

RIDA® GENE Viral Stool Panel I

REF PG1315



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDA®GENE Viral Stool Panel I es una RT-PCR multiplex en tiempo real para la diferenciación y la detección cualitativa directa de norovirus, rotavirus, adenovirus 40/41 y astrovirus en muestras de heces humanas.^{1,2,3,4} La RT-PCR multiplex en tiempo real de RIDA®GENE Viral Stool Panel I está prevista para usarse como una ayuda en el diagnóstico de gastroenteritis causada por norovirus, rotavirus, adenovirus 40/41 y astrovirus, respectivamente.

2. Resumen y descripción del ensayo

La gastroenteritis aguda es una de las causas principales de morbimortalidad en todo el mundo. Especialmente en los niños, los virus entéricos son la causa principal de gastroenteritis. En los EE. UU., las infecciones virales causan aproximadamente 30.8 millones de casos de gastroenteritis cada año.⁵ Los patógenos más importantes que causan diarrea son los norovirus, rotavirus, adenovirus y astrovirus.

Los norovirus pertenecen a la familia *Caliciviridae* y son virus de ARN monocatenario (ARNmc). La gastroenteritis causada por norovirus se manifiesta por náuseas, vómitos y diarrea importantes. Los norovirus se expulsan en las heces y los vómitos.

Actualmente, se pueden agrupar en 7 genogrupos con más de 30 genotipos y multitud de subtipos («clades»). Hasta el momento, solo se han descrito patógenos humanos del genogrupo I (GI) con 9 genotipos, del genogrupo II (GII) con 22 genotipos y del genogrupo IV (GIV) con dos genotipos.^{7,8} En los Estados Unidos, se calcula que las infecciones por norovirus causan más de 21 millones de casos de gastroenteritis aguda, 70,000 hospitalizaciones y 800 muertes cada año.⁶

Los rotavirus pertenecen a la familia *Reoviridae* de virus de ARN bicatenario (ARNbc) icosaédricos sin envoltura. Los síntomas de la infección por rotavirus son por lo general vómitos, diarrea líquida y dolor abdominal. El virus se transmite por vía fecal-oral, a través de las manos y los objetos contaminados. Los rotavirus son la causa principal de diarrea en niños menores de cinco años y se calcula que son los responsables de la muerte de unos 611,000 niños cada año en todo el mundo.⁹ Los rotavirus se clasifican en siete serogrupos (A a G); de estos, los virus del serogrupo A tienen una gran importancia epidemiológica.¹⁰

Los adenovirus pertenecen a la familia *Adenoviridae* de virus de ADN bicatenario (ADNbc) icosaédricos sin envoltura. Se pueden diferenciar 56 serotipos de adenovirus humanos, que se clasifican en siete grupos (A a G). Los adenovirus causan principalmente enfermedades respiratorias, mientras que la gastroenteritis se debe principalmente a los serotipos 40 y 41.^{11,12}

Los astrovirus son virus de ARN monocatenario (ARNmc) y pertenecen a la familia *Astroviridae*. Una gastroenteritis dependiente de astrovirus se manifiesta principalmente por diarrea, pero también puede ir acompañada de vómitos y fiebre. En los países desarrollados, la incidencia de astrovirus es de entre 2 y 9 %, y la enfermedad afecta principalmente a niños menores de dos años.¹³ Hasta ahora se

han descrito 8 serotipos; los serotipos 1 a 5 son los más relevantes. La infección se transmite por alimentos contaminados, a través del agua y por vía fecal-oral.¹⁵

3. Principio del ensayo

RIDA®GENE Viral Stool Panel I es un ensayo de PCR multiplex en tiempo real para la detección cualitativa directa y la diferenciación de ARN de norovirus, rotavirus y astrovirus, y de ADN de adenovirus 40/41, en muestras de heces humanas. La detección se lleva a cabo en un formato de RT-PCR en tiempo real en un paso, donde la transcripción inversa (RT) va seguida de la PCR en el mismo tubo de reacción. El ARN aislado se transcribe en ADNc por la acción de la transcriptasa inversa. A continuación, se produce la amplificación de los fragmentos génicos específicos de norovirus (región de unión ORF1/ORF2), rotavirus (NSP3), adenovirus 40/41 (exón) y astrovirus (CAP; proteína de la cápside).

Las dianas amplificadas se detectan mediante sondas de hidrólisis, marcadas en un extremo con un extintor de fluorescencia y en el otro con un colorante fluorescente indicador (fluoróforo). En presencia de una diana, las sondas se hibridan a los amplicones. Durante el paso de extensión, la **Taq-Polymerase** rompe la proximidad del indicador-extintor.

El indicador emite una señal fluorescente que se detecta en la unidad óptica de un equipo de PCR en tiempo real. La señal fluorescente aumenta en función de la cantidad de amplicones formados. El ensayo RIDA®GENE Viral Stool Panel I contiene un **Internal Control RNA** (ICR) como control interno del procedimiento de preparación de la muestra y para determinar la posible inhibición de la PCR.

4. Reactivos suministrados

Tabla 1: Reactivos suministrados (los reactivos del kit son suficientes para 100 determinaciones.)

Código del kit	Reactivo	Cantidad		Color de la tapa
1	Reaction Mix	2x	1,050 µl	amarillo
2	Enzyme Mix	1x	80 µl	rojo
R	Internal Control RNA	2x	1,700 µl	café
N	No Template Control	1x	450 µl	blanco
P	Positive Control	1x	200 µl	azul

5. Instrucciones de almacenamiento

- Todos los reactivos deben conservarse protegidos de la luz y a una temperatura de -20 °C. Todos los reactivos pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad. Después de la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida.
- Descongele con cuidado los reactivos antes de usarlos (p. ej., en un refrigerador a entre 2 °C y 8 °C).
- Los reactivos admiten hasta 20 ciclos de congelación/descongelación sin que esto afecte a la eficacia diagnóstica del ensayo (p. ej., tras la primera descongelación, es conveniente separar en alícuotas y congelar de inmediato).
- Durante la preparación de la PCR, todos los reactivos deben conservarse en frío de manera adecuada (2 °C a 8 °C).

