

RIDA® GENE Viral Stool Panel II

REF PG1325



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. Il test RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II è un test per la rivelazione qualitativa diretta e la differenziazione di rotavirus, adenovirus 40/41 e astrovirus in campioni di feci umane.^{1,2,3} RIDA®GENE Viral Stool Panel II è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi di gastroenteriti causate da rotavirus, adenovirus 40/41 e astrovirus.

2. Sintesi e spiegazione del test

La gastroenterite acuta è una delle principali cause di morbilità e mortalità nel mondo. In particolare nei bambini, i virus enterici sono la prima causa di gastroenterite. Negli Stati Uniti, le infezioni virali causano circa 30,8 milioni di casi di gastroenterite all'anno.⁴ I principali patogeni causa di diarrea sono i rotavirus, gli adenovirus e gli astrovirus.

I rotavirus sono virus a doppio filamento di RNA (dsRNA) icosaedrici non rivestiti appartenenti alla famiglia *Reoviridae*. I sintomi dell'infezione da rotavirus includono solitamente vomito, diarrea acquosa e dolore addominale. Il virus si trasmette per via oro-fecale attraverso le mani e altri oggetti contaminati. Il rotavirus è la principale causa di diarrea nei bambini di età inferiore ai cinque anni e si stima sia responsabile della morte di 611.000 bambini ogni anno nel mondo.⁵ I rotavirus sono classificati nei sette sierogruppi A – G, dove quelli del sierogruppo A rivestono la maggiore importanza a livello epidemiologico.⁸

Gli astrovirus sono virus a singolo filamento di DNA (ssDNA) appartenenti alla famiglia *Astroviridae*. La gastroenterite astrovirale si manifesta principalmente con la diarrea, ma può accompagnarsi anche a vomito e febbre. Nei paesi sviluppati l'incidenza degli astrovirus è compresa fra il 2 e il 9%, e la malattia si manifesta principalmente nei bambini di età inferiore ai due anni.⁷ Oggi se ne descrivono otto sierotipi, dei quali i più rilevanti sono quelli da 1 a 5. L'infezione viene trasmessa dagli alimenti contaminati, dall'acqua e per via oro-fecale.

Gli adenovirus sono virus a doppio filamento di DNA (dsDNA) icosaedrici non rivestiti appartenenti alla famiglia *Adenoviridae*. Si distinguono 56 sierotipi di adenovirus umano classificati in sette gruppi (A – G). Gli adenovirus provocano prevalentemente malattie respiratorie, mentre la gastroenterite è causata principalmente dai sierotipi 40 e 41. I sierotipi 1, 2, 5, 6, 12, 18 e 31 sono raramente associati alla diarrea acuta e pertanto non vengono rilevati da questo test di PCR real-time.^{6,9}

3. Principio del test

Il test RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II è un test diagnostico molecolare per la rivelazione qualitativa diretta e la differenziazione di RNA di rotavirus, RNA di astrovirus e DNA di adenovirus 40/41 in campioni di feci umane. La rivelazione avviene mediante RT-PCR real-time in una singola fase, durante la quale la PCR segue la trascrizione inversa nella stessa provetta di

reazione. L'RNA isolato viene trascritto in cDNA mediante trascrittasi inversa. Frammenti di gene specifici di rotavirus (NSP3), astrovirus (CAP, proteina del capsid) e adenovirus 40/41 (esone) vengono quindi amplificati con la PCR real-time. 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 dello strumento di PCR real-time. Il segnale di fluorescenza aumenta con la quantità di ampliconi formati. Il test RIDA[®]GENE Viral Stool Panel II contiene un **Internal Control RNA** (ICR) quale controllo interno della procedura di preparazione dei campioni e 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	2x	1050 µl	giallo
2	Enzyme Mix	1x	80 µl	rosso
R	Internal Control RNA	2x	1700 µl	marrone
N	No Template Control	1x	450 µl	bianco
P	Positive Control	1x	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.
- Scongela 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/scongelo 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 RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II è adatto per l'uso con le piattaforme di estrazione e gli strumenti per la PCR real-time indicati di seguito:

Tab. 2: Attrezzatura necessaria

Piattaforma di estrazione	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Strumento per la PCR real-time	
Roche	LightCycler® 480II, LightCycler® 480 z
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Avvertenze: 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 e LightCycler® 480 z
- 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 (priva di nucleasi)

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 fecali

Per l'isolamento del DNA/RNA da campioni di feci umane, utilizzare un kit di estrazione degli acidi nucleici disponibile in commercio (ad es. RIDA® Xtract (R-Biopharm)) o un sistema di estrazione degli acidi nucleici (ad es. Maxwell® RSC (Promega)). Estrarre l'acido nucleico virale in base alle istruzioni del produttore. Prima dell'estrazione, si raccomanda di diluire il campione di feci con acqua in rapporto 1:10. Vorticare vigorosamente e centrifugare a 13.000 x g per 1 minuto. Utilizzare il volume appropriato di surnatante in base alle istruzioni del produttore.

Il test RIDA®GENE Viral Stool Panel II contiene un **Internal Control RNA** che rileva l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia stata sufficiente. L' **Internal Control RNA** 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 RNA** viene usato solo come controllo di inibizione della PCR, aggiungere 1 µl di **Internal Control RNA** alla Master Mix (vedere Tab. 4).

Se l' **Internal Control RNA** 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 RNA** durante la procedura di estrazione. L'

Internal Control RNA deve sempre essere aggiunto alla miscela tampone di lisi del campione e **non** direttamente al campione. Si raccomanda inoltre di aggiungere 1 µl di **Internal Control RNA** 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 imprecisioni nel pipettaggio (vedere Tab. 3 e Tab. 4). Prima dell'uso scongelare, miscelare delicatamente e centrifugare brevemente la **Reaction Mix**, l'**Enzyme-Mix**, il **Positive Control**, il **No Template Control** e l'**Internal Control RNA**. 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 (ICR come controllo di estrazione e 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	Enzyme-Mix	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 (ICR 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	Enzyme-Mix	0,7 µl	7,7 µl
R	Internal Control RNA	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.

Avvertenze: se l' **Internal Control RNA** 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 RNA** alla RT-PCR Mix del controllo negativo.

Campione: dispensare 5 µl di RNA-Extract nella Master Mix pre-pipettata.

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

Avvertenze: se l' **Internal Control RNA** 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 RNA** alla RT-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 RT-PCR deve essere avviata in base all'impostazione dello strumento per PCR (vedere Tab. 5, Tab. 6).

9.3 Impostazione dello strumento per PCR

9.3.1 Profilo universale RT-PCR real-time

Tab. 5: Profilo universale RT-PCR real-time 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

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

Tab. 6: Profilo universale RT-PCR 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

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

Avvertenze: il profilo per PCR real-time universale può essere utilizzato anche per i test del DNA se i test PCR real-time del DNA RIDA®GENE e dell'RNA RIDA®GENE vengono combinati in un unico ciclo.

9.4 Impostazione del canale di rivelazione

Tab. 7: Selezione dei canali di rivelazione appropriati

Strumento per la PCR real-time	Rivelazione	Canale di rivelazione	Avvertenze
Roche LightCycler® 480II	Rotavirus	465/510	È necessario RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICR	533/580	
	Astrovirus	533/610	
	Adenovirus	618/660	
Roche LightCycler® 480 z	Rotavirus	465/510	È necessario RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICR	540/580	
	Astrovirus	540/610	
	Adenovirus	610/670	
ABI 7500	Rotavirus	FAM	Controllare che l'opzione di riferimento passivo ROX sia impostata su nessuno
	ICR	VIC	
	Astrovirus	ROX	
	Adenovirus	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	Rotavirus	FAM	Controllare che non vi sia il colorante di riferimento
	ICR	HEX	
	Astrovirus	ROX	
	Adenovirus	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	Rotavirus	Verde	Le impostazioni di amplificazione devono essere regolate su 5, in base alle impostazioni predefinite
	ICR	Giallo	
	Astrovirus	Arancione	
	Adenovirus	Rosso	
Bio-Rad CFX96™	Rotavirus	FAM	-
	ICR	VIC	
	Astrovirus	ROX	
	Adenovirus	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, occorre che il controllo negativo e il controllo positivo mostrino risultati corretti (vedere Tabella 8, Fig. 1, Fig. 2, Fig.3).

