

# RIDA® GENE EAEC

**REF** PG2215



## 1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDA<sup>®</sup>GENE EAEC è un test PCR real-time multiplex per la rilevazione qualitativa diretta di *E. coli* enteroaggregante (EAEC) nei campioni di feci umane.<sup>1,2</sup> Il test PCR real-time multiplex RIDA<sup>®</sup>GENE EAEC è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi delle infezioni gastrointestinali causate da *E. coli* enteroaggregante.

## 2. Sintesi e spiegazione del test

Gli *Escherichia coli* (*E. coli*) sono batteri a bastoncello, anaerobi facoltativi, Gram-negativi, che si muovono mediante flagelli peritrichi e appartengono alla famiglia delle Enterobacteriaceae. Gli *E. coli* fanno parte della normale flora intestinale degli esseri umani e di molti animali da allevamento e sono generalmente non patogeni. Alcuni ceppi di *E. coli* sono patogeni per l'uomo attraverso l'acquisizione di alcuni fattori di virulenza (ad esempio geni codificanti per le tossine).

I sei patogeni intestinali conosciuti *E. coli*: *E. coli* enteroemorragico (EHEC), *E. coli* enteropatogeno (EPEC), *E. coli* enterotossigeno (ETEC), *E. coli* enteroinvasivo (EIEC), *E. coli* enteroaggregante (EAEC) ed *E. coli* diffusamente aderente (DAEC) possono essere differenziati in base ai fattori di virulenza.<sup>3</sup>

L'*E. coli* enteroaggregante (EAEC) è stato identificato e descritto per la prima volta nel campione di feci di un bambino Cileno, nel 1987.<sup>4</sup> La tipicità dell'EAEC è data dal fenotipo con caratteristica aderenza aggregativa (AA). Nel saggio HEp-2, gold standard in quanto ad aderenza cellulare, l'EAEC aderisce alla superficie delle cellule epiteliali in una "pila di mattoni". L'EAEC è definito come *E. coli* che non secreta enterotossine termolabili o termostabili e aderisce alle cellule HEp-2 con schema AA.<sup>5</sup> Alcuni ceppi di EAEC contengono un plasmide ad alto peso molecolare (pAA) associato ad AA, sul quale sono presenti numerosi geni di virulenza (per es. *aggR*, *aggA*, *aafA*, *agg3* e *aatA*).<sup>6,7,8</sup> Importanti geni di virulenza per la rilevazione di EAEC mediante PCR sono il gene *aatA* (gene trasportatore di proteine anti-aggregazione, indicato come CVD432 o sonda EAEC) e il gene *aggR* (gene master regolatore dei geni EAEC plasmidici di virulenza).<sup>8,9,10,11</sup> I ceppi EAEC che contengono pAA vengono considerati come EAEC tipici, mentre quelli sprovvisti di pAA sono considerati EAEC atipici.<sup>12</sup> La più comune manifestazione clinica di infezione da EAEC è la diarrea acquosa. I sintomi clinici meno comuni sono febbre leggera, nausea, vomito, dolore addominale, sangue fecale, muco o leucociti. L'incubazione rientra nell'intervallo 8 - 18 ore. Uno studio volontario con inoculo di 10<sup>10</sup> c.f.u. di EAEC ha provocato malattia con diarrea. A causa della elevata dose infettiva necessaria, si suggerisce che la trasmissione di EAEC avvenga per via oro-fecale, tramite ingerimento di cibo o acqua.

L'EAEC è causa di diarrea acuta e cronica (> 14 giorni) tra bambini, adulti e persone con HIV, sia nei Paesi industrializzati che nei Paesi in via di sviluppo.<sup>8</sup>

È la seconda causa più comune di diarrea dopo l'ETEC tra i viaggiatori nei Paesi in via di sviluppo, come per esempio Messico, India e Giamaica.<sup>13</sup> Epidemie di diarrea