6. Reactivos adicionales necesarios y equipo necesario

El ensayo de RT-PCR multiplex en tiempo real de RIDA®GENE Viral Stool Panel I es adecuado para usarse con las siguientes plataformas de extracción y equipos de PCR en tiempo real:

Tabla 2: Equipo necesario

Plataforma de extracción	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Equipo de PCR en tiempo real	
Roche	LightCycler® 480II
Agilent Technologies	Mx3005P

Si desea utilizar otras plataformas de extracción o equipos de PCR en tiempo real, póngase en contacto con R-Biopharm en mdx@r-biopharm.de.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) para uso con el LightCycler® 480II
- Consumibles para PCR en tiempo real (placas, tubos, papel aluminio)
- Centrífuga y rotor para los viales de reacción
- Agitador de vórtex
- Pipetas (0.5 a 20 µl, 20 a 200 µl, 100 a 1,000 µl)
- Puntas con filtro
- Guantes desechables sin talco
- Agua para PCR (agua de grado BioScience, sin nucleasas)

7. Precauciones para los usuarios

Para el diagnóstico *in vitro*.

- Este ensayo solo debe llevarlo a cabo personal de laboratorio capacitado. Respete las directrices para el trabajo en laboratorios médicos.
- Siga las indicaciones del manual de instrucciones para la ejecución del ensayo.
- No pipetee muestras ni reactivos con la boca. Evite el contacto con piel herida o mucosas.
- Durante la manipulación de reactivos o muestras, lleve ropa de seguridad adecuada (guantes apropiados, bata de laboratorio, gafas protectoras) y lávese las manos al finalizar la ejecución del ensayo.
- No fume, coma ni beba en las zonas en las que se estén utilizando las muestras o los reactivos.
- La extracción, la preparación de la PCR y la PCR propiamente dicha deben llevarse a cabo en diferentes salas para evitar la contaminación cruzada.
- Las muestras deben tratarse como potencialmente infecciosas, al igual que todos los reactivos y materiales expuestos a las muestras, y deben manipularse según las normas nacionales de seguridad.
- No utilice el kit después de la fecha de caducidad.
- Todos los reactivos y materiales usados se deben eliminar correctamente después del uso. Consulte las normas nacionales pertinentes para la eliminación.

Para obtener más información, consulte la hoja de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com

8. Obtención y almacenamiento de muestras

8.1 Preparación de las muestras a partir de muestras de heces

Para el aislamiento del ADN/ARN de muestras de heces humanas, use un kit de extracción de ácidos nucleicos (p. ej. RIDA[®] Xtract [R-Biopharm]) o un sistema de extracción de ARN (p. ej., Maxwell[®] RSC [Promega]) disponibles en el mercado. Extraiga el ácido nucleico viral siguiendo las instrucciones del fabricante. Se recomienda diluir las muestras de heces 1:10 con agua antes de la extracción. Mezcle la muestra en un agitador de vórtex a alta velocidad y centrifúguela a 13,000 x g durante 1 min. Use el volumen de sobrenadante adecuado, según las instrucciones del fabricante.

El ensayo RIDA[®]GENE Viral Stool Panel I contiene un Internal Control RNA que detecta la inhibición de la PCR, monitorea la integridad de los reactivos y confirma que la extracción de ácidos nucleicos haya sido suficiente. El Internal Control RNA puede usarse como control de inhibición de la PCR, o como control de extracción para el procedimiento de preparación de las muestras y control de inhibición de la PCR.

Si el **Internal Control RNA** se usa únicamente como control de inhibición de la PCR, se debe agregar 1 µl de **Internal Control RNA** a la mezcla maestra (consulte la tabla 4).

Si el **Internal Control RNA** se usa como control de extracción del procedimiento de preparación de las muestras **y** como control de inhibición de la PCR, se debe agregar 20 µl de **Internal Control RNA** durante el procedimiento de extracción. El **Internal Control RNA** debe agregarse siempre a la mezcla de la solución amortiguadora de lisado de muestras, y **no** directamente a la muestra. También se recomienda agregar 1 µl de **Internal Control RNA** a la mezcla para PCR del control negativo y del control positivo.

9. Ejecución del ensayo

9.1 Preparación de la mezcla maestra

Calcule el número total de reacciones de PCR necesarias (reacciones de muestra y de control). En cada ensayo debe incluirse un control positivo y un control negativo.

Se recomienda calcular un 10 % de volumen adicional para compensar las imprecisiones en el pipeteo (consulte las tablas 3 y 4). Descongele, mezcle suavemente y centrifugue brevemente la **Reaction Mix**, la **Enzyme Mix**, el **Positive Control**, el **No Template Control** y el **Internal Control RNA** antes de usarlos. Conserve los reactivos correctamente en frío (2 °C a 8 °C) durante la etapa de trabajo.

Tabla 3: Ejemplo de cálculo y pipeteo para 10 reacciones de la mezcla maestra (ICR como control de extracción y de inhibición de la PCR)

Código del kit	Componentes de la mezcla maestra	Volumen por reacción	10 reacciones (10 % adicional)
1	Reaction Mix	19.3 µl	212.3 µl
2	Enzyme Mix	0.7 µl	7.7 µl
	Total	20 µl	220 µl

Mezcle suavemente los componentes de la mezcla maestra y centrifúguelos brevemente.

Tabla 4: Ejemplo de cálculo y pipeteo para 10 reacciones de la mezcla maestra (ICR como control de inhibición de la PCR únicamente)

Código del kit	Componentes de la mezcla maestra	Volumen por reacción	10 reacciones (10 % adicional)
1	Reaction Mix	19.3 µl	212.3 µl
2	Enzyme Mix	0.7 µl	7.7 µl
R	Internal Control RNA	1.0 µl	11 µl
	Total	21.0 µl	231.0 µl

Mezcle suavemente los componentes de la mezcla maestra y centrifúguelos brevemente.

9.2 Preparación de la mezcla de PCR

Pipetee 20 µl de mezcla maestra en cada vial de reacción (tubo o placa).

Control negativo: Agregue 5 µl de **No Template Control** a la mezcla maestra prepipeteada.