Il **Positive Control** di rotavirus, astrovirus e adenovirus 40/41 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.

Tab. 8: Perché l'esecuzione sia valida occorre che siano soddisfatte le seguenti condizioni:

Campione	Risultato del test	Ct ICR	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'ICR.*

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

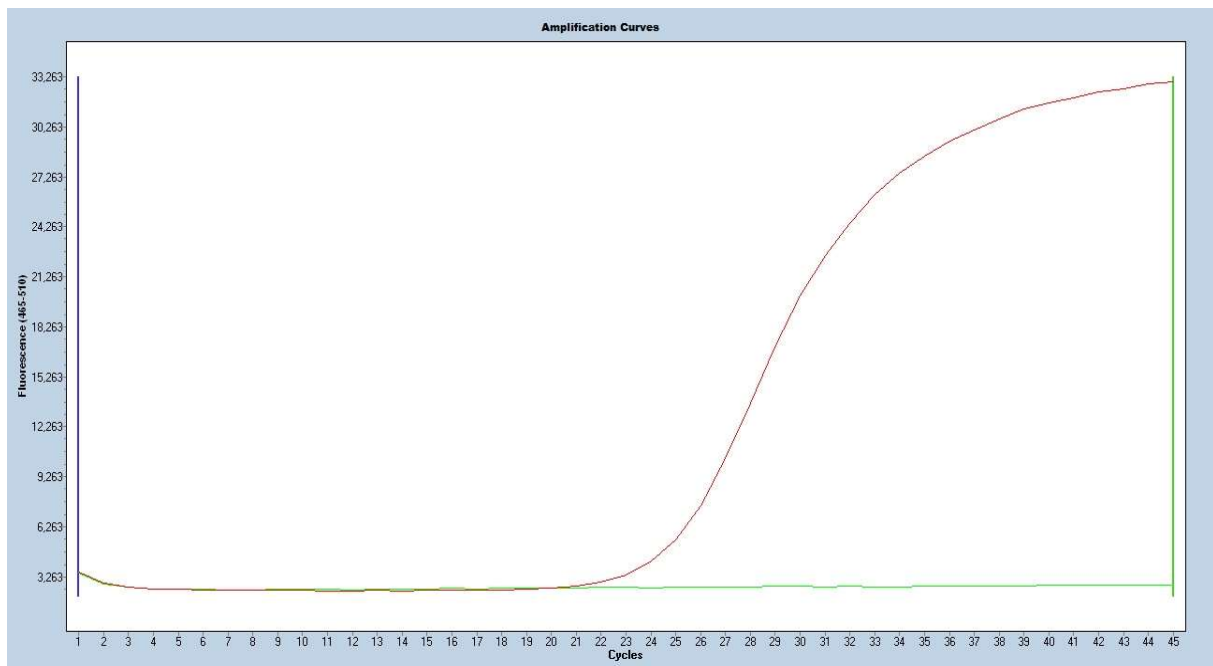


Fig. 1: Esecuzione corretta del controllo positivo e negativo (rotavirus) sul LightCycler® 480II

