

Istruzioni per l'uso

RealStar[®]

Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

01/2017 IT

RealStar[®]

Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

Per uso con

Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
LightCycler® 480 Instrument II (Roche)



591013



96



01 2017



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

Contenuto

1.	Usò previsto	6
2.	Componenti del kit.....	6
3.	Conservazione.....	6
4.	Materiale e dispositivi richiesti e non forniti	7
5.	Informazioni generali	8
6.	Descrizione del prodotto	9
6.1	Strumenti per PCR in tempo reale	10
7.	Avvertenze e precauzioni	11
8.	Procedura	12
8.1	Preparazione del campione	12
8.2	Preparazione della Master Mix.....	13
8.3	Preparazione della reazione	15
9.	Programmazione dello strumento PCR in tempo reale	16
9.1	Impostazioni	16
9.2	Sonde fluorescenti (coloranti)	16
9.3	Profilo termico e acquisizione dei coloranti	17
9.4	Note speciali riguardo alla configurazione degli strumenti raccomandati per PCR in tempo reale	17
10.	Analisi dei dati.....	20
10.1	Validità dei test diagnostici	20
10.1.1	Test diagnostico valido (qualitativo)	20
10.1.2	Test diagnostico invalido (qualitativo).....	20
10.2	Interpretazione dei risultati	21
10.2.1	Analisi qualitativa	21

11. Dati di performance	21
11.1 Valutazione della performance senza estrazione di acidi nucleici	21
11.1.1 Sensibilità analitica.....	21
11.1.2 Specificità analitica.....	22
11.1.3 Precisione	23
11.2 Valutazione della performance, estrazione di acidi nucleici inclusa	24
11.2.1 Campioni di siero	24
11.2.2 Campioni di urina	32
11.3 Valutazione della performance clinica.....	39
12. Limitazioni	54
13. Controllo di qualità	55
14. Assistenza tecnica	55
15. Letteratura	55
16. Marchi e brevetti.....	56
17. Spiegazione dei simboli	57

1. Uso previsto

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è un test diagnostico *in vitro*, basato sulla tecnologia PCR in tempo reale per il rilevamento qualitativo dell'RNA specifico del virus Zika nel siero o nell'urina umana.

2. Componenti del kit

Colore coperchio	Componente	Numero di fiale	Volume [µl/fiale]
Blu	Master A	8	60
Viola	Master B	8	180
Verde	Internal Control	1	1000
Rosso	Positive Control	1	250
Bianco	Water (PCR grade)	1	500

Internal Control (IC) = Controllo interno

Positive Control = Controllo positivo

Water (PCR grade) = Acqua (testata per PCR)

3. Conservazione

- Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 viene spedito in ghiaccio secco. I componenti del kit devono arrivare congelati. Se uno o più componenti non sono congelati al momento della ricezione o se le provette sono state danneggiate durante la spedizione, contattare Altona Diagnostics GmbH per assistenza.
- Tutti i componenti devono essere conservati tra -25°C e -15°C dopo l'arrivo.
- Evitare lo scongelamento e il congelamento ripetuti (più di due volte) dei reagenti Master, poiché ciò potrebbe influire sulle prestazioni del test. I reagenti devono essere congelati in aliquote, in caso di utilizzo intermittente.
- La conservazione tra +2°C e +8°C non deve superare un periodo di due ore.
- Proteggere il Master A e il Master B dalla luce.

4. Materiale e dispositivi richiesti e non forniti

- Strumento PCR in tempo reale appropriato (vedere capitolo 6.1 Strumenti PCR in real-time)
- Sistema o kit di estrazione di acidi nucleici appropriato (vedere capitolo 8.1 Preparazione del campione)
- Centrifuga da banco con rotore per provette di reazione da 2 ml
- Centrifuga con rotore per piastre per microtitolazione, se si utilizzano piastre di reazione a 96 pozzetti
- Vortex mixer
- Piastre di reazione o provette di reazione appropriate a 96 pozzetti con materiale di chiusura (ottico) corrispondente
- Pipette (regolabili)
- Puntali con filtro (monouso)
- Guanti senza polvere (monouso)

NOTA



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

NOTA



Si consiglia di utilizzare il rotore a 72 pozzetti con le appropriate provette di reazione da 0,1 ml, se si utilizza il Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research) o il Rotor-Gene® Q 5/6 plex (QIAGEN).

5. Informazioni generali

Il *virus Zika* è un virus a RNA (+) a singolo filamento dotato di pericapside appartenente alla famiglia dei *Flaviviridae*. Come molti altri membri di questa famiglia, è principalmente trasmesso da zanzare del genere *Aedes*. Il virus fu isolato per la prima volta nel 1947 in Uganda da un macaco rhesus. Il primo caso umano di infezione da virus Zika fu scoperto nel 1968 in Nigeria. Inizialmente evidenze di infezioni da Zika furono riscontrate solo in pazienti in Africa e nel Sud-est asiatico. Nel 2007 il virus provocò una grande epidemia in Micronesia e in altre isole dell'oceano Pacifico. La Polinesia Francese, l'isola di Pasqua e le isole Cook ne furono colpite nel 2013. Dal 2015 il virus è endemico anche in America meridionale, e precisamente in Brasile, dove da allora si sono registrate grandi quantità di casi sospetti. Febbre, eruzione cutanea e artralgia sono segni e sintomi comuni delle infezioni da Zika, che ciò nonostante sono solitamente lievi e autolimitanti.

Poiché i virus Zika, dengue e chikungunya sono endemici delle medesime regioni geografiche e provocano sintomi simili, l'identificazione certa dell'agente eziologico è possibile solo con test di laboratorio. Il rilevamento del virus Zika per mezzo di RT-PCR in tempo reale deve essere effettuato nella prima fase (fino a 10 giorni) successiva all'insorgere della malattia. Saggi anticorpali solitamente mostrano reazioni crociate con i flavivirus strettamente correlati e il rilevamento di anticorpi neutralizzanti mediante saggio di riduzione delle placche è difficile e può essere eseguito solo da laboratori specializzati.

NOTA



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

6. Descrizione del prodotto

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è un test diagnostico *in vitro*, basato sulla tecnologia PCR in tempo reale per il rilevamento qualitativo dell'RNA specifico del virus Zika. Il test include un sistema di amplificazione eterologa (controllo interno) per identificare la possibile inibizione della RT-PCR e per confermare l'integrità dei reagenti del kit.

La tecnologia RT-PCR in tempo reale utilizza la reazione della trascrittasi inversa (RT) per convertire l'RNA in DNA complementare (cDNA), la reazione a catena della polimerasi (PCR) per l'amplificazione di sequenze target particolari e sonde target-specifiche per la rilevazione del DNA amplificato. Le sonde sono marcate con un reporter fluorescente (fluoroforo) ed un quencher.

Le sonde specifiche per l'RNA di ZIKV sono marcate con il fluoroforo FAM™. La sonda specifica per il controllo interno (IC) è marcata con il fluoroforo JOE™.

L'uso di sonde marcate con coloranti distinguibili consente il rilevamento in parallelo dell'RNA specifico di ZIKV, nonché il rilevamento del controllo interno nei corrispondenti canali di rivelazione dello strumento PCR in tempo reale.

Il test comprende tre processi in un'unica provetta:

- Trascrittasi inversa dell'RNA target e del controllo interno in cDNA
- Amplificazione PCR del cDNA target e controllo interno
- Rilevamento simultaneo di ampliconi da PCR mediante sonde marcate con colorante fluorescente

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è composto da:

- Master A
- Master B
- Internal Control
- Positive Control
- Water (PCR grade)

Internal Control = Controllo interno

Positive Control = Controllo positivo

Water (PCR grade) = Acqua (testata per PCR)

Master A e Master B contengono tutti i componenti (tampone per PCR, trascrittasi inversa, DNA polimerasi, sali di magnesio, primers e sonde) per consentire la trascrizione inversa, l'amplificazione mediata da PCR e il rilevamento dell'RNA specifico di ZIKV e del controllo interno in una singola reazione.