EHEC sono state collegate al consumo di cibo contaminato.<sup>14</sup> L'EAEC è stato isolato nell'intervallo 2% - 68% dei pazienti con diarrea e nell'intervallo 0% - 15% dei controlli in India, Sud America, Europa e Medio Oriente.<sup>13</sup> In una meta-analisi degli studi pubblicati, l'EAEC è stato causa di diarrea acuta in una mediana del 15% per bambini che vivono in Paesi in via di sviluppo e del 4% per bambini che vivono in Paesi industrializzati.<sup>15</sup> L'EAEC è stato isolato dal 2% dei pazienti pediatrici con diarrea in Germania, rispetto a nessun isolamento nei controlli sani.<sup>12</sup> In Svizzera, l'EAEC è stato isolato nel 10,2% dei bambini con diarrea, rispetto al 2,2% nei bambini senza diarrea. Negli Stati Uniti, l'EAEC è stato isolato nel 4,5% dei pazienti, rispetto all'1,7% dei controlli.<sup>16</sup>

### 3. Principio del test

RIDA<sup>®</sup>GENE EAEC è un test PCR real-time multiplex per la rilevazione qualitativa diretta di *E. coli* enteroaggregante (EAEC).

Dopo l'isolamento del DNA, viene eseguita l'amplificazione dei frammenti genetici specifici per EAEC (aat, aggR, se presenti). I target amplificati vengono rivelati con sonde a idrolisi marcate su un'estremità con un quencher e sull'altra con un colorante fluorescente (fluoroforo). In presenza di un target, le sonde ibridano con gli ampliconi. Durante la fase di estensione, la **Taq-Polymerase** rompe la prossimità fra rivelatore (reporter) e attenuatore (quencher). Il reporter emette un segnale fluorescente che viene rivelato dall'unità ottica dello strumento di PCR real-time. Il segnale di fluorescenza aumenta con la quantità di ampliconi formati. Il test RIDA<sup>®</sup>GENE EAEC contiene un **Internal Control DNA** (ICD) quale controllo interno della procedura di preparazione del campione e per determinare la 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	Taq-Polymerase	1x	80 µl	rosso
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	arancione
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 in ambiente freddo, in modo appropriato (2 - 8 °C).

## 6. Reagenti aggiuntivi e dispositivi necessari

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

**Tab. 2:** Attrezzatura necessaria

Piattaforme di estrazione	
R-Biopharm	RIDA <sup>®</sup> Xtract
Promega	Maxwell <sup>®</sup> RSC
bioMérieux	NucliSENS <sup>®</sup> easyMAG <sup>®</sup>
Strumenti per la PCR real-time	
Roche	LightCycler <sup>®</sup> 2.0, LightCycler <sup>®</sup> 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96 <sup>™</sup>
QIAGEN	Rotor-Gene Q

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

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

- RIDA<sup>®</sup> GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) per l'utilizzo con LightCycler<sup>®</sup> 480II

- RIDA<sup>®</sup> GENE Color Compensation Kit II (PG0002) per l'utilizzo con LightCycler<sup>®</sup> LC2.0

- Materiali di consumo per PCR real-time (piastre, provette, fogli)

- Centrifuga con rotore per cuvette di reazione

- Agitatore a vortice

- Pipette (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)

- Puntali con filtro

- Guanti monouso senza talco

- Acqua per PCR (grado bioscientifico, priva di nucleasi)

## 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](http://www.r-biopharm.com).

## 8. Raccolta e conservazione di campioni

### 8.1 Preparazione del campione da campioni fecali

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

Il test RIDA<sup>®</sup> GENE EAEC contiene un Internal Control DNA che rivela l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia sufficiente. L' Internal Control DNA può essere utilizzato come controllo dell'inibizione della PCR o come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR.

