child* 1935, 49: 390–402.
2. Bartlett JG, et al. Antibiotica-associated pseudomembranous colitis due to a toxin-producing clostridia. *N Engl J Med*, 1978; 298:531-543.
3. Bartlett JG and Gerding DN. Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *CID* 2008, 46: S12-18.
4. Bartlett JG. Narrative Review: The new Epidemic of *Clostridium difficile*-Associated Enteric Disease. *Ann Intern Med* 2006; 145:758-764.