

RIDA® GENE EAEC

REF PG2215



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDA® GENE EAEC es un ensayo de PCR multiplex en tiempo real para la detección cualitativa directa de *E. coli* enteroagregativa (ECEA) en muestras de heces humanas.^{1,2} La PCR multiplex en tiempo real de RIDA® GENE EAEC está concebida como una ayuda para el diagnóstico de la gastroenteritis causada por *E. coli* enteroagregativa.

2. Resumen y descripción del ensayo

La bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*) es un bacilo gram-negativo, anaerobio facultativo, que se mueve mediante flagelación peritrica y pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. *E. coli* forma parte de la microbiota intestinal normal de los humanos y de varios animales de granja, y por lo general no es patogénica. Algunas cepas de *E. coli* son patogénicas para los humanos mediante la adquisición de ciertos factores de virulencia (p. ej., genes de toxinas).

Las seis cepas intestinales patogénicas de *E. coli* que se conocen: *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteroagregativa (ECEA) y *E. coli* difusamente adherente (ECDA), se pueden diferenciar por los factores de virulencia.³

La *E. coli* enteroagregativa (ECEA) se identificó y se describió por primera vez en las heces de un niño de Chile en 1987.⁴ El rasgo definitorio de la ECEA es su fenotipo característico de adherencia agregativa (AA). En el ensayo de referencia de adherencia a células HEp-2, ECEA se adhiere a la superficie celular epitelial en una formación de "ladrillos apilados". La ECEA se define como una *E. coli* que no segrega enterotocinas termolábiles ni termoestables, y se adhiere a las células HEp-2 en un patrón AA.⁵ Ciertas cepas de ECEA portan un plásmido de alto peso molecular (pAA) asociado con AA, en el que se ubican varios genes de virulencia (p. ej., *aggR*, *aggA*, *aafA*, *agg3* y *aatA*).^{6,7,8} El gen *aatA* (gen transportador de proteína antiagregación, denominado CVD432 o sonda ECEA) y el gen *aggR* (regulador maestro de los genes de virulencia plásmida de ECEA) son genes de virulencia importantes para la detección de ECEA por PCR.^{8,9,10,11} Las cepas de ECEA que portan el plásmido pAA se consideran ECEA típicas, mientras que las cepas que carecen de pAA se consideran ECEA atípicas.¹² La manifestación clínica más común de la infección por ECEA es la diarrea acuosa. La fiebre baja, náuseas, vómito, dolor abdominal y presencia de sangre en las heces, mucosidad o leucocitos son síntomas clínicos relacionados menos frecuentes. La incubación oscila de 8 a 18 horas. En un estudio con voluntarios, un inóculo de 10¹⁰ UFC de ECEA causó enfermedad diarreica. La alta dosis infectiva requerida es indicativa de la transmisión fecal-oral de ECEA mediante los alimentos o el agua.

La ECEA es la causa de la diarrea aguda y crónica (> 14 días) en niños, adultos y personas infectadas con VIH, tanto en países en desarrollo como industrializados.⁸

Es la segunda causa más común de la diarrea del viajero, después de la ECET, entre los viajeros a países en desarrollo, como México, la India y Jamaica.¹³ Se ha informado de brotes de diarrea por ECEH que se han vinculado al consumo de alimentos contaminados.¹⁴ Se ha aislado ECEA del 2 % al 68 % de los pacientes con diarrea, y del 0 % al 15 % de los controles de la India, Sudamérica, Europa y Oriente Medio.¹³ En un metanálisis de estudios publicados, la ECEA fue causa de diarrea aguda en una mediana de 15 % de los niños que viven en países desarrollados y de 4 % de los niños que viven en países industrializados.¹⁵ Se aisló ECEA del 2 % de pacientes pediátricos con diarrea en Alemania, en comparación con ninguno de los controles sanos.¹² En niños suizos, se aisló ECEA del 10.2 % de los niños con diarrea, en comparación con 2.2 % de los niños sin diarrea. En EE. UU., se aisló ECEA del 4.5 % de los casos clínicos, frente al 1.7 % de los controles.¹⁶

3. Principio del ensayo

RIDA[®]GENE EAEC es un ensayo de PCR multiplex en tiempo real para la detección cualitativa directa de *E. coli* enteroagregativa (ECEA).

Después del aislamiento del ADN, ocurre la amplificación de los fragmentos de genes específicos para ECEA (aat, aggR, si están presentes). Las dianas amplificadas se detectan mediante sondas de hidrólisis, marcadas en un extremo con un extintor de fluorescencia y en el otro con un colorante fluorescente indicador (fluoróforo). En presencia de una diana, las sondas se hibridan a los amplicones. Durante el paso de extensión, la Taq-Polymerase rompe la proximidad del indicador-extintor. El indicador emite una señal fluorescente que se detecta en la unidad óptica de un equipo de PCR en tiempo real. La señal fluorescente aumenta en función de la cantidad de amplicones formados. El ensayo RIDA[®]GENE ECEA contiene un Internal Control DNA (ICD) como control interno del procedimiento de preparación de la muestra y para determinar la posible inhibición de la PCR.

4. Reactivos suministrados

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

Código del kit	Reactivo	Cantidad		Color de la tapa
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	amarillo
2	Taq-Polymerase	1x	80 µl	rojo
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	naranja
N	No Template Control	1x	450 µl	blanco
P	Positive Control	1x	200 µl	azul

5. Instrucciones de almacenamiento

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

6. Reactivos adicionales necesarios y equipo necesario

El ensayo de PCR multiplex en tiempo real RIDA® GENE ECEA es adecuado para utilizarse con las siguientes plataformas de extracción y equipos de PCR en tiempo real:

Tabla 2: Equipo necesario

Plataformas de extracción	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
bioMérieux	NucliSENS® easyMAG®
Equipos de PCR en tiempo real	
Roche	LightCycler® 2.0, LightCycler® 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Nota: Utilice únicamente tubos de 0.1 ml en el Rotor-Gene Q (QIAGEN).