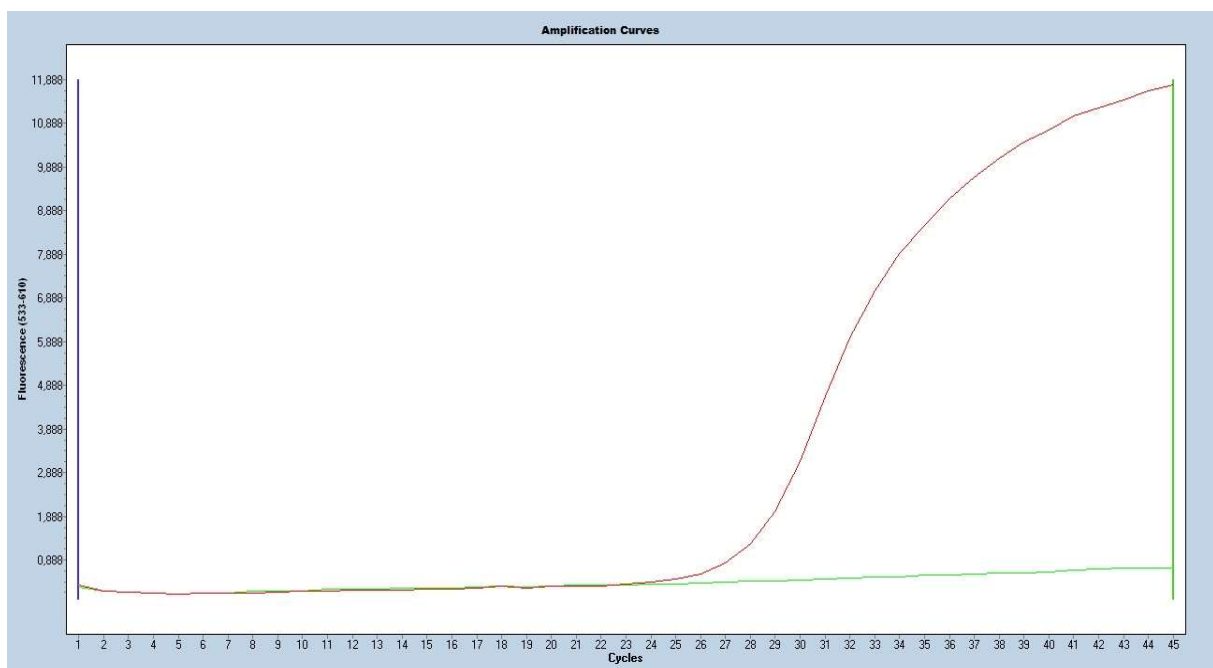


Fig. 2: Esecuzione corretta del controllo positivo e negativo (astrovirus) sul LightCycler® 480II