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

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

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

## 9. Esecuzione del test

### 9.1 Preparazione della Master Mix

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

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

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

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

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

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

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

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

## 9.2 Preparazione della PCR Mix

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

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

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

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

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

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

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

## 9.3 Impostazione dello strumento per PCR

### 9.3.1 Profilo PCR real-time per DNA

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

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

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

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

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

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

### 9.3.2 Profilo PCR real-time universale

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

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

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

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

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

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

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

## 9.4 Impostazione del canale di rivelazione

Tab. 9: Selezione dei canali di rivelazione appropriati

Strumento per la PCR real-time	Rivelazione	Canale di rivelazione	Avvertenze
Roche LightCycler® 2.0	EAEC	530	RIDA® GENE Color Compensation Kit II (PG0002) necessario
	ICD	560	
Roche LightCycler® 480II	EAEC	465/510	RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) necessario
	ICD	533/580	
Agilent Techn. Mx3005P	EAEC	FAM	Controllare che non vi sia colorante di riferimento
	ICD	HEX	
ABI 7500	EAEC	FAM	Controllare che l'opzione di riferimento passivo ROX sia impostata su nessuno
	ICD	VIC	
Bio-Rad CFX96™	EAEC	FAM	-
	ICD	VIC	
Qiagen Rotor-Gene Q	EAEC	Verde	Le impostazioni di amplificazione devono essere regolate su 5, in base alle impostazioni predefinite
	ICD	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 10, Fig. 1).

Il **Positive Control** ha una concentrazione di  $10^3$  copie/ $\mu$ l per stx1, stx2 ed eae.. In ogni ciclo di PCR viene usato in una quantità totale di  $5 \times 10^3$  copie.

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

Campione	Risultato del test	Ct ICD	Ct Target
Controllo positivo	Positivo	NA <sup>*1</sup>	Vedere certificato di garanzia di qualità
Controllo negativo	Negativo	Ct > 20	0

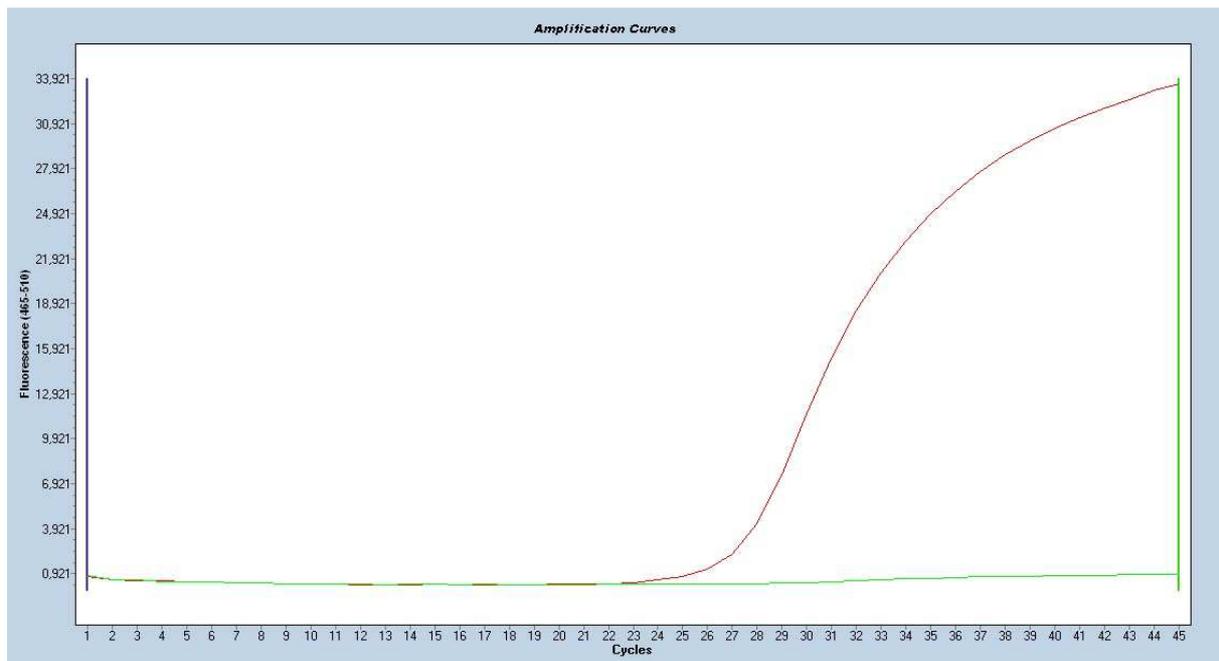
<sup>\*1</sup> Per ottenere un risultato positivo del controllo positivo non occorre un valore Ct per l'ICD.

