

RIDA® GENE Enterovirus

REF PG4705



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDA®GENE Enterovirus è un test di RT-PCR real-time multiplex per la rivelazione qualitativa diretta dell'enterovirus da campioni di feci umane e liquido cerebrospinale umano (CSF).¹

Il test di RT-PCR real-time RIDA®GENE Enterovirus è adatto come ausilio nella diagnosi delle infezioni causate da enterovirus (poliovirus, echovirus, coxsackievirus, enterovirus umano 70/71).

2. Sintesi e spiegazione del test

Gli enterovirus appartengono alla famiglia *Picornaviridae* e secondo la classificazione attuale si suddividono in 15 specie (enterovirus A-L e rhinovirus A-C), dove le specie di enterovirus E-L non sono descritte come patogene per l'uomo.^{2,3,4} La specie enterovirus A comprende gli enterovirus umani A e i virus coxsackie A, mentre gli enterovirus B comprendono gli enterovirus umani B, i virus coxsackie B e anche gli echovirus. Inoltre, gli enterovirus umani C, i virus Coxsackie C e i poliovirus fanno parte della specie enterovirus C.^{2,3,4} Gli enterovirus infettano principalmente neonati e bambini e si trasmettono per via oro-fecale ma anche, talvolta, tramite goccioline infette e acqua contaminata. La maggior parte delle infezioni da enterovirus è asintomatica o si manifesta con lievi sintomi simili a quel del raffreddore. Tuttavia, data la moltitudine di specie di enterovirus, le manifestazioni cliniche delle forme sintomatiche gravi sono molto varie. Le infezioni gravi trasmesse dall'enterovirus sono la poliomielite, la malattia mano-piede-bocca, la meningite e miocardite.⁴ I poliovirus sono virus con RNA a filamento singolo (ss-RNA) e prima della loro parziale eradicazione erano diffusi in tutto il mondo. Oltre a sintomi lievi quali febbre e tosse, il poliovirus può anche causare la poliomielite. Nonostante singoli focolai di poliomielite vengano segnalati con una certa regolarità, il numero di casi è in diminuzione in tutto il mondo. Si consideri che nel 2016 sono state registrate solo 37 infezioni da poliovirus di tipo 1 e non è stato riportato alcun caso di infezioni da poliovirus di tipo 3. Il poliovirus di tipo 2 è considerato eradicato da settembre 2015.⁵ I virus coxsackie A e B, che hanno preso il nome dall'omonima località in cui sono stati individuati, nella zona di New York, sono stati segnalati per la prima volta nel 1984. I virus coxsackie sono presenti in tutto il mondo, ed entrambi i ceppi possono causare la cosiddetta "diarrea estiva". Negli Stati Uniti, la malattia mano-piede-bocca è principalmente causata dal virus coxsackie A16, mentre altre infezioni gravi da coxsackie portano a congiuntivite e miocardite. Oltre al virus coxsackie, anche un'infezione da enterovirus umano 70 può portare a congiuntivite acuta.^{6,7} L'enterovirus umano 71 causa la malattia mano-piede-bocca; tuttavia, le infezioni trasmesse dall'enterovirus umano 71 sono nella maggior parte dei casi asintomatiche. Questo virus con RNA a filamento singolo (ss-RNA) è distribuito in tutto il mondo e si manifesta per la maggior parte al termine dell'estate e in autunno.^{4,9}

L'echovirus è altamente infettivo e colpisce più spesso i bambini. Tra le altre malattie, l'echovirus può portare la meningite asettica; l'echovirus 30 è il più comune sierotipo causa della meningite in Europa, America e Asia.⁸

3. Principio del test

Il test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Enterovirus è un test diagnostico molecolare per la rivelazione qualitativa diretta di RNA di enterovirus in campioni di feci umane e CSF.

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. I frammenti genetici specifici di enterovirus (5'-UTR, se presente) vengono successivamente amplificati mediante 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 Enterovirus contiene un **Internal Control RNA** (ICR) quale controllo interno della procedura di preparazione dei campioni e/o per la determinazione della possibile inibizione della PCR.