6.1 Strumenti per PCR in tempo reale

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è stato sviluppato e validato per essere utilizzato con i seguenti strumenti di PCR in tempo reale:

- Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
- VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

7. Avvertenze e precauzioni

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

- Prima del primo utilizzo, controllare il prodotto e i suoi componenti per:
 - Integrità
 - Completezza rispetto a numero, tipo e riempimento (vedere il capitolo 2. Componenti del kit)
 - Etichette corrette
 - Congelamento all'arrivo
- L'utilizzo di questo prodotto è limitato al personale appositamente istruito e addestrato nelle tecniche di PCR in tempo reale e procedure diagnostiche *in vitro*.
- I campioni devono essere sempre trattati come infettivi e/o pericolosi secondo le procedure di laboratorio sicure.
- Indossare guanti protettivi monouso senza polvere, un camice da laboratorio e una protezione per gli occhi durante la manipolazione dei campioni.
- Evitare la contaminazione microbica e nucleasica (DNasi/RNasi) dei campioni e dei componenti del kit.
- Utilizzare sempre puntali per pipette monouso privi di DNasi/RNasi.
- Indossare sempre guanti protettivi usa e getta senza polvere quando si maneggiano i componenti del kit.
- Utilizzare aree di lavoro separate e isolate per (i) preparazione del campione, (ii) impostazione della reazione e (iii) attività di amplificazione/rilevazione. Il flusso di lavoro in laboratorio dovrebbe procedere in modo unidirezionale. Indossare sempre guanti monouso in ogni area e cambiarli prima di entrare in un'altra area.
- Dedicare materiali di consumo e attrezzature alle aree di lavoro separate e non spostarle da un'area all'altra.
- Conservare il materiale positivo e/o potenzialmente positivo separato da tutti gli altri componenti del kit.

- Non aprire le provette/piastre di reazione dopo l'amplificazione, per evitare contaminazione con ampliconi.
- Controlli aggiuntivi possono essere testati secondo le linee guida o i requisiti delle normative locali, statali e/o federali o delle organizzazioni di accreditamento.
- Non sterilizzare in autoclave le provette dopo la PCR, poiché ciò non distrugge gli acidi nucleici amplificati e rischierà di contaminare l'area di laboratorio.
- Non utilizzare componenti del kit che hanno superato la data di scadenza.
- Eliminare i rifiuti dei campioni e del test in base alle normative di sicurezza locali.

8. Procedura

8.1 Preparazione del campione

La qualità dell'RNA estratto ha un profondo impatto sulle prestazioni dell'intero saggio. Occorre garantire che il sistema utilizzato per l'estrazione dell'acido nucleico sia compatibile con la tecnologia PCR in tempo reale. Il kit seguente è stato validato in combinazione con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 per l'estrazione dell'acido nucleico:

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)
 - N. cat. 52904 per 50 estrazioni
 - N. cat. 52906 per 250 estrazioni

L'estrazione dell'RNA con il QIAamp® Viral RNA Mini Kit deve essere eseguita secondo le istruzioni del produttore utilizzando 140 µl di campione come materiale di partenza. Per l'eluizione dell'RNA estratto devono essere utilizzati 60 µl di tampone AVE.

Potrebbero anche essere appropriati sistemi e kit di estrazione alternativi. L'idoneità della procedura di estrazione dell'acido nucleico per l'uso con RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 deve essere convalidata dall'utente.

Se si utilizza una procedura di preparazione del campione basata su colonna di centrifugazione che include tamponi di lavaggio contenenti etanolo, si consiglia di effettuare un'ulteriore fase di centrifugazione per 10 minuti a circa 17000 x g (~ 13000 rpm), usando una nuova provetta di raccolta, prima dell'eluizione dell'acido nucleico.

ATTENZIONE



Se il sistema di preparazione dei campioni utilizza tamponi di lavaggio contenenti etanolo, assicurarsi di eliminare eventuali tracce di etanolo prima dell'eluizione dell'acido nucleico. L'etanolo è un forte inibitore della PCR in tempo reale.

ATTENZIONE



L'uso dell'RNA carrier è fondamentale per l'efficienza di estrazione e la stabilità dell'acido nucleico estratto.

Per ricevere ulteriori informazioni e assistenza tecnica riguardanti pre-trattamento e preparazione dei campioni contattare il nostro servizio di assistenza tecnica (vedere il capitolo 14. Assistenza tecnica).

8.2 Preparazione della Master Mix

Tutti i reagenti e i campioni devono essere completamente scongelati, miscelati (mediante pipettaggio o passaggio delicato su un agitatore vortex) e centrifugati brevemente prima dell'uso.

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 contiene un controllo interno (IC) eterologo, che può essere utilizzato o come controllo di inibizione della RT-PCR o come controllo della procedura di preparazione del campione (estrazione dell'acido nucleico) e come controllo di inibizione della RT-PCR.

- ▶ Se l'IC viene utilizzato come controllo di inibizione della RT-PCR, ma non come controllo della procedura di preparazione del campione, impostare la Master Mix secondo il seguente schema:

Numero di reazioni (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Controllo interno	1 µl	12 µl
Volume Master Mix	21 µl	252 µl

- ▶ Se l'IC viene utilizzato come controllo per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della RT-PCR, aggiungere l'IC durante la procedura di estrazione dell'acido nucleico.
- ▶ L'IC **non deve** essere aggiunto direttamente al campione. L'IC deve essere sempre aggiunto alla miscela campione/tampone di lisi. Il volume dell'IC da aggiungere dipende sempre e soltanto dal volume di eluizione. Rappresenta il 10% del volume di eluizione. Per esempio, se si usa il QIAamp® Viral RNA Mini Kit con un volume di 60 µl di tampone AVE, alla miscela campione/tampone di lisi devono essere aggiunti 6 µl di IC per campione.
- ▶ Se l'IC è stato aggiunto durante la procedura di preparazione del campione, preparare la Master Mix secondo il seguente schema:

Numero di reazioni (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Volume Master Mix	20 µl	240 µl

ATTENZIONE



Se l'IC (controllo interno) è stato aggiunto durante la procedura di preparazione del campione, almeno il controllo negativo deve includere l'IC.

ATTENZIONE

Non aggiungere mai l'IC direttamente al campione.

8.3 Preparazione della reazione

- ▶ Pipettare 20 µl di Master Mix in ciascuno dei pozzetti richiesti di un'appropriata piastra di reazione ottica a 96 pozzetti o di un'appropriata provetta di reazione ottica.
- ▶ Aggiungere 10 µl di campione (eluato dall'estrazione dell'acido nucleico) o 10 µl del controllo (controllo positivo o negativo).

Preparazione della reazione	
Master Mix	20 µl
Campione o controllo	10 µl
Volume totale	30 µl

- ▶ Assicurarsi che almeno un controllo positivo e almeno un controllo negativo siano utilizzati ad ogni esecuzione del saggio.
- ▶ Miscelare accuratamente i campioni e i controlli con la Master Mix pipettando su e giù.
- ▶ Chiudere la piastra di reazione a 96 pozzetti con tappi o pellicola adesiva ottica adeguati e le provette di reazione con tappi appropriati.
- ▶ Centrifugare la piastra di reazione a 96 pozzetti in una centrifuga con rotore per piastra di microtitolazione per 30 secondi a circa 1.000 x g (~ 3.000 rpm).

9. Programmazione dello strumento PCR in tempo reale

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

Per istruzioni dettagliate sulla programmazione dell'utilizzo del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 su specifici strumenti PCR in tempo reale, contattare il nostro supporto tecnico (vedere il capitolo 14. Assistenza tecnica).