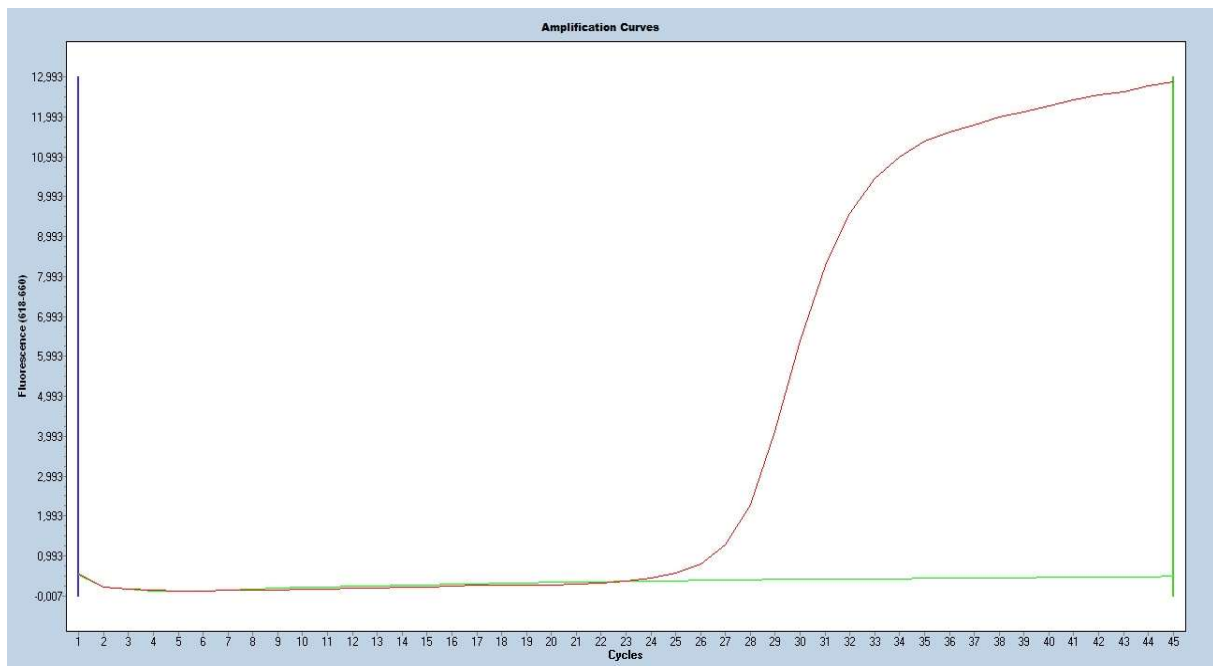


Fig. 3: Esecuzione corretta del controllo positivo e negativo (adenovirus) sul LightCycler® 480II

11. Interpretazione del risultato

Il risultato viene interpretato in base alla Tabella 9.

Tab. 9: Interpretazione del campione

Geni target			ICR	Risultato
Rotavirus	Astrovirus	Adenovirus		
positivo	negativo	negativo	positivo/negativo	Rotavirus rilevato
negativo	positivo	negativo	positivo/negativo	Astrovirus rilevato
negativo	negativo	positivo	positivo/negativo	Adenovirus rilevato
positivo	positivo	negativo	positivo/negativo	Rotavirus e astrovirus rilevati
positivo	negativo	positivo	positivo/negativo	Rotavirus e adenovirus rilevati
negativo	positivo	positivo	positivo/negativo	Astrovirus e adenovirus rilevati
positivo	positivo	positivo	positivo/negativo	Rotavirus, astrovirus e adenovirus rilevati
negativo	negativo	negativo	positivo	Geni target non rivelati
negativo	negativo	negativo	negativo	Non valido

Un campione è valutato come positivo se sia l'RNA del campione sia l' **Internal Control RNA** mostrano un segnale di amplificazione nel sistema di rivelazione.

Un campione è valutato come positivo anche se l'RNA del campione mostra un segnale di amplificazione, ma nessun segnale per l' **Internal Control RNA** nel sistema di rivelazione. La rivelazione dell' **Internal Control RNA** non è necessaria, in quanto elevate concentrazioni dell'amplicone possono far sì che il segnale dell' **Internal Control RNA** sia debole o assente.

Un campione è valutato come negativo se l'RNA del campione non mostra alcun segnale di amplificazione, ma è presente un segnale di amplificazione per l' **Internal Control RNA** nel sistema di rivelazione. La rivelazione dell' **Internal Control RNA** esclude l'inibizione della reazione di PCR.

Un campione non è valido se né l'RNA del campione né l' **Internal Control RNA** mostrano segnali di amplificazione nel sistema di rivelazione. Il campione contiene un inibitore della PCR. 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. Il test RIDA®GENE Viral Stool Panel II è convalidato solo per campioni fecali.
3. Procedure errate di raccolta, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni o un carico di agenti virali nei campioni al di sotto della sensibilità analitica possono produrre risultati 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 le nuove varianti e causare un risultato falso negativo con il test RIDA®GENE Viral Stool Panel II.
6. Come per tutti i test diagnostici *in vitro* basati sulla PCR, livelli estremamente bassi di target sotto il limite di rivelazione (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 del gene target (rotavirus (NSP3), astrovirus (CAP, proteina del capsido), adenovirus 40/41 (esone)).
8. Il test RIDA®GENE Viral Stool Panel II individua solamente i sierotipi 40 e 41 dell'adenovirus, ovvero quelli che causano principalmente gastroenterite. Anche i sierotipi 31, 12, 18, 1, 2, 5 e 6, che causano principalmente malattie respiratorie, possono essere escreti nelle feci, ma in piccole quantità non rilevabili con questo test.
9. I lipidi (acido stearico/acido palmitico) possono presentare caratteristiche di interferenza anche in piccole quantità.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1 Sensibilità analitica

Il test RT-PCR real-time multiplex RIDA[®]GENE Viral Stool Panel II di ha un limite di rivelazione maggiore o uguale a 50 copie di RNA per reazione.