4. Contenuto della confezione

Tabella 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.
- Scongelare 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/scongelamento 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 e dispositivi aggiuntivi necessari

Il test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Enterovirus è adatto per l'uso con le piattaforme di estrazione e gli strumenti per la PCR real-time elencati di seguito:

Tabella 2: Attrezzatura necessaria

Piattaforma di estrazione	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Strumenti per la PCR real-time	
Roche	LightCycler® 2.0, LightCycler® 480II, LightCycler® 480z
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 piattaforme di estrazione o strumenti per la PCR real-time diversi, contattare R-Biopharm all'indirizzo mdx@r-biopharm.de.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit II (PG0002) per l'uso con LightCycler® 2.0
- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) per l'uso con LightCycler® 480II o LightCycler® 480z
- 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 manipolano i campioni o i reagenti.
- L'estrazione, la preparazione della PCR e l'esecuzione della PCR devono avvenire in locali separati 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 dell'RNA da campioni di feci umane, utilizzare un kit di estrazione dell'RNA disponibile in commercio (ad es. RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) o un sistema di estrazione dell'RNA (ad es. Maxwell[®] RSC (Promega)). Estrarre l'RNA 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 kit RIDA[®]GENE Enterovirus contiene un **Internal Control RNA** che rivela l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia 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 Tabella 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.

8.2 Preparazione del campione da CSF

Per l'isolamento dell'RNA da campioni di CSF, utilizzare un kit di estrazione dell'RNA disponibile in commercio (ad es. RIDA® Xtract (R-Biopharm)) o un sistema di estrazione dell'RNA (ad es. Maxwell® RSC (Promega)). Estrarre l'RNA virale in base alle istruzioni del produttore.

Il kit RIDA®GENE Enterovirus contiene un **Internal Control RNA** che rivela l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia 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 Tabella 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 un pipettaggio non preciso (vedere Tabella 3, Tabella 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).

Tabella 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 Mixs	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.

Tabella 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 mix per RT-PCR

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.

Campioni: dispensare 5 µl di eluato nella Master Mix pre-pipettata.

Controllo positivo: dispensare 5 µl di **Positive Control** alla 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 Tabella 5, Tabella 6).

9.3 Impostazione dello strumento per PCR

9.3.1 Profilo universale RT-PCR real-time

Tabella 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.

Tabella 6: Profilo universale RT-PCR real-time 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

Tabella 7: Selezione dei canali di rivelazione appropriati

Strumento per la PCR real-time	Rivelazione	Canale di rivelazione	Avvertenze
Roche LightCycler® 2.0	Enterovirus	530	È necessario il RIDA®GENE Color Compensation Kit II (PG0002)
	ICR	560	
Roche LightCycler® 480II	Enterovirus	465/510	È necessario il RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICR	533/580	
Roche LightCycler® 480z	Enterovirus	465/510	È necessario il RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICR	540/580	
Agilent Techn. Mx3005P	Enterovirus	FAM	Controllare che non vi sia colorante di riferimento
	ICR	HEX	
ABI 7500	Enterovirus	FAM	Controllare che l'opzione di riferimento passivo ROX sia impostata su nessuno
	ICR	VIC	
Bio-Rad CFX96™	Enterovirus	FAM	-
	ICR	VIC	
Qiagen Rotor-Gene Q	Enterovirus	Verde	Le impostazioni di amplificazione devono essere regolate su 5, in base alle impostazioni predefinite
	ICR	Giallo	

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 8, Figura 1).

Il **Positive Control** 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.