Nota: Si el **Internal Control RNA** se utiliza como control de extracción del procedimiento de preparación de las muestras y control de inhibición de la PCR, se recomienda agregar 1 µl de **Internal Control RNA** a la mezcla para RT-PCR del control negativo.

Muestra: Agregue 5 µl de extracto de ARN a la mezcla maestra prepipeteada.

Control positivo: Añada 5 µl de **Positive Control** a la mezcla maestra prepipeteada.

Nota: Si el **Internal Control RNA** se utiliza como control de extracción del procedimiento de preparación de las muestras y control de inhibición de la PCR, se recomienda agregar 1 µl de **Internal Control RNA** a la mezcla para RT-PCR del control positivo.

Tape los tubos o la placa. Centrifúguelos y colóquelos en el equipo de PCR en tiempo real. La reacción de RT-PCR debe iniciarse según la configuración del equipo de PCR (consulte las tablas 5 y 6).

9.3 Configuración del equipo de PCR

9.3.1 Perfil universal de RT-PCR en tiempo real

Tabla 5: Perfil universal de RT-PCR en tiempo real en el LightCycler® 480II

<u>Transcripción inversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturalización inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturalización	10 s, 95 °C
Hibridación/Extensión	15 s, 60 °C
Velocidad de transición de la temperatura / Velocidad de rampa	Máxima

Nota: La hibridación y la extensión se llevan a cabo en la misma etapa.

Tabla 6: Perfil universal de RT-PCR en tiempo real en el Mx3005P

<u>Transcripción inversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturalización inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturalización	15 s, 95 °C
Hibridación/Extensión	30 s, 60 °C
Velocidad de transición de la temperatura / Velocidad de rampa	Máxima

Nota: La hibridación y la extensión se llevan a cabo en la misma etapa.

Nota: El perfil universal de la PCR en tiempo real también puede usarse en los ensayos de ADN si se combinan en una corrida los ensayos de PCR en tiempo real de ADN RIDA®GENE y de ARN RIDA®GENE.

9.4 Configuración del canal de detección

Tabla 7: Selección de los canales de detección adecuados

Equipo de PCR en tiempo real	Detección	Canal de detección	Nota
Roche LightCycler® 480II	Adenovirus	440/488	Se necesita el RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004).
	Norovirus	465/510	
	ICR	533/580	
	Rotavirus	533/610	
	Astrovirus	618/660	
Agilent Techn. Mx3005P	Adenovirus	ATTO	Compruebe que el colorante de referencia sea «none» (ninguno). NOTA: «Filter Set Gain Settings» (Configuración de ganancia del juego de filtros) debe configurarse en 8 para ATTO.
	Norovirus	FAM	
	ICR	HEX	
	Rotavirus	ROX	
	Astrovirus	Cy5	

10. Control de calidad

El software del equipo de PCR en tiempo real usado analiza las muestras según las instrucciones del fabricante. Los controles positivo y negativo deben mostrar los resultados correctos (consulte la tabla 8, figuras 1, 2 y 3) para determinar una corrida válida.

El **Positive Control** para adenovirus 40/41, norovirus, rotavirus y astrovirus tiene una concentración de 10^3 copias/ μ l. En cada ensayo de PCR, se usa una cantidad total de 5×10^3 copias.

Tabla 8: Para que un ensayo sea válido, deben cumplirse las siguientes condiciones:

Muestra	Resultado del ensayo	Ct del ICR	Ct de la diana
Control positivo	Positivo	ND *1	Consulte el certificado de garantía de calidad.
Control negativo	Negativo	Ct > 20	0

*1 No se requiere un valor de Ct del ICR para determinar que el control positivo es positivo.

Si el control positivo no es positivo en el intervalo de Ct especificado, pero el control negativo es válido, prepare de nuevo todas las reacciones, incluidos los controles.

Si el control negativo no es negativo pero el control positivo es válido, prepare de nuevo todas las reacciones, incluidos los controles.

Si no se cumplen los criterios requeridos, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir el ensayo:

- Fecha de caducidad de los reactivos usados
- Funcionalidad de los equipos utilizados
- Ejecución correcta del ensayo

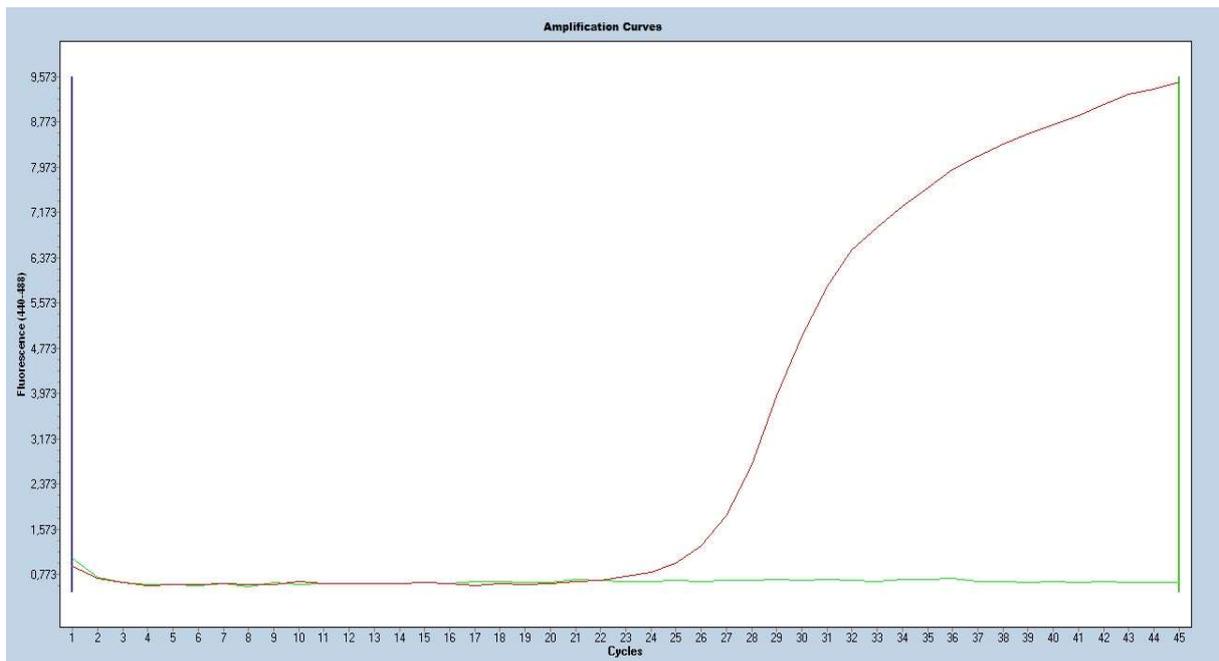


Fig. 1: Procesamiento correcto del control positivo y del control negativo (adenovirus) en el LightCycler® 480II