9.1 Impostazioni

- Definire i seguenti parametri:

Impostazioni	
Volume di reazione	30 µl
Velocità di rampa	Predefinito
Riferimento passivo	ROX™

9.2 Sonde fluorescenti (coloranti)

- Definire le seguenti sonde fluorescenti (coloranti):

Target	Nome sonda	Reporter	Quencher
RNA specifico ZIKV	ZIKV	FAM™	(Nessuno)
Controllo interno (IC)	IC	JOE™	(Nessuno)

9.3 Profilo termico e acquisizione dei coloranti

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

	Fase	Ripetizioni del ciclo	Acquisizione	Temperatura [°C]	Durata [min:sec]
Trascrizione inversa	Mantenimento	1	-	55	20:00
Denaturazione	Mantenimento	1	-	95	02:00
Amplificazione	Ciclaggio	45	-	95	00:15
			sì	55	00:45
			-	72	00:15

9.4 Note speciali riguardo alla configurazione degli strumenti raccomandati per PCR in tempo reale

Qui di seguito sono riportate le note speciali riguardo alla configurazione di LightCycler® 480 Instrument II (Roche), CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad), CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad), ABI Prism® 7500 SDS e ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems), Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research) e Rotor-Gene® Q 5/6 plex Platform (QIAGEN), VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare) e Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene).

LightCycler® 480 Instrument II

1. In “Experiment settings” (Impostazioni esperimento), selezionare “Detection Format: Dual Color Hydrolysis Probe / UPL Probe” (Formato rilevamento: sonda idrolisi Dual Color/sonda UPL).

2. Attivando il campo “Customize” (Personalizza assicurarsi che le impostazioni visualizzate per “Filter Combinations” (Combinazioni filtro) siano “FAM™ (465-510)” e “VIC™/HEX/Yellow555 (533-580)”.

ABI Prism® 7500 SDS

Accedere a “Plate Setup” (Impostazione piastra), “Define Targets and Samples” (Definisci target e campioni), “Assign Targets and Samples” (Assegna target e campioni):

1. Selezionare la piastra intera.
2. Cliccare sulle caselle di assegnazione per entrambi i target, I target dovrebbero comparire nei pozzetti dello schema della piastra.

ABI Prism® 7500 SDS Fast

Per “Plate Setup” (Impostazione piastra) utilizzare le stesse impostazioni di ABI Prism® 7500 SDS (vedere sopra). Per la versione Fast, andare a “Experiment properties” (Proprietà esperimento). La velocità di rampa deve essere impostata a “Standard (~2 hours to complete a run)” (Standard (~2 ore per completare un test)). Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 non è compatibile con le condizioni di ciclo rapido e le velocità di rampa aumentate.

CFX96™ Real-Time PCR Detection System e CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System

Aprire la finestra “Plate Editor” (Configuratore piastra) e selezionare tutti i pozzetti della piastra a 96 pozzetti. Cliccare su “Select Fluorophores” (Seleziona fluorofori). Per “Channel 1” (Canale 1) spuntare la casella dietro a FAM™ e per “Channel 2” (Canale 2) spuntare la casella dietro a VIC™. Assegnare i campioni ai pozzetti selezionando il “Sample Type” (Tipo campione) appropriato e successivamente cliccare su “Load” (Carica) per caricare FAM™ e VIC™ nei pozzetti il nome del target per FAM™ deve essere impostato su “Zika virus” e il nome del target per VIC™ su “Internal Control” (Controllo interno).

Rotor-Gene® 6000 e Rotor-Gene® Q 5/6 plex/MDx Platform

Scegliere il rotore a 72 pozzetti e il volume di reazione appropriato. L'ottimizzazione del guadagno deve essere eseguita prima della 1^a acquisizione.

VERSANT® kPCR Molecular System AD

Nel menu a tendina "Instrument" (Strumento) selezionare "Filter Set Gain Settings" (Impostazione guadagno set filtri). Comparirà una finestra pop-up. Impostare le seguenti configurazioni: Cy[®]5 x8, ROX[™] x4, JOE[™] x8 e FAM[™] x8. Chiudere la finestra pop-up cliccando sul pulsante OK.

Mx 3005P™ QPCR System

Nel menu a tendina "Instrument" (Strumento) selezionare "Filter Set Gain Settings" (Impostazione guadagno set filtri). Comparirà una finestra pop-up. Impostare le seguenti configurazioni: Cy[®]5 x8, ROX[™] x4, JOE[™] x8 e FAM[™] x8. Chiudere la finestra pop-up cliccando sul pulsante OK.

10. Analisi dei dati

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

Per istruzioni dettagliate sull'analisi dei dati generati con RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 su diversi strumenti PCR in tempo reale, contattare il nostro supporto tecnico (vedere il capitolo 14. Assistenza tecnica).

10.1 Validità dei test diagnostici

10.1.1 Test diagnostico valido

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

Controllo	Canale	
	FAM™	JOE™
Controllo positivo	+	+/-*
Controllo negativo	-	+

* La presenza o l'assenza di un segnale nel canale JOE™ non è rilevante per la validità dell'esecuzione del test.

10.1.2 Test diagnostico invalido

Un test diagnostico **non è valido**, (i) se l'esecuzione non è stata completata o (ii) se una delle condizioni di controllo per un test diagnostico **valido** non è soddisfatta.

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

10.2 Interpretazione dei risultati

10.2.1 Analisi qualitativa

Canale		Interpretazione dei risultati
FAM™	JOE™	
+	+*	Rilevato RNA specifico ZIKV.
-	+	Nessun RNA specifico ZIKV rilevato. Il campione non contiene quantità rilevabili dell'RNA specifico per ZIKV.
-	-	Inibizione della RT-PCR o guasto del reagente. Ripetere i test dal campione originale o raccogliere e testare un nuovo campione.

* Il rilevamento del controllo interno nel canale di rilevamento JOE™ non è necessario in caso di risultati positivi nel canale di rilevamento FAM™. Un elevato carico dell'RNA di ZIKV nel campione può portare a segnali del controllo interno ridotti o assenti.

11. Dati di performance

11.1 Valutazione della performance senza estrazione di acidi nucleici

11.1.1 Sensibilità analitica

La sensibilità analitica del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è definita come la concentrazione (copie/μl dell'eluato) di molecole dell'RNA specifico ZIKV che possono essere rilevate con un tasso di positività del 95%. La sensibilità analitica è stata determinata dall'analisi delle diluizioni seriali dell'RNA ZIKV quantificato.

Tab. 1: Risultati della RT-PCR utilizzati per il calcolo della sensibilità analitica rispetto al rilevamento dell'RNA specifico del virus Zika

Conc. in ingresso [copie/μl]	Numero di replicati	Numero di positivi	Tasso di successo [%]
31,622	24	24	100
10,000	24	24	100
3,162	24	24	100
1,000	24	24	100
0,500	24	23	96
0,316	24	20	83
0,100	24	10	42
0,050	24	8	33
0,032	24	6	25

La sensibilità analitica del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è stata determinata dall'analisi Probit:

- Per il rilevamento dell'RNA specifico del virus Zika, la sensibilità analitica è di 0,61 copie/μl eluato [intervallo di confidenza del 95% (IC): 0,39 - 1,27 copie/μl]

11.1.2 Specificità analitica

La specificità analitica del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è assicurata dall'accurata selezione degli oligonucleotidi (primer e sonde). Gli oligonucleotidi sono stati controllati mediante analisi comparativa delle sequenze rispetto a sequenze pubblicamente disponibili per garantire che tutti i genotipi di ZIKV pertinenti fossero rilevati.

La specificità analitica del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è stata valutata analizzando un pannello dell'RNA genomico estratto da virus non-Zika, alphavirus e altri patogeni.