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

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

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

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



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

## 11. Interpretazione del risultato

Il risultato viene interpretato in base alla Tabella 11.

**Tab.11:** Interpretazione del campione

Geni del fattore di virulenza		
aat/aggR	ICD	Risultato
positivo	positivo/negativo	EAEC rilevato
negativo	positivo	Geni target non rivelati
negativo	negativo	Non valido

L'EAEC è comprovabile se sia il DNA del campione sia l' **Internal Control DNA** mostrano un segnale di amplificazione nel sistema di rivelazione.

L'EAEC è inoltre comprovabile se il DNA del campione mostra un segnale di amplificazione, ma nessun segnale per l' **Internal Control DNA** nel sistema di rivelazione. La rivelazione del controllo di amplificazione interno non è necessaria, in quanto elevate concentrazioni dell'amplicone possono far sì che il segnale dell' **Internal Control DNA** sia debole o assente.

L'EAEC non è comprovabile se il DNA del campione non mostra alcun segnale di amplificazione ma è presente un segnale di amplificazione per l' **Internal Control DNA** nel sistema di rivelazione. La rivelazione dell' **Internal Control DNA** esclude l'inibizione della reazione di PCR.

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

## 12. Limiti del metodo

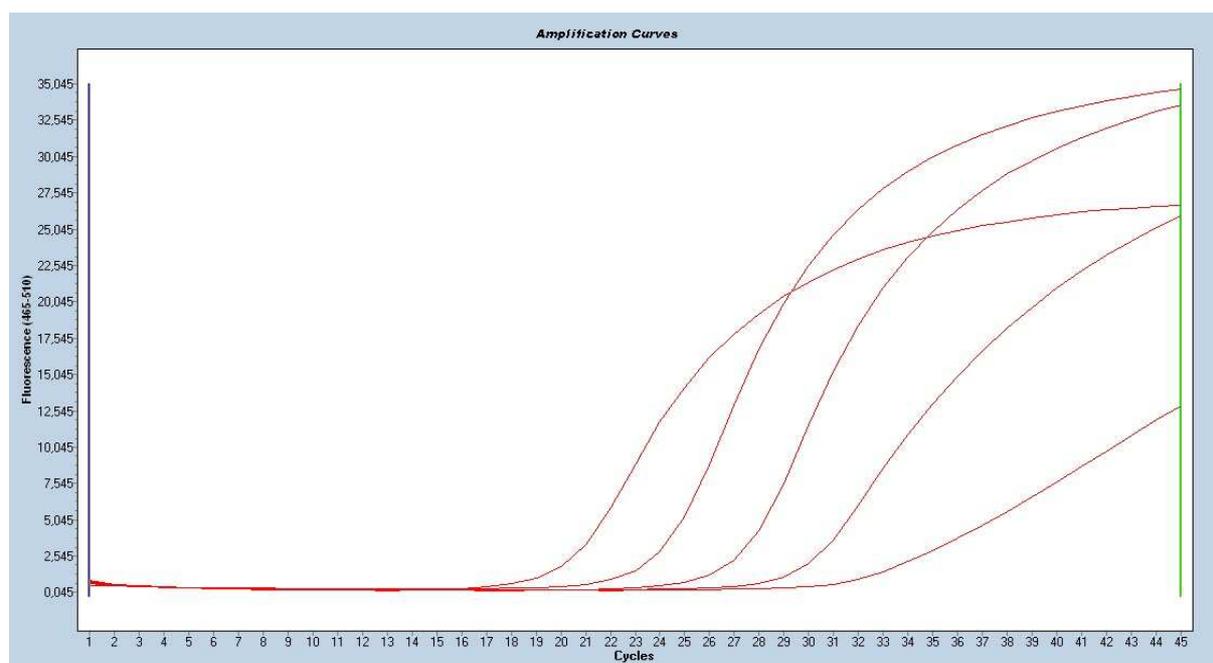
1. Il risultato dell'analisi molecolare non deve condurre alla diagnosi, ma deve essere sempre considerato nel contesto dell'anamnesi medica e dei sintomi del paziente.
2. Questo test è convalidato solo per campioni di feci.
3. Procedure errate di raccolta, trasporto, conservazione e trattamento dei 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 rilevazione di nuove varianti e causare un risultato falso negativo con il test RIDA<sup>®</sup> GENE EAEC.
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 dei geni target (aatA, aggR).