Tabella 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

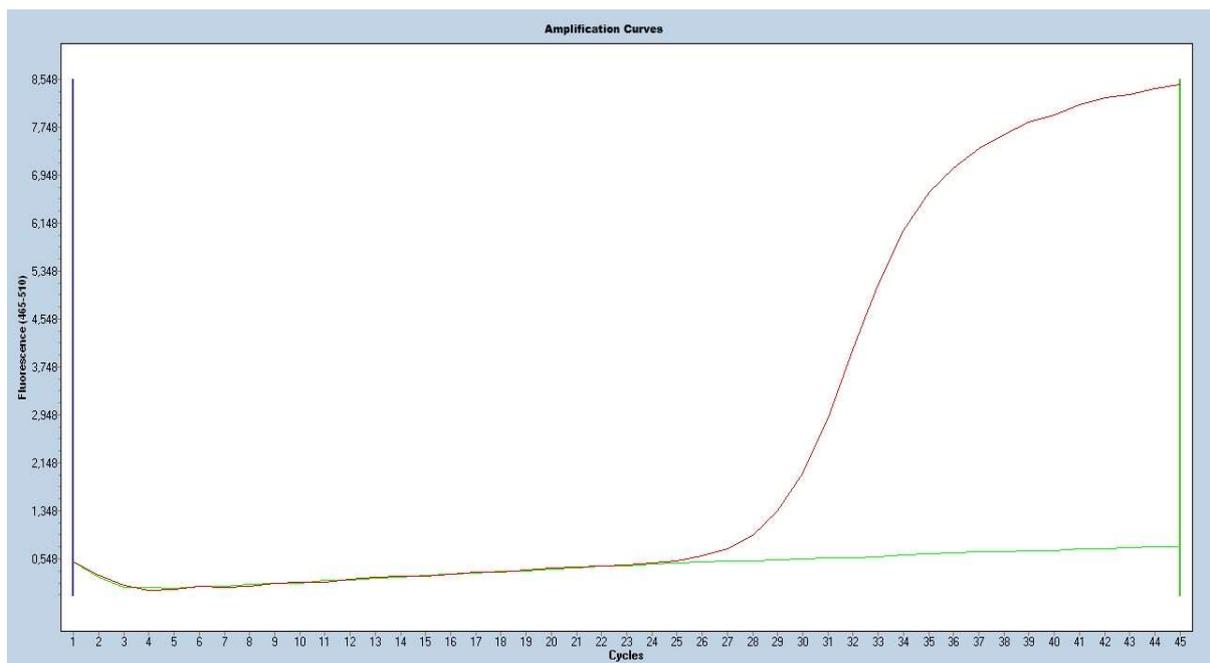


Figura 1: Esecuzione corretta del controllo positivo e negativo (Enterovirus) sul LightCycler® 480II

11. Interpretazione del risultato

Il risultato viene interpretato in base alla Tabella 9.

Tabella 9: Interpretazione del campione

Gene target		
Enterovirus	ICR	Risultato
positivo	positivo/negativo	Enterovirus rivelato
negativo	positivo	Geni target non rivelati
negativo	negativo	Non valido

Enterovirus è comprovabile se sia l'RNA del campione sia l'Internal Control RNA mostrano un segnale di amplificazione nel sistema di rivelazione.

Enterovirus è inoltre comprovabile 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.

Enterovirus non è comprovabile se l'RNA del campione non mostra alcun segnale di amplificazione, ma è presente un segnale 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. Questo test è idoneo solo per campioni fecali umani e campioni di CSF.
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 causare un risultato falso negativo con il test RIDA[®]GENE Enterovirus.
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 (5'-UTR).
8. I Rhinovirus appartengono alla famiglia dei *Picornaviridae*. A causa di somiglianza della sequenza non è possibile escludere che il test RIDA[®]GENE Enterovirus mostri reattività incrociata ai Rhinovirus.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1 Prestazioni cliniche

In uno studio retrospettivo di validazione clinica condotto presso un istituto in Germania abbiamo analizzato 124 campioni fecali umani con il test RIDA®GENE Enterovirus e con un test di PCR real-time interno.

Tabella 10: Confronto tra i risultati relativi all'enterovirus con il test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Enterovirus e con il test di PCR real-time interno di riferimento.