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 non ha reagito in modo incrociato con nessuno dei seguenti patogeni:

- Virus dengue sierotipo 1
- Virus dengue sierotipo 2
- Virus dengue sierotipo 3
- Virus dengue sierotipo 4
- Virus dell'encefalite giapponese
- Virus Marburg (MARV)
- Sudan ebolavirus (SEBOV)
- Virus dell'encefalite di St. Louis
- Virus West Nile
- Virus della febbre gialla
- Zaire ebolavirus (ZEBOV)
- Parvovirus umano B19
- Virus Chikungunya
- Virus dell'encefalite Murray Valley
- *Plasmodium falciparum*

ATTENZIONE



Non è possibile escludere una reattività crociata con l'RNA del virus Usutu a causa dell'omologia di sequenza tra l'RNA del virus Usutu e la regione target usata per la rilevazione dell'RNA virus Zika-specifico. Il virus Usutu è un virus degli uccelli e raramente infetta gli esseri umani. Negli esseri umani non causa malattie gravi o letali e, solitamente, l'infezione resta asintomatica.

11.1.3 Precisione

La precisione del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è stata determinata come variabilità intra-dosaggio (variabilità all'interno di un esperimento), variabilità inter-dosaggio (variabilità tra esperimenti diversi) e variabilità inter-lotto (variabilità tra lotti di produzione diversi). La variabilità totale è stata calcolata combinando le tre analisi.

I dati di variabilità sono espressi in termini di deviazione standard e coefficiente di variazione sulla base del ciclo soglia (C_t) - valori. Almeno **otto** replicati per campione sono stati analizzati per la variabilità intra-dosaggio, inter-dosaggio e inter-lotto.

Tab. 2: Dati di precisione per il rilevamento dell'RNA specifico di ZIKV

ZIKV	Ciclo soglia medio (C _t)	Deviazione standard	Coefficiente di variazione [%]
Variabilità intra-dosaggio	31,33	0,07	0,21
Variabilità inter-dosaggio	31,35	0,10	0,32
Variabilità inter-lotto	31,42	0,11	0,35
Variabilità totale	31,39	0,11	0,35

Tab. 3: Dati di precisione per il rilevamento del controllo interno

Controllo interno	Ciclo soglia medio (C _t)	Deviazione standard	Coefficiente di variazione [%]
Variabilità intra-dosaggio	28,55	0,06	0,22
Variabilità inter-dosaggio	28,44	0,14	0,49
Variabilità inter-lotto	28,44	0,17	0,60
Variabilità totale	28,48	0,15	0,53

11.2 Valutazione della performance, estrazione di acidi nucleici inclusa

11.2.1 Campioni di siero

Stima del limite di rilevabilità (LoD):

Si sono preparate soluzioni seriali del virus Zika ceppo H/PF/2013 (concentrazione della soluzione madre TCID₅₀/ml: 10^{6,82}) ottenute dall'European Virus Archive (Marsiglia, Francia). Utilizzando qRT-PCR e RNA trascritto *in vitro* quantificato, il numero di genoma-equivalenti (geq) per il virus Zika per millilitro di soluzione madre è stato determinato a 1,26E+09.

Per l'estrazione dell'acido nucleico, 126 µl di siero in pool sono stati combinati a 560 µl di tampone AVL, contenente 6 µl di controllo interno (fornito con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0) a cui sono stati aggiunti 14 µl di soluzione madre diluita di

virus Zika. Il mix finale è stato sottoposto a procedura di estrazione conformemente alle istruzioni del produttore del QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN). L'eluizione è stata eseguita in 60 µl di tampone AVE. Ogni campione è stato estratto in triplicato e testato con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 su CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). La concentrazione più bassa alla quale i tre replicati sono risultati positivi è stata trattata come LoD provvisorio. I risultati sono riportati nella Tabella 4:

Tab. 4: Determinazione del LoD provvisorio per il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

Target	Concentrazione geq/ml	Tasso di rilevamento	Replicato 1 C _t (FAM™)	Replicato 2 C _t (FAM™)	Replicato 3 C _t (FAM™)
Virus Zika (ceppo H/PF/2013)	2515,71	3/3	33,52	33,76	33,87
	795,61	3/3	35,13	35,36	34,85
	251,62	3/3	36,98	35,92	35,86
	79,57	2/3	42,00	-	36,05
	25,17	1/3	36,74	-	-
	7,96	1/3	-	37,49	-
	2,52	0/3	-	-	-

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e il CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System hanno rilevato 3/3 replicati con una concentrazione di 251,62 geq/ml di siero.

Conferma del limite di rilevabilità (LoD):

Sulla base del LoD provvisorio, una soluzione madre diluita di virus Zika è stata aggiunta a 20 campioni individuali di siero fino a una concentrazione finale di 251,62 geq/ml. Gli acidi nucleici sono stati estratti con il QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) come precedentemente descritto. Gli eluati ottenuti sono stati analizzati con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 sugli strumenti seguenti:

- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- Rotor-Gene® Q (QIAGEN)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

I risultati sono riportati nelle Tabelle 5, 6, 7 e 8.

Tab. 5: Conferma del LoD sul CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

Concentrazione del virus Zika = 251,62 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (VIC™)
1	+	36,84	31,55
2	+	38,29	32,16
3	+	36,07	31,71
4	+	35,18	31,32
5	+	36,95	31,60
6	+	36,22	31,71
7	+	35,48	32,06
8	+	35,12	32,04
9	+	36,05	31,49
10	+	36,07	31,89
11	+	35,77	31,69
12	-	-	32,68
13	+	36,51	32,17
14	+	36,21	32,32
15	+	34,96	31,66
16	+	36,08	32,18

Concentrazione del virus Zika = 251,62 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (VIC™)
17	+	35,97	32,05
18	+	35,47	31,41
19	+	36,07	31,86
20	+	36,15	31,87
Dati statistici	C _t media (n=19)	36,08	31,87
	SD	0,76	0,34
	CV %	2,09	1,06
	risultato	19/20	

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e il CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System hanno rilevato 19/20 replicati a una concentrazione di 251,62 geq/ml. Pertanto, il LoD confermato è 251,62 geq/ml di siero.

Tab. 6: Conferma del LoD su Rotor-Gene® Q (QIAGEN)

Concentrazione del virus Zika = 251,62 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
1	+	34,68	30,34
2	+	36,10	30,74
3	+	35,74	30,57
4	+	34,62	30,05
5	+	34,93	30,29
6	+	35,12	30,58
7	+	35,29	30,60
8	+	35,08	30,63

Concentrazione del virus Zika = 251,62 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
9	+	34,38	30,32
10	+	36,47	30,42
11	+	34,33	30,29
12	+	36,78	31,39
13	+	35,76	31,02
14	+	34,99	30,89
15	+	34,59	30,36
16	+	35,40	30,83
17	+	34,58	30,64
18	+	34,88	30,27
19	+	35,99	30,29
20	+	34,67	30,32
Dati statistici	C _t media (n=20)	35,22	30,54
	SD	0,71	0,32
	CV %	2,01	1,04
	Risultato	20/20	

Alla concentrazione di 251,62 geq/ml, sono stati rilevati positivi 20/20 replicati e pertanto si conferma il LoD a 251,62 geq/ml di siero per il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e Rotor-Gene® Q (QIAGEN).