Le figure 4, 5 e 6 mostrano le serie di diluizione di rotavirus e astrovirus ($10^5 - 10^1$ copie di RNA per μl) e di adenovirus ($10^5 - 10^1$ copie di DNA per μl) sul LightCycler[®] 480II.

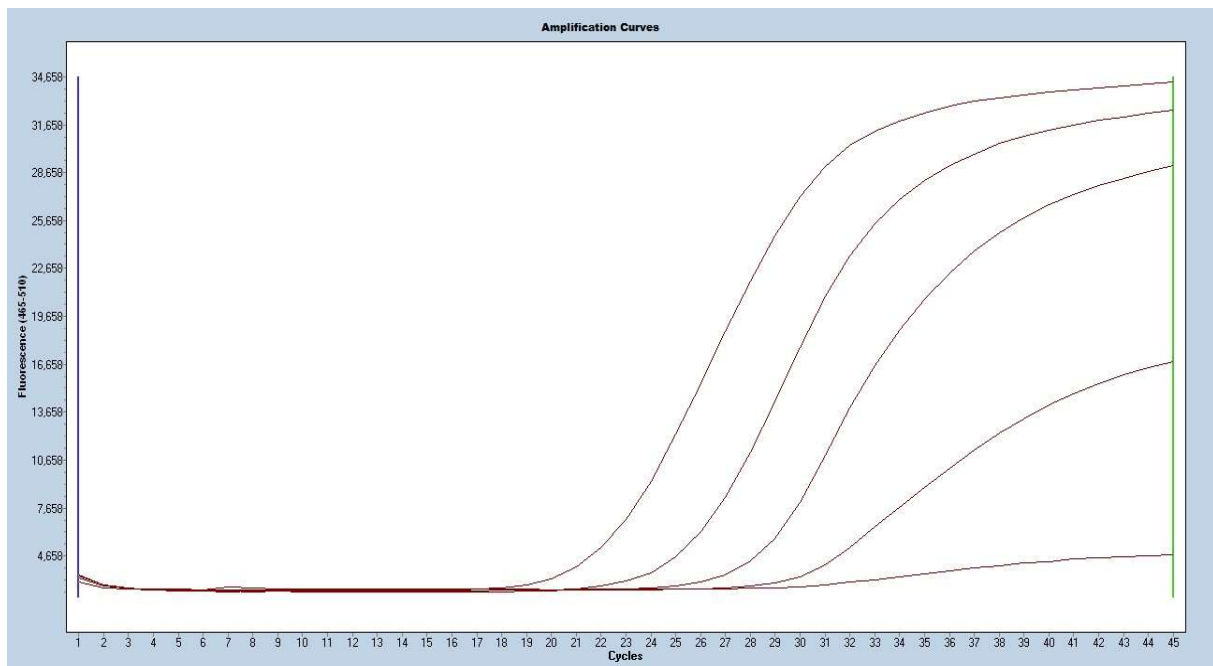


Fig. 4: Serie di diluizioni del rotavirus ($10^5 - 10^1$ copie di RNA per μl) sul LightCycler[®] 480II