		Test di PCR real-time interno			
		Positivo	Negativo	Totale	
RIDA®GENE Enterovirus	Positivo	40	0	40	PPV: 100,0 %
	Negativo	1	83	84	NPV: 98,8 %
	Totale	41	83	124	

13.2 Sensibilità analitica

Il test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Enterovirus ha un limite di rivelazione maggiore o uguale a 50 copie di RNA per reazione per enterovirus.

La figura 2 seguente mostra una serie di diluizioni di enterovirus (10^5 - 10^1 copie di RNA per μ l) su LightCycler® 480II.

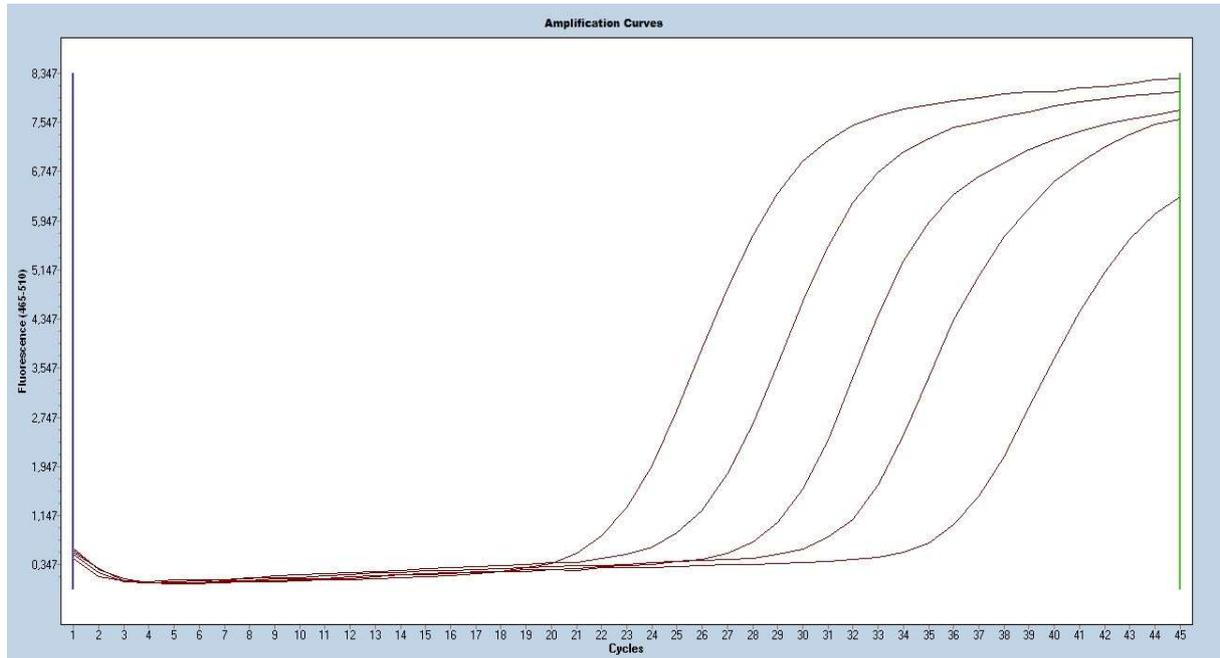


Figura 2: Serie di diluizione dell'enterovirus (10^5 – 10^1 copie di RNA per μ l) sul LightCycler® 480II

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

13.3 Specificità analitica

La specificità analitica del test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Enterovirus è specifica per l'enterovirus in campioni di feci umane. Non è stata individuata alcuna reazione crociata per le seguenti specie (vedere Tabella 11):