Tab. 7: Conferma del LoD su ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)

Concentrazione del virus Zika = 251,62 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
1	+	36,18	30,20
2	+	35,11	30,67
3	+	35,02	30,38
4	+	35,49	29,88
5	+	34,86	30,35
6	+	35,37	30,09
7	+	35,61	30,33
8	+	34,67	30,28
9	+	34,85	30,12
10	+	35,61	29,91
11	+	34,82	30,05
12	+	35,78	31,07
13	+	34,78	30,95
14	+	36,43	30,75
15	+	34,25	30,19
16	+	35,33	30,57
17	+	34,86	30,31
18	+	36,58	30,00
19	+	35,10	30,13
20	+	34,74	30,32

Concentrazione del virus Zika = 251,62 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
Dati statistici	C _t media (n=20)	35,27	30,32
	SD	0,62	0,33
	CV %	1,74	1,08
	Risultato	20/20	

Alla concentrazione di 251,62 geq/ml, sono stati rilevati positivi 20/20 replicati e pertanto si conferma il LoD a 251,62 geq/ml di siero per il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)

Tab. 8: Conferma del LoD su LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

Concentrazione del virus Zika = 251,62 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
1	+	35,55	30,93
2	+	36,93	31,28
3	+	35,84	30,73
4	+	35,49	30,60
5	+	36,89	30,79
6	+	36,48	30,81
7	+	35,88	30,80
8	+	35,37	30,89
9	+	35,46	30,59
10	+	35,85	31,01
11	+	35,90	30,55
12	+	36,33	31,74

Concentrazione del virus Zika = 251,62 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
13	+	36,30	31,28
14	+	37,59	31,22
15	+	35,74	30,77
16	+	36,18	31,04
17	+	36,48	31,13
18	+	36,00	30,66
19	+	36,48	30,78
20	+	35,82	30,78
Dati statistici	C _t media (n=20)	36,13	30,92
	SD	0,57	0,29
	CV %	1,57	0,95
	Risultato	20/20	

Alla concentrazione di 251,62 geq/ml, sono stati rilevati positivi 20/20 replicati e pertanto si conferma il LoD a 251,62 geq/ml di siero per il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e LightCycler® 480 Instrument II (Roche).

11.2.2 Campioni di urina

Stima del limite di rilevabilità (LoD):

Si sono preparate soluzioni seriali del virus Zika ceppo H/PF/2013 (concentrazione della soluzione madre TCID₅₀/ml: 10^{6,82}) ottenute dall'European Virus Archive (Marsiglia, Francia). Utilizzando qRT-PCR e RNA trascritto in vitro quantificato, il numero di genoma-equivalenti (geq) per il virus Zika per millilitro di soluzione madre è stato determinato a 1,26E+09.

Per l'estrazione dell'acido nucleico 126 µl di urina in pool sono stati combinati a 560 µl di tampone AVL, contenente 6 µl di controllo interno (fornito con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0) a cui sono stati aggiunti 14 µl di soluzione madre diluita di virus Zika. Il mix finale è stato sottoposto a procedura di estrazione conformemente alle istruzioni del produttore del QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN). L'eluizione è stata eseguita in 60 µl di tampone AVE. Ogni campione è stato estratto in triplicato e testato con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 su CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). La concentrazione più bassa alla quale i tre replicati sono risultati positivi è stata trattata come LoD provvisorio. I risultati sono riportati nella Tabella 9:

Tab. 9: Determinazione del LoD provvisorio per il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

Target	Concentrazione geq/ml	Tasso di rilevamento	Replicato 1 C _t (FAM™)	Replicato 2 C _t (FAM™)	Replicato 3 C _t (FAM™)
Virus Zika (ceppo H/PF/2013)	2515,71	3/3	33,15	33,34	33,11
	795,61	3/3	34,10	33,83	35,07
	251,62	3/3	35,54	35,64	35,27
	79,57	3/3	36,78	37,41	36,40
	25,17	2/3	38,38	37,72	-
	7,96	1/3	-	-	38,22
	2,52	0/3	-	-	-

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e il sistema di rilevamento CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System hanno rilevato 3/3 replicati con una concentrazione di 79,57 geq/ml di urina.

Conferma del limite di rilevabilità (LoD):

Sulla base del LoD provvisorio, una soluzione madre diluita di virus Zika è stata aggiunta a 20 campioni individuali di urina fino a una concentrazione finale di 79,57 geq/ml. Gli acidi nucleici sono stati estratti con il QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) come precedentemente descritto. Gli eluati ottenuti sono stati analizzati con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 sugli strumenti seguenti:

- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- Rotor-Gene® Q (QIAGEN)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

I risultati sono riportati nelle Tabelle 10, 11, 12 e 13.

Tab. 10: Conferma del LoD sul CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

Concentrazione del virus Zika = 79,57 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (VIC™)
1	+	36,72	30,77
2	+	36,34	31,06
3	+	37,21	31,07
4	+	36,41	31,21
5	+	37,89	30,59
6	-	-	31,21
7	+	36,12	31,25

Concentrazione del virus Zika = 79,57 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (VIC™)
8	+	36,25	30,43
9	+	38,03	30,64
10	+	37,36	31,11
11	+	38,08	31,99
12	+	37,26	30,95
13	+	36,30	31,27
14	+	35,75	31,74
15	+	36,68	31,01
16	+	39,07	31,08
17	+	37,17	31,67
18	+	35,79	31,04
19	+	38,01	31,44
20	+	37,17	31,05
Dati statistici	C _t media (n=19)	37,03	31,08
	SD	0,90	0,27
	CV %	2,42	0,87
	Risultato	19/20	

Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e il CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System hanno rilevato 19/20 replicati a una concentrazione di 79,57 geq/ml. Pertanto, il LoD confermato è 79,57 geq/ml di urina.

Tab. 11: Conferma del LoD su Rotor-Gene® Q (QIAGEN)

Concentrazione del virus Zika = 79,57 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
1	+	36,45	29,66
2	+	35,47	30,20
3	+	36,03	30,37
4	+	35,70	30,08
5	+	35,97	29,53
6	+	37,38	30,41
7	-	-	30,03
8	+	37,34	30,23
9	+	35,36	29,49
10	+	36,40	30,10
11	+	35,57	29,83
12	+	36,52	29,74
13	+	37,59	30,21
14	+	35,49	29,53
15	+	36,12	29,89
16	+	36,53	29,83
17	+	36,76	30,73
18	+	36,55	29,79
19	+	36,19	30,39
20	+	37,39	29,79

Concentrazione del virus Zika = 79,57 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
Dati statistici	C _t media (n=19)	36,36	29,99
	SD	0,70	0,34
	CV %	1,92	1,13
	Risultato	19/20	

Alla concentrazione di 79,57 geq/ml, sono stati rilevati positivi 19/20 replicati e pertanto si conferma il LoD a 79,57 geq/ml di urina per il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e Rotor-Gene® Q (QIAGEN).

Tab. 12: Conferma del LoD su ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)

Concentrazione del virus Zika = 79,57 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
1	+	36,11	29,48
2	+	36,63	29,97
3	+	35,76	29,94
4	+	37,29	29,85
5	+	36,54	29,56
6	+	37,37	29,86
7	+	36,36	30,03
8	+	37,27	30,11
9	+	36,05	29,45
10	+	36,65	30,06
11	+	37,33	29,86
12	+	35,88	29,53

Concentrazione del virus Zika = 79,57 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
13	+	36,09	30,02
14	+	37,58	29,51
15	+	37,36	29,86
16	+	36,07	29,80
17	+	36,50	30,23
18	+	37,36	29,81
19	+	35,86	30,20
20	+	35,74	29,74
Dati statistici	C _t media (n=20)	36,58	29,84
	SD	0,65	0,24
	CV %	1,79	0,80
	Risultato	20/20	

Alla concentrazione di 79,57 geq/ml, sono stati rilevati positivi 20/20 replicati e pertanto si conferma il LoD a 79,57 geq/ml di urina per il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems).

Tab. 13: Conferma del LoD su LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

Concentrazione del virus Zika = 79,57 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
1	+	37,29	30,15
2	+	37,03	30,34
3	+	37,67	30,48
4	+	36,83	30,42

Concentrazione del virus Zika = 79,57 geq/ml			
Campione	Pos/Neg	C _t (FAM™)	C _t (JOE™)
5	+	36,58	30,02
6	+	36,90	30,69
7	+	37,50	30,66
8	+	38,63	30,71
9	+	36,74	30,10
10	+	37,95	30,54
11	+	37,13	30,52
12	+	38,12	30,29
13	+	36,53	30,54
14	+	37,41	30,19
15	+	37,16	30,43
16	+	36,70	30,61
17	+	37,79	30,86
18	+	37,28	30,41
19	+	40,00	30,86
20	+	38,42	30,35
Dati statistici	C _t media (n=20)	37,48	30,46
	SD	0,84	0,24
	CV %	2,25	0,78
	Risultato	20/20	

Alla concentrazione di 79,57 geq/ml, sono stati rilevati positivi 20/20 replicati e pertanto si conferma il LoD a 79,57 geq/ml di urina per il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 in combinazione con il sistema di estrazione manuale QIAamp® Viral RNA Mini Kit e LightCycler® 480 Instrument II (Roche).