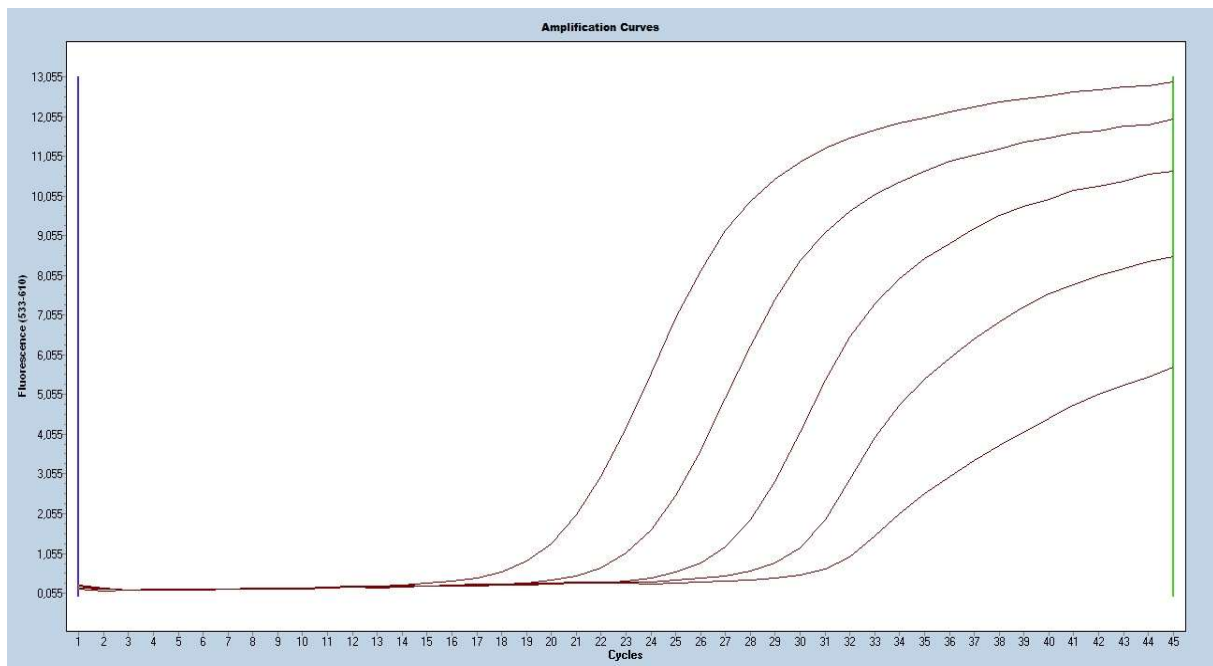


Fig. 5: Serie di diluizioni dell'astrovirus ($10^5 - 10^1$ copie di RNA per μl) sul LightCycler® 480II