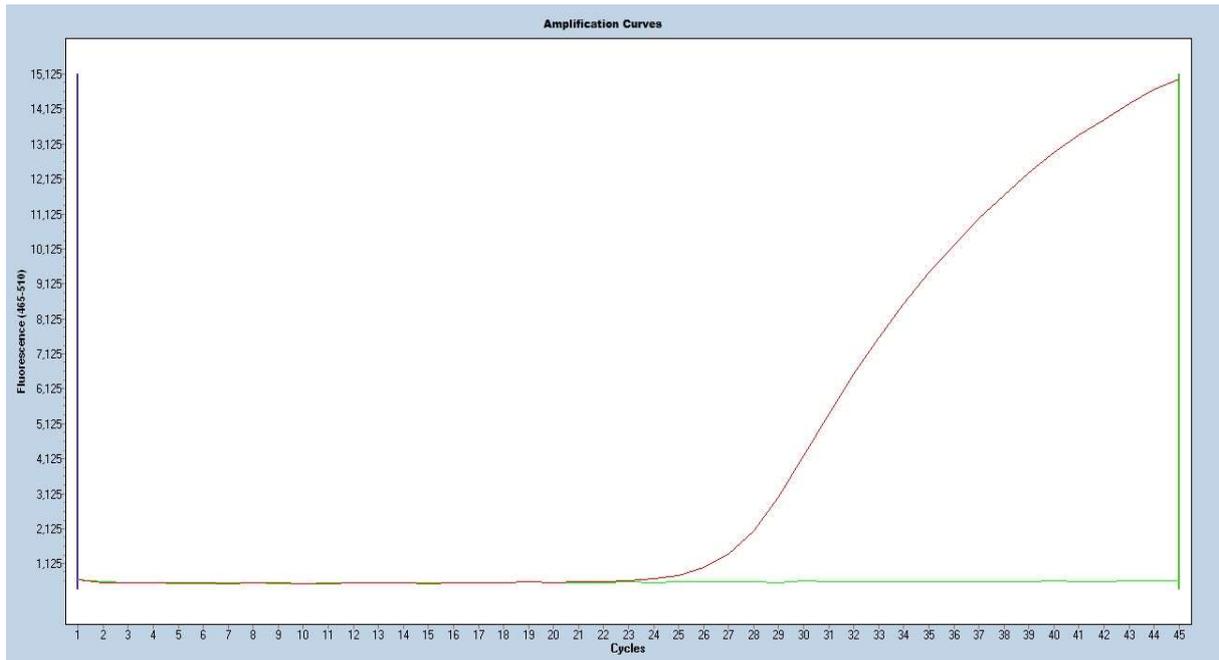


Fig. 2: Procesamiento correcto del control positivo y del control negativo (norovirus) en el LightCycler® 480II

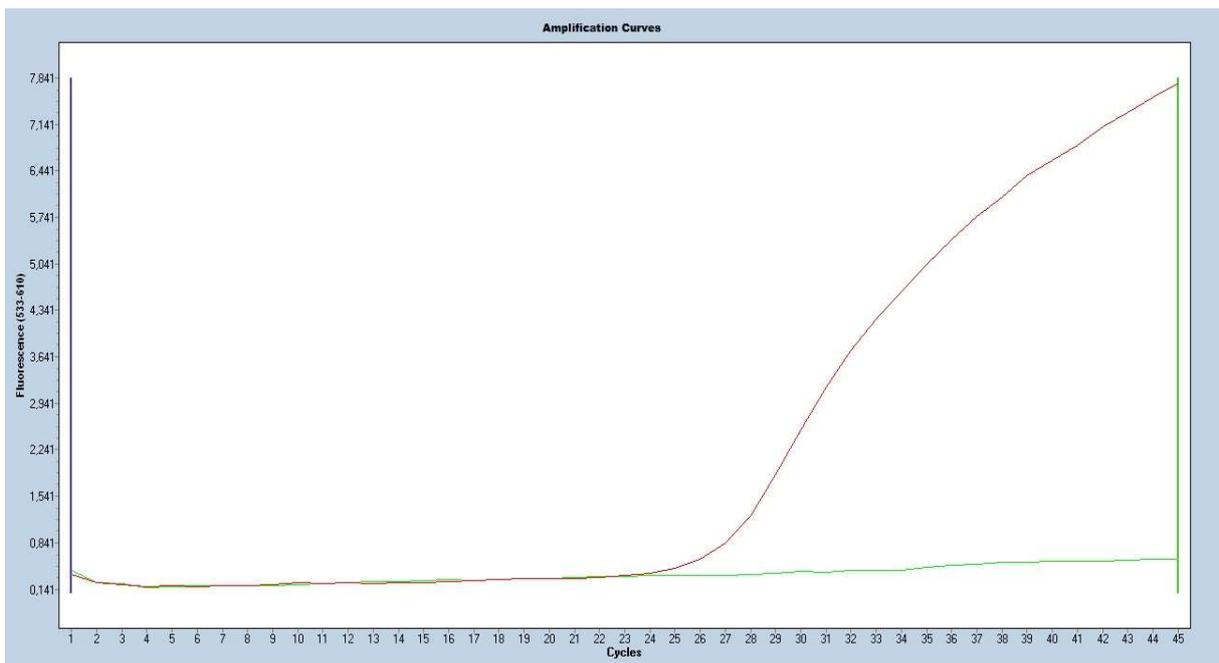


Fig. 3: Procesamiento correcto del control positivo y del control negativo (rotavirus) en el LightCycler® 480II