11.3 Valutazione della performance clinica

Per valutare la performance clinica del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, un totale di 208 campioni clinici ottenuti da 153 pazienti che manifestavano segni e sintomi di infezione da virus Zika (106 donne (F) e 47 uomini (M)) sono stati analizzati retrospettivamente in cieco. Dei 208 campioni analizzati, per 103 si trattava di campioni di siero e per 105 di urina.

Per l'estrazione dell'RNA è stato utilizzato il QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN). 140 µl di ciascun campione di urina o di siero sono stati combinati con 560 µl di tampone AVL, contenente 6 µl del controllo interno fornito con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0. Il mix campione/tampone AVL è stato sottoposto alla procedura di estrazione seguendo le istruzioni del produttore. L'eluizione è stata eseguita in 60 µl di tampone AVE.

Gli eluati sono stati analizzati con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, nonché con la RT-PCR descritta da Lanciotti et. al (Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, et al. (2008) Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007; Emerg Infect Dis. 2008 Aug; 14(8): 1232–1239).

Per l'esecuzione della RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al. sono stati utilizzati gli oligonucleotidi seguenti (Tabella 14):

Tab. 14: Oligonucleotidi utilizzati per la RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.

Primer/sonda	Sequenza 5'-> 3'
ZIKV 1086	CCGCTGCCCAACACAAG
ZIKV 1162c	CCACTAACGTTCTTTTGACAGACAT
ZIKV 1107-FAM	AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACACTCAA

Entrambi i test, il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 e la RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al., sono stati eseguiti su un CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). I risultati generati per i diversi campioni testati sono riportati alla Tabella 15:

Tab. 15: Risultati dell'analisi dei campioni clinici

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
1	F	2	Siero	-	-	29,88	-	-
		2	Urina	-	-	31,57	-	-
2	F	5	Urina	-	-	29,50	-	-
3	F	1	Siero	-	-	30,37	-	-
		1	Urina	-	-	29,49	-	-
4	F	1	Siero	-	-	30,32	-	-
		1	Urina	-	-	30,16	-	-
5	F	1	Siero	-	-	31,04	-	-
		1	Urina	-	-	30,10	-	-
6	F	3	Siero	-	-	30,77	-	-
		3	Urina	-	-	30,14	-	-
7	M	4	Siero	-	-	30,05	-	-
		4	Urina	-	-	31,21	-	-
8	M	0	Siero	-	-	29,61	-	-
		0	Urina	-	-	29,72	-	-
9	F	6	Urina	-	-	29,88	-	-

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
10	F	4	Siero	-	-	31,88	-	-
		4	Urina	-	-	29,83	-	-
11	F	0	Siero	-	-	31,33	-	-
		0	Urina	-	-	30,35	-	-
12	M	3	Siero	-	-	30,10	-	-
		3	Urina	-	-	30,34	-	-
13	F	4	Urina	33,03	+	29,92	33,85	+
14	F	2	Siero	33,53	+	29,84	32,73	+
15	M	5	Siero	-	-	30,53	-	-
		5	Urina	33,76	+	30,02	34,83	+
16	M	2	Siero	-	-	30,45	-	-
		2	Urina	-	-	29,87	-	-
17	F	3	Siero	30,12	+	31,45	29,68	+
18	F	3	Urina	-	-	29,81	-	-
19	F	2	Siero	-	-	29,60	-	-
		2	Urina	33,41	+	30,24	33,95	+
20	F	6	Urina	-	-	29,85	38,64	+
21	M	2	Siero	-	-	31,79	-	-
		2	Urina	-	-	29,96	-	-
22	M	1	Siero	-	-	32,04	-	-
		1	Urina	-	-	29,86	-	-

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
23	F	2	Siero	-	-	30,90	-	-
24	F	7	Urina	-	-	30,46	-	-
25	F	0	Siero	33,35	+	30,43	33,33	+
		3	Urina	31,93	+	31,23	32,81	+
26	F	3	Siero	-	-	30,81	-	-
		3	Urina	-	-	30,13	-	-
27	F	0	Urina	-	-	29,40	-	-
28	M	5	Siero	-	-	31,43	-	-
		5	Urina	-	-	30,49	-	-
29	F	7	Urina	-	-	30,09	-	-
30	M	1	Siero	-	-	32,57	-	-
		1	Urina	-	-	29,97	-	-
31	F	1	Siero	35,91	+	31,19	37,41	+
		1	Urina	30,14	+	30,06	30,05	+
32	M	2	Siero	-	-	30,49	-	-
		2	Urina	-	-	30,29	-	-
33	F	2	Siero	32,15	+	31,35	31,84	+
34	F	0	Urina	35,43	+	29,90	36,43	+
35	M	7	Urina	34,39	+	29,59	35,78	+
36	F	2	Siero	-	-	30,01	37,85	+
37	F	2	Urina	-	-	30,02	-	-

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
38	M	8	Urina	-	-	35,35	-	-
39	F	6	Siero	30,94	+	30,13	30,34	+
40	M	3	Siero	-	-	29,80	-	-
		3	Urina	-	-	30,76	-	-
41	M	3	Siero	-	-	30,36	-	-
		3	Urina	-	-	30,38	-	-
42	F	0	Siero	30,42	+	31,04	29,72	+
43	M	6	Urina	-	-	30,04	-	-
44	F	1	Siero	35,92	+	30,69	36,27	+
		1	Urina	35,16	+	29,77	38,48	+
45	M	6	Urina	-	-	30,06	-	-
46	M	4	Siero	-	-	30,98	-	-
		4	Urina	-	-	30,11	-	-
47	M	3	Urina	34,23	+	30,42	36,50	+
48	M	2	Urina	26,17	+	29,09	25,65	+
49	M	4	Siero	-	-	30,08	-	-
		4	Urina	-	-	30,23	-	-
50	F	6	Urina	-	-	29,91	-	-
51	F	2	Siero	35,04	+	32,35	34,74	+
52	F	3	Siero	33,48	+	31,29	33,18	+

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
53	M	5	Siero	-	-	29,69	-	-
		5	Urina	-	-	30,04	-	-
54	F	1	Siero	26,08	+	29,83	25,24	+
55	F	2	Urina	-	-	30,02	-	-
56	F	6	Siero	-	-	31,71	-	-
		6	Urina	-	-	31,11	-	-
57	F	7	Urina	-	-	30,10	-	-
58	F	4	Siero	-	-	32,75	-	-
		4	Urina	-	-	30,20	-	-
59	M	1	Siero	-	-	30,41	-	-
		1	Urina	-	-	29,87	-	-
60	M	0	Siero	-	-	29,62	-	-
		0	Urina	-	-	29,82	-	-
61	F	2	Siero	-	-	30,52	-	-
62	F	7	Urina	-	-	30,06	-	-
63	F	0	Siero	-	-	31,47	-	-
		0	Urina	-	-	29,74	-	-
64	F	7	Urina	28,03	+	30,03	28,68	+
65	F	2	Siero	37,79	+	29,33	38,15	+
		2	Urina	36,07	+	29,47	37,66	+
66	F	2	Siero	33,06	+	31,45	33,21	+