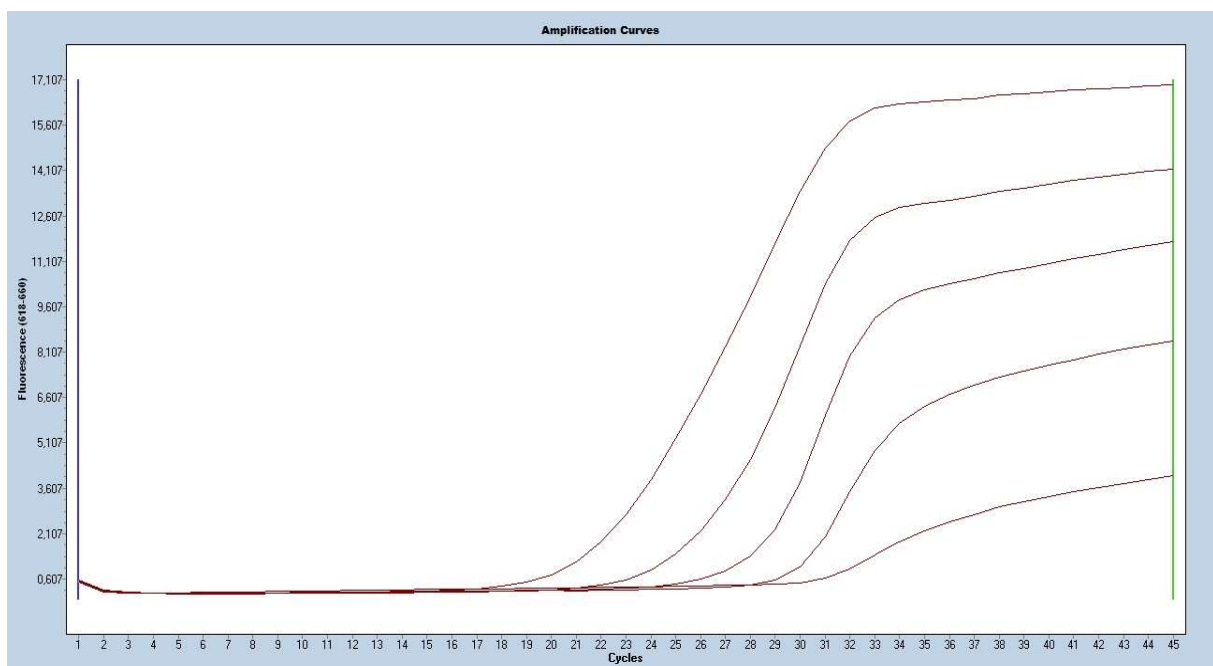


Fig. 6: Serie di diluizione dell'adenovirus ($10^5 - 10^1$ copie di DNA per μl) sul LightCycler® 480II

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

13.2 Specificità analitica

La specificità analitica del test PCR real-time multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II è specifica per rotavirus, astrovirus e adenovirus 40/41. Non è stata rilevata alcuna reazione crociata per le seguenti specie (vedere Tab. 10):

Tab. 10: Test di reattività crociata

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

13.3 Reattività analitica

La reattività del test PCR real-time multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II è stata valutata rispetto a più campioni di rotavirus, astrovirus e adenovirus risultati precedentemente positivi (vedere Tab. 10). Tutti i virus testati sono stati rivelati con il test PCR multiplex real-time RIDA®GENE Viral Stool Panel II o mediante allineamento di sequenze (*).

Tab. 11: Test di reattività analitica (numero di campioni testati)










Rotavirus					
Sierogruppo A					
Sierotipo G1	+	Sierotipo G2	+	Sierotipo G3	+
Sierotipo G4	+	Sierotipo G9	+	Sierotipo G12	+
Astrovirus					
Sierotipo 1*	+	Sierotipo 2	+	Sierotipo 3*	+
Sierotipo 4*	+	Sierotipo 5*	+	Sierotipo 7*	+
Sierotipo 8	+				
Adenovirus					
Sierotipo 40	+	Sierotipo 41	+		

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e designazione
2019-04-05	Versione precedente
2020-12-16	Revisione generale 10. Controllo qualità (errore d'ortografia) 14. Cronologia delle versioni 15. Descrizione dei simboli

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

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

Simboli specifici nel test

Reaction Mix

Enzyme-Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

16. Bibliografia

1. 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.
2. Heim A, *et al.* Rapid and Quantitative Detection of Human Adenovirus DNA by Real-Time PCR. *Journal of Medical Virology* 2003, 10: 228-239.
3. Kapoor A, *et al.* Multiple novel Astrovirus species in human stool. *Journal of general Virology* 2009, 90: 2965-2972.
4. Mead PS, *et al.* Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* 1999, 5: 607-625.
5. Parashar UD, *et al.* Rotavirus and Severe Childhood Diarrhea. *Emerging Infectious Diseases* 2006, 12: 304-306.
6. Robert Koch Institut. Keratoconjunctivitis epidemica und andere Konjunktivitidendurch Adenoviren. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte 2010.
7. Guix S, *et al.* Human astrovirus diagnosis and typing: current and future Prospects. *Letters of Applied Microbiology* 2005, 41:103-105
8. 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.
9. Robinson CM, *et al.* Molecular evolution of human species D adenoviruses. *Infection, Genetics and Evolution* 2011, 11: 1208-1217.