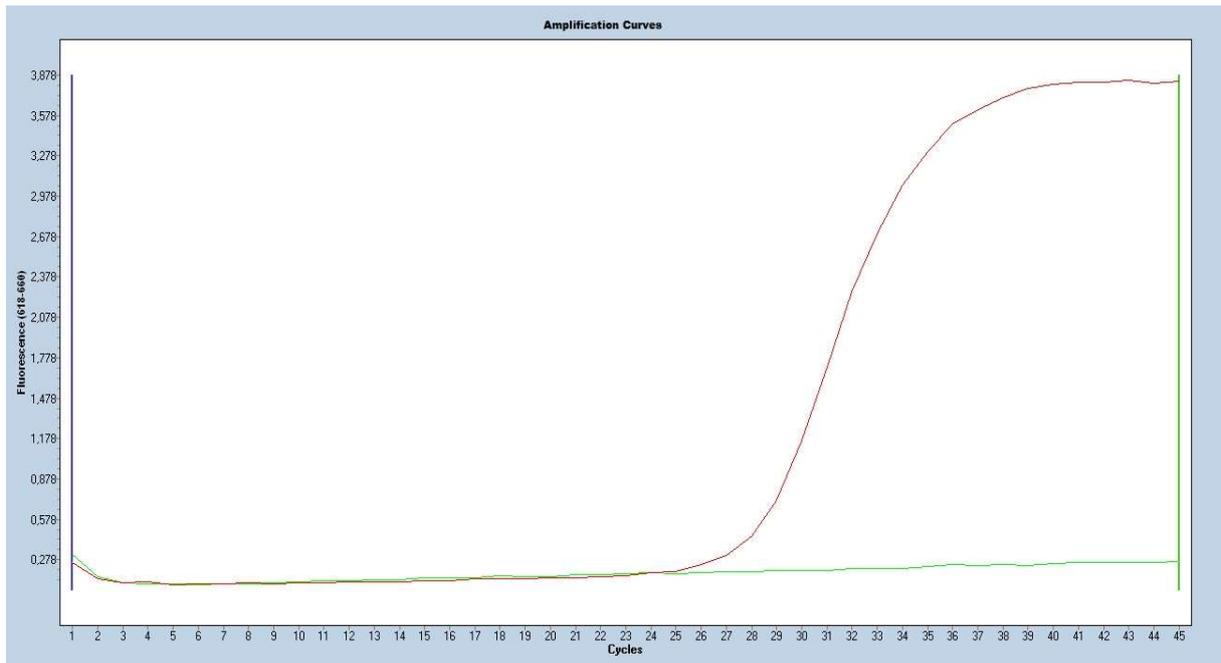


Fig. 4: Procesamiento correcto del control positivo y del control negativo (astrovirus) en el LightCycler® 480II

11. Interpretación de los resultados

La interpretación de los resultados se lleva a cabo según la tabla 9.

Tabla 9: Interpretación de las muestras

Genes diana				ICR	Resultado
Adenovirus	Norovirus	Rotavirus	Astrovirus		
positivo	negativo	negativo	negativo	positivo/negativo	Adenovirus detectado
negativo	positivo	negativo	negativo	positivo/negativo	Norovirus detectado
negativo	negativo	positivo	negativo	positivo/negativo	Rotavirus detectado
negativo	negativo	negativo	positivo	positivo/negativo	Astrovirus detectado
positivo	positivo	negativo	negativo	positivo/negativo	Adenovirus y norovirus detectados
positivo	negativo	positivo	negativo	positivo/negativo	Adenovirus y rotavirus detectados
positivo	negativo	negativo	positivo	positivo/negativo	Adenovirus y astrovirus detectados
negativo	positivo	positivo	negativo	positivo/negativo	Norovirus y rotavirus detectados
negativo	positivo	negativo	positivo	positivo/negativo	Norovirus y astrovirus detectados
negativo	negativo	positivo	positivo	positivo/negativo	Rotavirus y astrovirus detectados
positivo	positivo	positivo	negativo	positivo/negativo	Adenovirus, norovirus y rotavirus detectados
positivo	positivo	negativo	positivo	positivo/negativo	Adenovirus, norovirus y astrovirus detectados
positivo	negativo	positivo	positivo	positivo/negativo	Adenovirus, rotavirus y astrovirus detectados
negativo	positivo	positivo	positivo	positivo/negativo	Norovirus, rotavirus y astrovirus detectados
positivo	positivo	positivo	positivo	positivo/negativo	Adenovirus, norovirus, rotavirus y astrovirus detectados
negativo	negativo	negativo	negativo	positivo	Genes diana no detectados
negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	No válido

Se determina que una muestra es positiva si, tanto el ARN de la muestra como el **Internal Control RNA** muestran una señal de amplificación en el sistema de detección.

También se considera positiva si hay señal de amplificación del ARN de la muestra, pero no del **Internal Control RNA** en el sistema de detección. La detección del **Internal Control RNA** no es necesaria debido a que las altas concentraciones del amplicón pueden hacer que la señal del **Internal Control RNA** sea débil o esté ausente.

La muestra se considera negativa si no hay señal de amplificación del ARN de la muestra, pero hay señal de amplificación del **Internal Control RNA** en el sistema de detección. La inhibición de la reacción de PCR se puede excluir por la detección del **Internal Control RNA**.

La muestra no es válida si no hay señal de amplificación del ARN de la muestra ni del **Internal Control RNA** en el sistema de detección. La muestra contiene un inhibidor de la PCR. Es necesario diluir aún más la muestra extraída con agua para PCR (1:10) y amplificarla de nuevo, o bien, mejorar el aislamiento y la purificación de la muestra.