Tabella 11: Test di reattività crociata

<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	<i>Clostridium bifirmentans</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Adenovirus 1, umano, ceppo Adenoid 71	-	<i>Clostridium difficile</i>	-	<i>Haemophilus influenzae Rd</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Adenovirus 40, umano, ceppo Dugan	-	<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Adenovirus 41, umano, ceppo Tak	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Staphylococcus hominis</i>	-
Adenovirus 7, umano, ceppo Gomen	-	<i>Clostridium septicum</i>	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium sordellii</i>	-	Metapneumovirus, umano	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	Virus dell'herpes simplex 1, ceppo McIntyre	-
Astrovirus	-	Coronavirus 229E, umano	-	<i>Neisseria meningitidis</i>	-	Virus dell'herpes simplex 2 ceppo MS	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-	Norovirus GG I	-	Virus dell'influenza A/PR/8/34	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	Norovirus GG II	-	Virus Epstein Barr, ceppo B95-8	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Cytomegalovirus, umano	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-	Virus parainfluenzale umano 1, ceppo C35	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Virus parainfluenzale umano 2, ceppo Greer	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	Rinovirus, umano, genogruppo A	-	Virus parainfluenzale umano 4b, ceppo CH19503	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	Rotavirus	-	Virus parainfluenzale umano, sierotipo 3	-

<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-	Virus respiratorio sinciziale umano, ceppo 9320	-
<i>Campylobacter lari</i> sottosp. <i>lari</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	Virus respiratorio sinciziale umano, ceppo Long	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-	Virus Varicella Zoster (tipo B)	-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland 1	-	<i>Shigella flexneri</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB Clone C6	-				

13.4 Reattività analitica

La reattività del test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Enterovirus è stata valutata rispetto a più ceppi di enterovirus (vedere Tabella 12). Tutti i ceppi del panel sono stati rivelati dal test RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Enterovirus o mediante allineamento di sequenze (*).

Tabella 12: Test di reattività analitica

Enterovirus					
Enterovirus A					
Enterovirus Tipo 71	+	Coxsackievirus A9	+		
Enterovirus B					
Coxsackievirus B1	+	Coxsackievirus B2	+	Coxsackievirus B3	+
Coxsackievirus B4	+	Coxsackievirus B5	+	Echovirus Tipo 6	+
Echovirus Tipo 7	+	Echovirus Tipo 11	+	Echovirus Tipo 20	+
Echovirus Tipo 25	+	Echovirus Tipo 30	+		
Enterovirus C					
Poliovirus Tipo 1	+	Poliovirus Tipo 2	+	Poliovirus Tipo 3	+
Enterovirus D					
Enterovirus Tipo 68*	+				

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e designazione
2019-05-21	Versione precedente
2021-01-29	Revisione generale 10. Controllo qualità (errore d'ortografia) 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 test

Reaction Mix

Enzyme-Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

16. Bibliografia

1. Piqueur M *et al.* Improvement of a real-time PCR assay for the detection of enterovirus RNA. *Virology Journal* 2009, 6: 95-97.
2. ICTV Master Species List 2018 - (10th Report) - Master Species Lists - Master Species Lists - ICTV Collaboration". <https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/8266ictvonline.org>. (accessed 22.05.2019)
3. The Pirbright Institute, UK, The Picornavirus Pages (accessed 22.05.2019)
4. De Crom *et al.* Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview. *Eur J Pediatr* 2016, 175 (8):1023-9.
5. Diop O *et al.* Virologic Monitoring of Poliovirus Type 2 after Oral Poliovirus Vaccine Type 2 Withdrawal in April 2016 — Worldwide, 2016–2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2016. 66, 20. Centers for Disease Control and Prevention.
6. Center for Disease Control and Prevention: Non-Polio Enterovirus infection – Outbreaks & Surveillance.
7. Kiehl H. Infektionen durch Enteroviren. RobertKoch Institut, Kompendium Infektiologie & Infektionsschutz. H. Hoffmann GmbH Verlag 2009.
8. Robert-Koch-Institut, Epidemiologisches Bulletin 7. Oktober 2013. Häufungen von Echovirus-30-bedingten Meningitiden 2013.
9. Robert-Koch-Institut, Epidemiologisches Bulletin 20. Mai 2008. Enterovirus-71-Infektionen: Zum Auftreten der Hand-Fuß-Mund-Krankheit in Südostasien. 2008.