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
67	F	4	Siero	30,66	+	29,53	30,19	+
68	M	1	Siero	-	-	30,79	-	-
69	M	2	Siero	35,08	+	31,68	35,14	+
70	F	3	Urina	-	-	30,39	39,17	+
71	F	1	Siero	-	-	29,83	-	-
72	M	1	Siero	36,58	+	31,89	-	-
73	F	3	Urina	33,36	+	30,55	32,98	+
74	F	4	Siero	-	-	30,94	-	-
		4	Urina	-	-	30,92	-	-
75	F	3	Siero	35,03	+	29,82	35,30	+
76	M	3	Siero	34,06	+	29,57	34,01	+
77	F	3	Urina	35,02	+	31,02	34,66	+
78	F	6	Siero	32,00	+	30,08	32,03	+
		6	Urina	33,55	+	30,06	35,52	+
79	F	2	Siero	34,99	+	29,65	36,29	+
		2	Urina	26,59	+	29,72	26,94	+
80	M	3	Siero	31,93	+	29,78	31,17	+
		3	Urina	37,78	+	32,00	-	-
81	F	4	Siero	35,07	+	31,86	35,32	+
		4	Urina	34,51	+	30,83	36,42	+
82	F	1	Siero	33,51	+	29,88	33,09	+

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
83	F	0	Siero	26,83	+	33,66	26,55	+
		8	Urina	19,37	+	-*	17,88	+
84	F	3	Urina	34,83	+	30,38	35,38	+
85	M	5	Urina	33,31	+	30,25	33,31	+
86	M	6	Urina	-	-	30,52	-	-
87	M	3	Siero	35,07	+	29,62	34,18	+
		3	Urina	31,01	+	30,34	30,48	+
88	F	6	Siero	-	-	29,54	-	-
		6	Urina	28,58	+	30,67	28,01	+
89	F	3	Siero	30,87	+	29,74	29,98	+
90	F	2	Siero	28,58	+	29,51	27,77	+
91	F	1	Siero	33,71	+	31,35	33,66	+
92	F	3	Urina	35,60	+	30,03	38,29	+
93	M	3	Siero	36,78	+	29,61	37,92	+
94	M	6	Urina	-	-	30,34	38,81	+
95	F	3	Siero	37,60	+	30,86	37,61	+
96	F	5	Urina	33,77	+	30,35	34,09	+
97	M	3	Siero	28,47	+	29,75	27,18	+
98	F	2	Siero	32,09	+	32,02	31,38	+
		2	Urina	37,64	+	31,16	38,33	+
99	F	1	Urina	33,47	+	30,57	35,44	+

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
100	F	4	Urina	-	-	30,31	-	-
101	M	7	Urina	-	-	30,30	-	-
102	F	0	Siero	-	-	32,62	-	-
103	F	3	Urina	33,63	+	30,30	33,45	+
104	F	2	Siero	36,05	+	32,30	36,08	+
		2	Urina	37,63	+	30,10	38,13	+
105	F	0	Siero	33,25	+	31,81	33,38	+
106	F	1	Urina	34,63	+	29,89	35,41	+
107	F	2	Siero	37,96	+	32,13	39,51	+
108	F	5	Siero	33,81	+	29,98	33,68	+
		5	Urina	35,89	+	30,31	36,57	+
109	F	1	Siero	-	-	30,38	-	-
110	M	7	Urina	-	-	30,61	-	-
111	F	1	Siero	37,07	+	31,19	38,54	+
112	F	2	Urina	35,76	+	29,94	-	-
113	F	2	Siero	31,13	+	31,50	30,62	+
114	M	1	Urina	-	-	29,83	-	-
115	F	5	Siero	-	-	30,30	36,89	+
		5	Urina	31,12	+	30,35	30,34	+
116	F	2	Siero	35,75	+	30,80	37,02	+
117	F	3	Urina	37,90	+	30,37	-	-

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
118	F	1	Siero	35,27	+	33,39	35,16	+
119	F	3	Siero	35,41	+	32,99	36,20	+
120	F	3	Urina	36,50	+	29,81	-	-
121	M	6	Urina	28,27	+	30,13	28,31	+
122	M	3	Siero	30,27	+	29,45	29,05	+
123	M	1	Siero	25,15	+	28,89	24,59	+
124	F	3	Urina	34,03	+	30,57	35,76	+
125	F	5	Urina	27,22	+	29,90	27,75	+
126	F	3	Urina	34,14	+	30,02	35,86	+
		1	Urina	37,81	+	30,20	-	-
127	F	2	Siero	27,47	+	29,41	27,38	+
		6	Siero	37,28	+	32,06	37,99	+
		6	Urina	26,93	+	29,28	25,90	+
128	M	2	Siero	29,58	+	29,62	28,76	+
129	F	3	Siero	34,26	+	30,16	33,89	+
		3	Urina	37,72	+	31,16	-	-
130	M	3	Urina	35,43	+	30,31	35,13	+
131	F	0	Siero	-	-	30,37	-	-
		0	Urina	36,28	+	29,79	36,82	+
132	F	3	Siero	30,58	+	29,49	30,10	+
133	F	4	Siero	35,20	+	32,73	35,45	+

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
134	F	0	Urina	-	-	29,62	-	-
135	M	4	Siero	32,37	+	31,16	32,22	+
		4	Siero	34,19	+	31,47	34,39	+
		4	Urina	33,21	+	30,41	34,16	+
136	F	0	Siero	36,58	+	32,12	37,04	+
137	F	3	Urina	32,11	+	29,89	31,41	+
138	F	2	Siero	34,84	+	30,31	34,56	+
139	M	3	Urina	33,61	+	29,59	33,88	+
140	M	2	Siero	31,01	+	30,44	30,39	+
		2	Urina	33,44	+	30,17	33,48	+
141	F	4	Urina	31,12	+	29,59	30,32	+
142	F	3	Siero	33,65	+	29,54	33,50	+
143	F	0	Siero	29,11	+	30,82	28,39	+
		0	Urina	35,88	+	29,89	37,81	+
144	F	0	Siero	31,06	+	29,53	30,12	+
145	F	4	Siero	33,29	+	32,66	33,17	+
146	F	4	Urina	26,17	+	29,81	26,00	+
147	M	1	Urina	-	-	30,58	-	-
148	M	5	Urina	31,22	+	29,70	30,27	+
149	F	2	Siero	30,07	+	30,23	29,81	+
150	F	0	Siero	35,36	+	30,58	35,23	+

ID paziente	Sesso	Giorni dopo l'insorgere dei sintomi	Tipo di campione	RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	
				C _t (FAM™)	Rilevamento	C _t (VIC™)	C _t (FAM™)	Rilevamento
151	F	2	Siero	28,97	+	30,06	28,29	+
152	F	5	Siero	37,16	+	30,29	-	-
		5	Urina	-	-	30,05	-	-
153	F	2	Siero	-	-	30,16	-	-

* Il rilevamento del controllo interno nel canale di rilevamento VIC™ non è necessario per risultati positivi nel canale di rilevamento FAM™. L'elevato carico di virus Zika nel campione determina l'assenza del segnale di controllo interno.

Analisi dei risultati riguardo ai campioni siero/urina appaiati

Campioni appaiati di urina e siero sono stati raccolti da 52 pazienti dello studio e analizzati. Un paziente veniva considerato infetto dal virus Zika (ovvero, positivo all'infezione) se il campione di siero e/o il campione di urina risultavano positivi all'RNA specifico del virus Zika con l'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al. Lo stato infettivo del paziente era considerato negativo se entrambi i campioni di siero e urina risultavano negativi con l'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.

Dei 52 campioni appaiati analizzati, 23 hanno dato un risultato positivo per il campione di siero e/o urina (ovvero, stato infettivo del paziente = positivo) con l'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al., mentre 29 campioni appaiati sono risultati negativi per entrambi i campioni, di siero e urina (ovvero, stato infettivo del paziente = negativo). Tutti i 23 pazienti con stato infettivo positivo sono risultati positivi anche con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 per il campione di siero e/o urina. Dei 29 campioni appaiati di pazienti con stato infettivo negativo, 28 sono risultati negativi all'RNA specifico del virus Zika nel campione sia di siero che di urina con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0. Un paziente con stato infettivo negativo è risultato positivo nel campione di siero e negativo nel campione

di urina con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.