12. Limitaciones del método

1. El resultado del análisis molecular no debe dar lugar a un diagnóstico, sino considerarse siempre en el contexto del historial médico y los síntomas del paciente.
2. El ensayo RIDA®GENE Viral Stool Panel I solo está validado para muestras de heces.
3. La obtención, transporte, almacenamiento y procesamiento incorrectos de la muestra, o una carga viral en la muestra inferior a la sensibilidad analítica pueden dar lugar a resultados negativos falsos.
4. La presencia de inhibidores de la PCR puede ocasionar resultados no válidos.
5. Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión del cebador o la sonda pueden afectar a la detección de nuevas variantes, y producir un resultado negativo falso con el ensayo RIDA®GENE Viral Stool Panel I.
6. Como ocurre con todos los ensayos diagnósticos de PCR *in vitro*, podría detectarse un nivel sumamente bajo de la diana, por debajo del límite de detección (LoD), pero los resultados podrían no ser reproducibles.
7. Un resultado positivo del ensayo no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. No obstante, un resultado positivo indica la presencia de los genes diana (adenovirus 40/41 [exón], norovirus [región de unión ORF1/ORF2], rotavirus [NSP3] y astrovirus [CAP; proteína de la cápside]).
8. Los norovirus del genogrupo IV, que muy rara vez infectan a los humanos, también se detectan con el ensayo RIDA®GENE Viral Stool Panel I.

9. Con RIDA®GENE Viral Stool Panel I, solo se detectan los serotipos 40 y 41 de adenovirus, que causan principalmente gastroenteritis. Los serotipos 1, 2, 5, 6, 12, 18 y 31 rara vez se asocian con diarrea aguda y, por lo tanto, este ensayo de PCR en tiempo real no los detecta.
10. La mucina puede producir interferencias a una concentración igual o superior a 2.5 % (v/v).

13. Características de rendimiento

13.1 Sensibilidad analítica

La RT-PCR multiplex en tiempo real de RIDA®GENE Viral Stool Panel I tiene un límite de detección de ≥ 50 copias de ARN por reacción.

Las siguientes figuras 5, 6, 7 y 8 muestran una dilución seriada de adenovirus (10^5 – 10^1 copias de ADN por μl), norovirus, rotavirus y astrovirus (10^5 – 10^1 copias de ARN por μl) en el LightCycler® 480II.

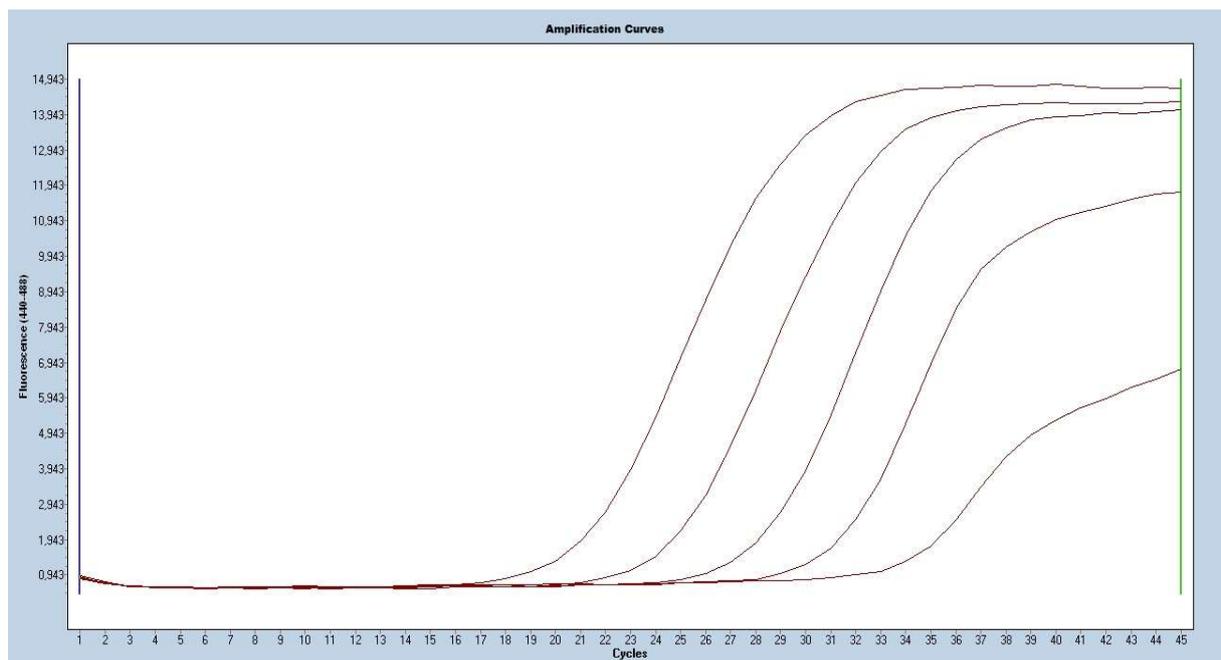


Figura 5: Dilución seriada de adenovirus (10^5 a 10^1 copias de ADN por μl) en el LightCycler® 480II