## 13. Prestazioni e caratteristiche

### 13.1 Sensibilità analitica

Il test RIDA® GENE EAEC di PCR real-time multiplex ha un limite di rivelazione maggiore o uguale a 10 copie di DNA per reazione.

La figura 2 seguente mostra una serie di diluizioni aat/aggR ( $10^5$  -  $10^1$  copie di DNA per  $\mu$ l) sul LightCycler® 480II.



**Fig. 2:** Serie di diluizioni EAEC ( $10^5$  –  $10^1$  copie di DNA per  $\mu$ l) sul LightCycler® 480II  
Il limite di rivelabilità dell'intera procedura dipende dalla matrice del campione, dall'estrazione del DNA e dalla concentrazione del DNA.

## 13.2 Specificità analitica

Il test RIDA® GENE EAEC di PCR real-time multiplex è specifico per *E. coli* enteroaggregante. Non è stata rilevata alcuna reazione crociata per le seguenti specie (vedere Tab. 12):

**Tab. 12:** Test di reattività crociata

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

## 14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e designazione
2013-01-30	Versione di rilascio
2018-09-03	Revisione generale
2018-09-03	4. Contenuto della confezione 5. Istruzioni di conservazione 6. Reagenti aggiuntivi e dispositivi necessari 9. Esecuzione del test 10. Controllo qualità 11. Interpretazione del risultato 13. Prestazioni e caratteristiche 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

## 16. Bibliografia

1. Müller D *et al.* Identification of unconventional intestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates expressing intermediate virulence factor profiles by using a novel single-step multiplex PCR. *Appl Environ Microbiol* 2007, 73 (10): 3380-3390.
2. Cordeira F *et al.* Evaluation of a Multiplex PCR for Identification of Enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2008, 46 (2): 828-829.
3. Kaper JM *et al.* PATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI*. *Nature Reviews Microbiology* 2004, 2:123-140.
4. Nataro JP. Enteroaggregative *Escherichia coli* pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol* 2005, 21: 4-8.
5. Nataro JP and Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* 1998, 11(1): 142-201.
6. Law D and Chart H. Enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Appl Microbiol* 1998, 84: 685-697.
7. Vial PA *et al.* Characterization of enteroadherent-aggregative *Escherichia coli*, a putative agent of diarrheal disease. *J Infect Dis* 1988, 158: 70-79.
8. Huang DB *et al.* A review of an emerging enteric pathogen: Enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Med Microbiol* 2006, 55: 1303-1311.
9. Baudry B *et al.* A sensitive and specific DNA probe to identify enteroaggregative *Escherichia coli*, a recently discovered diarrheal pathogen. *J Infect Dis* 1990, 161: 1249-1251.
10. Schmidt H *et al.* Development of PCR for screening of enteroaggregative *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1995, 33: 701-705.
11. Nishi J *et al.* The Export of Coat Protein from Enteroaggregative *Escherichia coli* by a Specific ATP-binding Cassette Transporter System. *J Biol Chem* 2003, 278 (46): 45680-45689.
12. Weintraub A. Enteroaggregative *Escherichia coli*: epidemiology, virulence and detection. *J Med Microbiol* 2007, 56: 4-8.
13. Adachi JA *et al.* Enteroaggregative *Escherichia coli* as a major etiologic agent in traveler's diarrhea in 3 regions of the world. *Clin Infect Dis* 2001, 32: 1706-1709.
14. Nataro JP *et al.* Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis* 1998, 4(2): 251-261.
15. Huang DB *et al.* Enteroaggregative *Escherichia coli* is a cause of acute diarrheal illness: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2006, 43: 556-563.
16. Cennimo DJ *et al.* Enteroaggregative *Escherichia coli*: A Review of Trends, Diagnosis, and Treatment. *Infect Med* 2007, 24: 100- 110.