Concludendo, la percentuale di concordanza positiva dei risultati generati con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 rispetto ai risultati dell'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al. è pari al 100,0%. La percentuale di concordanza negativa tra le due analisi è pari al 96,6%. I risultati sono riassunti nella Tabella 16:

Tab. 16: Sommario dei risultati riguardo allo stato infettivo dei pazienti (rilevamento dell'RNA del virus Zika nel siero e/o nell'urina di pazienti a cui sono stati prelevati campioni appaiati di siero/urina). Il numero totale di campioni appaiati era 52.

Risultati dell'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	Risultati del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0		
	Positivo		Negativo
23 positivi	23 [†]		0
29 negativi	1 [*]		28
Totale (52 campioni appaiati)	24		28
			95% CI
Percentuale di concordanza positiva	23/23	100,0%	85,7% - 100,0%
Percentuale di concordanza negativa	28/29	96,6%	82,8% - 99,4%

* Questo paziente è risultato positivo solo nel campione di siero e negativo nel campione di urina con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.

† Quattro di questi pazienti erano positivi solo nel campione di urina e negativi nel campione di siero con entrambe le analisi. Due pazienti erano positivi nel campione di siero e negativi nel campione di urina con l'analisi descritta da Lanciotti et al., ma positivi nel campione di siero e nel campione di urina con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0. Un paziente era positivo nel campione di siero e nel campione di urina con l'analisi descritta da Lanciotti et al., ma positivo solo nel campione di urina e negativo nel campione di siero con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.

Analisi dei risultati riguardo al campione di siero

Dei 103 campioni di siero inclusi nello studio comparativo, 62 sono risultati positivi all'RNA del virus Zika con l'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al., mentre 41 sono risultati negativi. Dei 62 campioni positivi di siero, 60 sono

risultati positivi anche con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, mentre due sono risultati negativi. Dei 41 campioni di siero risultati negativi per il virus Zika con l'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al., 39 sono risultati negativi e due positivi con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.

Concludendo, per i campioni di siero la percentuale di concordanza positiva dei risultati generati con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 rispetto ai risultati dell'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al. è pari al 96,8%. La percentuale di concordanza negativa tra le due analisi è pari al 95,1%. I risultati sono riassunti nella Tabella 17:

Tab. 17: Sommario dei risultati del rilevamento dell'RNA del virus Zika in campioni di siero. Il numero totale dei campioni di siero era 103.

Risultati dell'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	Risultati del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0		
	Positivo	Negativo	
62 positivi	60	2	
41 negativi	2	39	
Totale (103 campioni)	62	41	
		95% CI	
Percentuale di concordanza positiva	60/62	96,8%	89,0% - 99,1%
Percentuale di concordanza negativa	39/41	95,1%	83,9% - 98,7%

Analisi dei risultati rispetto ai campioni di urina

Dei 105 campioni di urina inclusi nello studio comparativo, 49 sono risultati positivi all'RNA del virus Zika con l'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al., mentre 56 sono risultati negativi. Dei 49 campioni positivi di urina, 46 sono risultati positivi anche con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, mentre tre sono risultati negativi. Dei 56 campioni di urina risultati negativi per il virus Zika con l'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al., 50 sono risultati negativi e sei positivi con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.

Concludendo, per i campioni di urina la percentuale di concordanza positiva dei risultati generati con il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 rispetto ai risultati dell'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al. è pari al 93,9%. La percentuale di concordanza negativa tra le due analisi è pari al 89,3%. I risultati sono riassunti nella Tabella 18:

Tab. 18: Sommario dei risultati del rilevamento dell'RNA del virus Zika in campioni di urina. Il numero totale dei campioni di urina era 105.

Risultati dell'analisi RT-PCR in tempo reale descritta da Lanciotti et al.	Risultati del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0		
	Positivo		Negativo
49 positivi	46		3
56 negativi	6		50
Totale (105 campioni)	52		53
			95% CI
Percentuale di concordanza positiva	46/49	93,9%	83,5% - 98,0%
Percentuale di concordanza negativa	50/56	89,3%	78,5% - 95,0%

12. Limitazioni

- Per risultati ottimali è richiesta la rigorosa osservanza delle istruzioni per l'uso.
- L'utilizzo di questo prodotto è limitato al personale appositamente istruito e addestrato nelle tecniche di PCR in tempo reale e procedure diagnostiche *in vitro*.
- La buona pratica di laboratorio è essenziale per la corretta esecuzione di questo test. È necessario prestare la massima attenzione per preservare la purezza dei componenti del kit e le impostazioni di reazione. Tutti i reagenti devono essere attentamente monitorati per impurità e contaminazione. Eventuali reagenti sospetti devono essere eliminati.
- Per l'esecuzione ottimale di questo test sono necessarie adeguate procedure di raccolta, trasporto, conservazione ed elaborazione dei campioni.
- Questo test non deve essere utilizzato direttamente sul campione. Prima di utilizzare questo test, devono essere condotti appropriati metodi di estrazione dell'acido nucleico.
- La presenza di inibitori della RT-PCR (ad es. eparina) può causare risultati falsi negativi o non validi.
- Le potenziali mutazioni all'interno delle regioni target del genoma ZIKV coperte dai primer e/o dalle sonde utilizzate nel kit possono causare una il mancato rilevamento della presenza dei patogeni.
- Come con qualsiasi test diagnostico, i risultati del RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 devono essere interpretati in considerazione di tutti i risultati clinici e di laboratorio.
- Non è possibile escludere una reattività crociata con l'RNA del virus Usutu a causa dell'omologia di sequenza tra l'RNA del virus Usutu e la regione target usata per la rilevazione dell'RNA virus Zika-specifico. Il virus Usutu è un virus degli uccelli e raramente infetta gli esseri umani. Negli esseri umani non causa malattie gravi o letali e, solitamente, un'infezione resta asintomatica.

13. Controllo di qualità

In conformità con il sistema di gestione della qualità certificato ISO EN 13485 di Altona Diagnostics GmbH, ogni lotto di RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è testato in base a specifiche prestabilite per garantire una qualità costante del prodotto.

14. Assistenza tecnica

Per l'assistenza ai clienti, si prega di contattare il nostro supporto tecnico:

e-mail: **support@altona-diagnostics.com**

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

15. Letteratura

Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise e David W. Warnock (ed). Manual of Clinical Microbiology. 10th Edition. ASM Press, 2011.

Cohen, Jonathan, Powderly, William G, and Steven M Opal. Infectious Diseases, Third Edition. Mosby, 2010.

16. Marchi e brevetti

RealStar® (altona Diagnostics); ABI Prism® (Applied Biosystems); ATCC® (American Type Culture Collection); CFX96™ (Bio-Rad); Cy® (GE Healthcare); FAM™, JOE™, ROX™ (Life Technologies); LightCycler® (Roche); Maxwell® (Promega); Mx 3005P™ (Stratagene); NucliSENS®, easyMag® (bioMérieux); Rotor-Gene®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN); VERSANT® (Siemens Healthcare).

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
















Il RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 è un kit diagnostico marcato CE secondo la direttiva diagnostica *in vitro* europea 98/79/CE.

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

Non disponibile in tutti i Paesi.

© 2017 altona Diagnostics GmbH; tutti i diritti riservati.

17. Spiegazione dei simboli

Simbolo	Spiegazione
	Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>
	Lotto
	Colore del tappo
	Numero di catalogo
	Indice
	Numero
	Componente
	Global Trade Identification Number
	Istruzioni per l'uso
	Contiene sufficienti per "n" test / reazioni (rxns)
	Limite di temperatura
	Da usare entro
	Fornitore
	Attenzione
	Note
	Versione

Note:

always a drop ahead.

altona Diagnostics GmbH
Mörkenstr. 12
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0
fax +49 40 548 0676 10
e-mail info@altona-diagnostics.com

www.altona-diagnostics.com