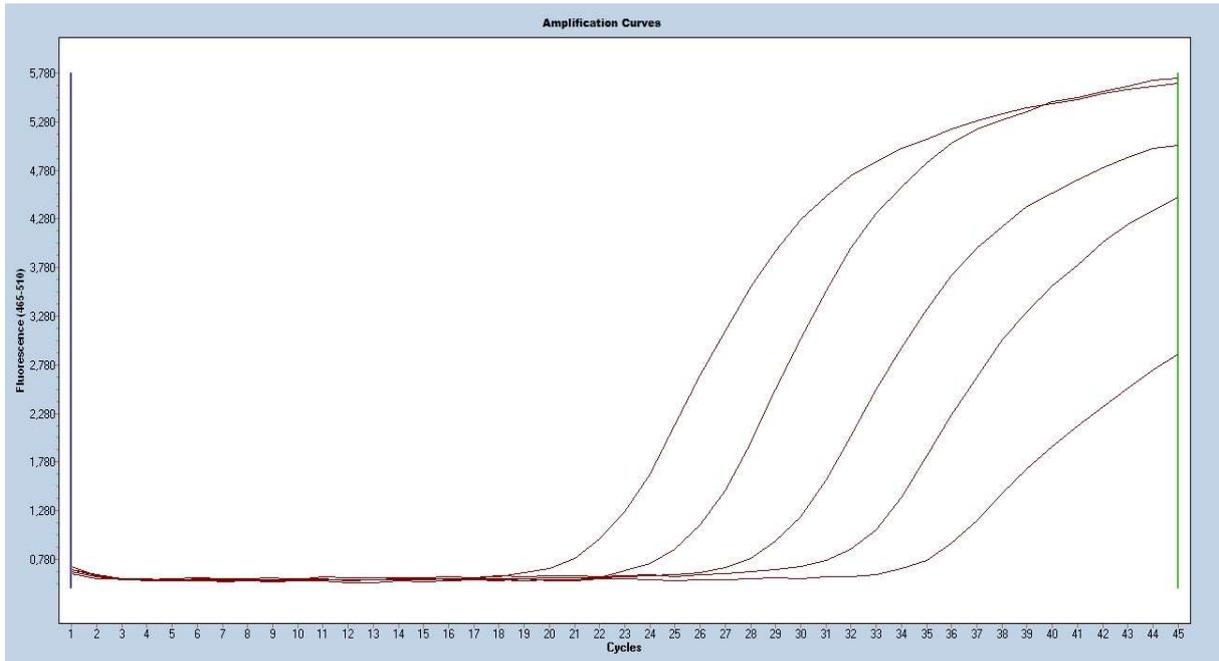


Figura 6: Dilución seriada de norovirus (10^5 a 10^1 copias de ARN por μ l) en el LightCycler® 480II

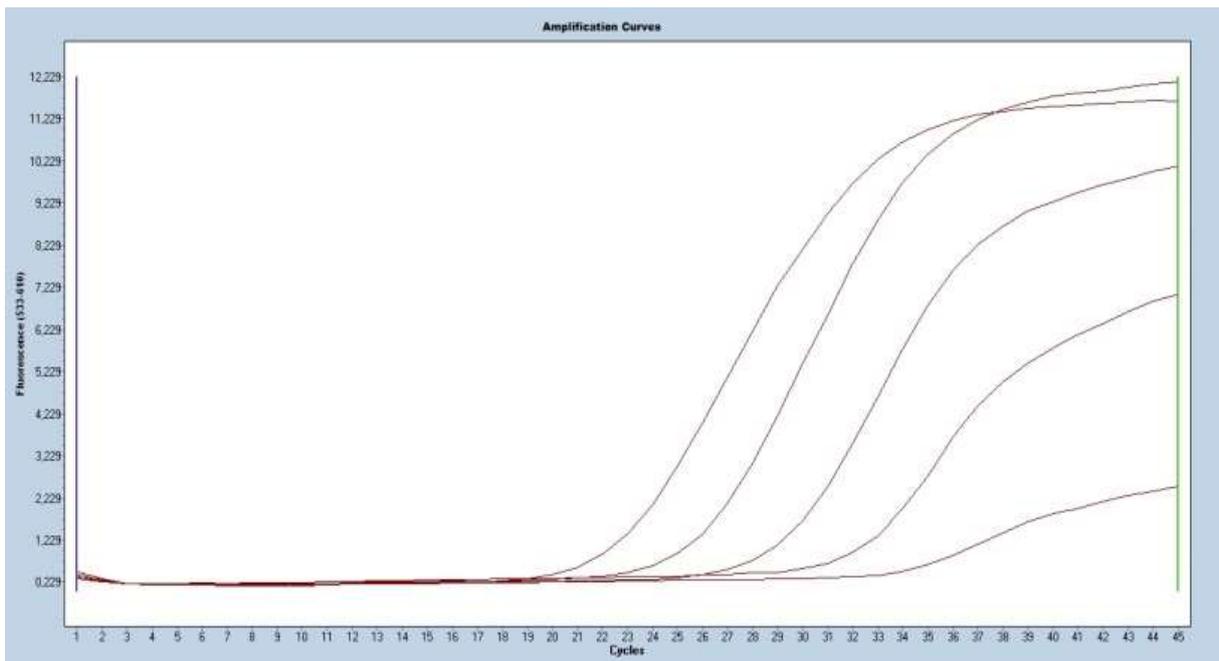


Figura 7: Dilución seriada de rotavirus (10^5 a 10^1 copias de ARN por μ l) en el LightCycler® 480II

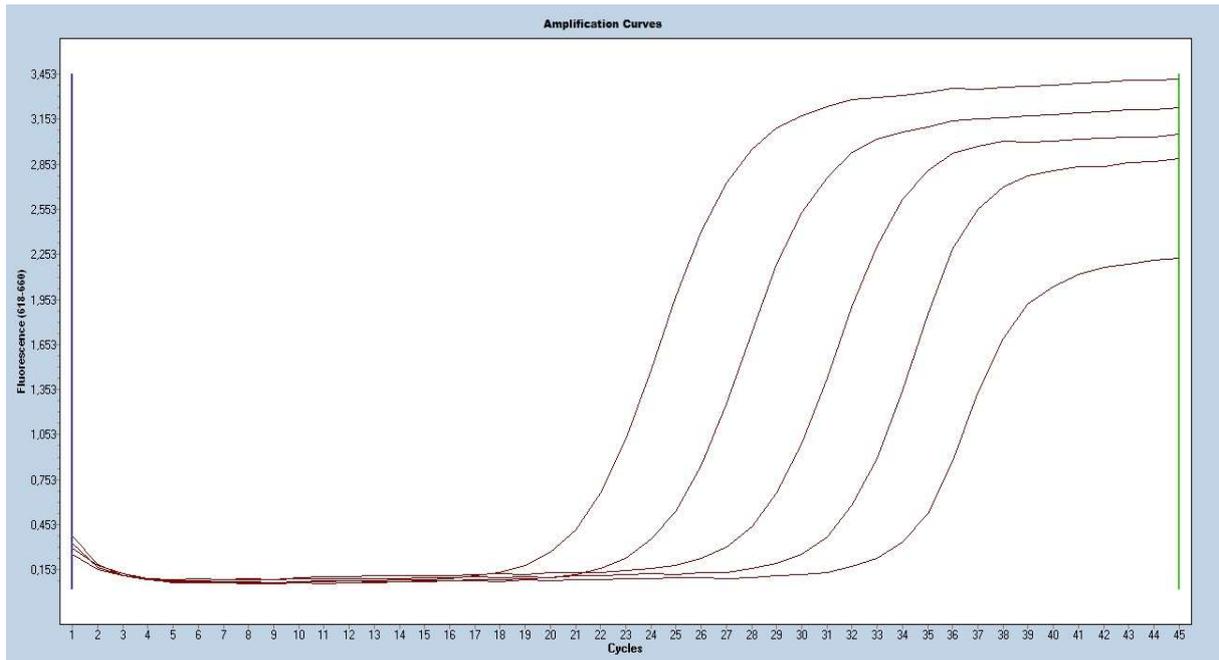


Figura 8: Dilución seriada de astrovirus (10^5 a 10^1 copias de ARN por μ l) en el LightCycler® 480II

El límite de detección de todo el procedimiento depende de la matriz de la muestra, la extracción del ARN/ADN y la concentración del ARN/ADN.

13.2 Especificidad analítica

La especificidad analítica del ensayo de PCR multiplex en tiempo real RIDA®GENE Viral Stool Panel I es específica para adenovirus, norovirus (genogrupos I y II), rotavirus y astrovirus. No se detectaron reacciones cruzadas con las siguientes especies (consulte la tabla 10):

Tabla 10: Ensayos de reactividad cruzada

Tipo de adenovirus: 4	-	<i>Campylobacter fetus</i> subespecie <i>fetus</i>	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-
Tipo de adenovirus: 5	-	<i>Campylobacter lari</i> subespecie <i>lari</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
Tipo de adenovirus: 7A	-	<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Tipo de adenovirus: 11	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
Tipo de adenovirus: 31	-	<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
Tipo de adenovirus: 37	-	<i>Clostridium bifermentans</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium difficile</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland 1	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>Clostridium septicum</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB clon C6	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>Clostridium sordellii</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-				

13.3 Reactividad analítica

La reactividad de la PCR multiplex en tiempo real de RIDA®GENE Viral Stool Panel I se evaluó con adenovirus, norovirus, rotavirus y astrovirus (consulte la tabla 11).

Todos los serogrupos de adenovirus, rotavirus y astrovirus, y genogrupos de norovirus, evaluados se detectaron con el ensayo de PCR multiplex en tiempo real de RIDA®GENE Viral Stool Panel I o por alineación de secuencias (*).

Tabla 11: Pruebas de reactividad analítica

Adenovirus					
Serotipo 40	+	Serotipo 41	+		
Norovirus					
Genogrupo I					
GGI.1 – Norwalk	+	GGI.3 – Desert Shield, Birmingham	+	GGI.6 – Hesse	+
GGI.2 – Southhampton, Whiterose	+	GGI.4 – Chiba, Malta	+	GGI.7 – Winchester	+
GGI.2 – Southhampton, Southhampton	+	GGI.5 – Musgrove	+	GGI.8 – Boxer	+
Genogrupo II					
GGII.1 – Hawaii	+	GGII.4 – Sydney 2012	+	GGII.17 – Kawasaki	+
GGII.2 – Melksham	+	GGII.6 – Seacroft	+	GGII.b – Hilversum	+
GGII.3 – Toronto	+	GGII.7 – Leeds	+	GGII.c – La Haya	+
GGII.4 – Bristol, Grimsby 2004	+	GGII.10 – Erfurt	+		
Genogrupo IV					
GGIV.1 – Alpatron	+				
Rotavirus					
Serogrupo A					
Serotipo G1	+	Serotipo G2	+	Serotipo G3	+
Serotipo G4	+	Serotipo G9	+	Serotipo G12	+
Astrovirus					
Serotipo 1*	+	Serotipo 2	+	Serotipo 3*	+
Serotipo 4*	+	Serotipo 5*	+	Serotipo 7*	+
Serotipo 8	+				

14. Historial de versiones

Número de versión	Capítulo y designación
2018-06-14	Versión anterior
2021-01-27	Revisión general 10. Control de calidad (Error ortográfico) 14. Historial de versiones 15. Explicación de los símbolos

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso.
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de ensayos
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos del ensayo

Reaction Mix

Enzyme-Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

16. Bibliografía

1. Hoehne M, *et al.* Detection of Norovirus genogroup I and II by multiplex real-time RT-PCR using a 3'-minor groove binder-DNA probe. *BMC Infectious Diseases*. 2006; 6:69-75.
2. Pang XL, *et al.* Increased Detection of Rotavirus Using a Real Time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Assay in Stool Specimens From Children With Diarrhea. *Journal of Medical Virology* 2004, 72: 496–501.
3. Heim A, *et al.* Rapid and Quantitative Detection of Human Adenovirus DNA by Real-Time PCR. *Journal of Medical Virology* 2003, 10: 228-239.
4. Kapoor A, *et al.* Multiple novel Astrovirus species in human stool. *Journal of general Virology* 2009, 90: 2965-2972.
5. Mead PS, *et al.* *EID* 1999, 5: 607-625.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Norovirus: Overview 2012.
7. Parra GI, *et al.* Static and Evolving Norovirus Genotypes: Implications for Epidemiology and Immunity. *PLoS Pathog* 2017, 13(1): e1006136.
8. Vinjé J. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *Journal Clinical Microbiology* 2015, 53(2):373-81.
9. Parashar UD, *et al.* Rotavirus and Severe Childhood Diarrhea. *Emerging Infectious Diseases* 2006, 12: 304-306.
10. Robert Koch Institut. Rotaviren-Gastroenteritis. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten. Stand 31.07.2013.
https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Rotaviren.html;jsessionid=D381EC22661EBE5C847628E9368E3401.2_cid381#doc2374564bodyText8. Aufgerufen am 09.07.2018.
11. Robert Koch Institut. Keratoconjunctivitis epidemica und andere Konjunktivitiden durch Adenoviren. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte 2010.
12. Robinson CM, *et al.* Molecular evolution of human species D adenoviruses. *Infection, Genetics and Evolution* 2011, 11: 1208-1217.
13. Guix S, *et al.* Human astrovirus diagnosis and typing: current and future Prospects. *Letters of Applied Microbiology* 2005, 41:103-105.
14. Wilhelmi I, *et al.* Viruses causing gastroenteritis. *Clinical Microbiology and Infection* 2003, 9: 247-262.
15. Guix S, *et al.* Human Astroviruses. *Clinical Microbiology Reviews* 2014, 27:1048-1074.