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

- RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) para uso con el LightCycler® 480II
- RIDA® GENE Color Compensation Kit II (PG0002) para uso con el LightCycler® LC2.0
- Consumibles para PCR en tiempo real (placas, tubos, papel aluminio)
- Centrífuga y rotor para los viales de reacción
- Agitador de vórtex
- Pipetas (0.5 a 20 µl, 20 a 200 µl, 100 a 1000 µl)
- Puntas con filtro
- Guantes desechables sin talco
- Agua para PCR (agua de grado BioScience, sin nucleasas)

7. Precauciones para los usuarios

Para el diagnóstico *in vitro*.

Este ensayo solo debe llevarlo a cabo personal de laboratorio capacitado. Respete las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Siga las indicaciones del manual de instrucciones para la ejecución de la prueba. No pipetee muestras ni reactivos con la boca. Evite el contacto con piel herida o mucosas. Durante la manipulación de reactivos o muestras, lleve ropa de seguridad adecuada (guantes apropiados, bata de laboratorio, gafas protectoras) y lávese las manos al finalizar la ejecución de la prueba. No fume, coma ni beba en las zonas en las que se estén utilizando las muestras o los reactivos.

- La extracción, la preparación de la PCR y la PCR propiamente dicha deben llevarse a cabo en diferentes salas para evitar la contaminación cruzada.
- Las muestras deben tratarse como potencialmente infecciosas, al igual que todos los reactivos y materiales expuestos a las muestras, y deben manipularse según las normativas nacionales de seguridad.
- No utilice el kit después de la fecha de caducidad.

Todos los reactivos y materiales usados se deben eliminar correctamente después del uso. Consulte las normas nacionales pertinentes para la eliminación.

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

8. Obtención y almacenamiento de muestras

8.1 Preparación de las muestras a partir de muestras de heces

Para el aislamiento del ADN a partir de muestras de heces humanas, use un kit de aislamiento de ADN (como RIDA[®] Xtract [R-Biopharm]) o un sistema de extracción de ADN (p. ej., Maxwell[®] RSC [Promega]) disponibles en el mercado. Extraiga el ADN siguiendo las instrucciones del fabricante.

Se recomienda diluir las muestras de heces 1:3 con agua antes de la extracción. Agite intensamente en un mezclador vórtex la muestra de heces diluida y centrifúguela a 1000 x g durante 30 segundos. Use el volumen adecuado de sobrenadante según las instrucciones del fabricante.

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

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

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

9. Ejecución de la prueba

9.1 Preparación de la mezcla maestra

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

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

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

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

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

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

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

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

9.2 Preparación de la mezcla de PCR

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

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

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

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

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

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

Tape los tubos o la placa. Centrifúguelos y colóquelos en el equipo de PCR en tiempo real. La reacción de PCR debe iniciarse según la configuración del equipo de PCR (consulte las tablas 5, 6, 7 y 8).

9.3 Configuración del equipo de PCR

9.3.1 Perfil de ADN por PCR en tiempo real

Tabla 5: Perfil de ADN por PCR en tiempo real para los equipos serie LightCycler® y Rotor-Gene Q

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

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

Tabla 6: Perfil de ADN por PCR en tiempo real en el Mx3005P, ABI7500 y CFX96™

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

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

9.3.2 Perfil universal por PCR en tiempo real

Nota: El perfil universal por PCR en tiempo real se debe usar en los ensayos de ADN solo cuando se combinan en una corrida los ensayos de ADN y ARN RIDA®GENE por PCR en tiempo real.

Tabla 7: Perfil universal por PCR en tiempo real en el equipo LightCycler®

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

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

Tabla 8: Perfil universal por PCR en tiempo real en el Mx3005P, ABI7500, CFX96™ y Rotor-Gene Q

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

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

9.4 Configuración del canal de detección

Tabla 9: Selección de los canales de detección adecuados

Equipo de PCR en tiempo real	Detección	Canal de detección	Nota
Roche LightCycler® 2.0	ECEA	530	Se requiere el RIDA® GENE Color Compensation Se requiere el Kit II (PG0002)
	ICD	560	
Roche LightCycler® 480II	ECEA	465/510	Se requiere el RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICD	533/580	
Agilent Techn. Mx3005P	ECEA	FAM	Compruebe que el colorante de referencia sea «none» (ninguno).
	ICD	HEX	
ABI 7500	ECEA	FAM	Compruebe que la opción de referencia pasiva ROX sea «none» (ninguna).
	ICD	VIC	
Bio-Rad CFX96™	ECEA	FAM	-
	ICD	VIC	
Qiagen Rotor-Gene Q	ECEA	Verde	La ganancia debe configurarse en 5, según la configuración predeterminada.
	ICD	Amarillo	

10. Control de calidad

El software del equipo de PCR en tiempo real usado analiza las muestras según las instrucciones del fabricante. Los controles positivo y negativo deben mostrar los resultados correctos (consulte la tabla 10, figura 1) para determinar que un ensayo es válido.

El **Positive Control** tiene una concentración de 10^3 copias/ μ l en stx1, stx2 y eae. En cada ensayo de PCR, se utiliza una cantidad total de 5×10^3 copias.

Tabla 10: Para que un ensayo sea válido, deben cumplirse las siguientes condiciones:

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

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

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

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

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

- Fecha de caducidad de los reactivos usados
- Funcionalidad de los equipos utilizados
- Ejecución correcta de la prueba

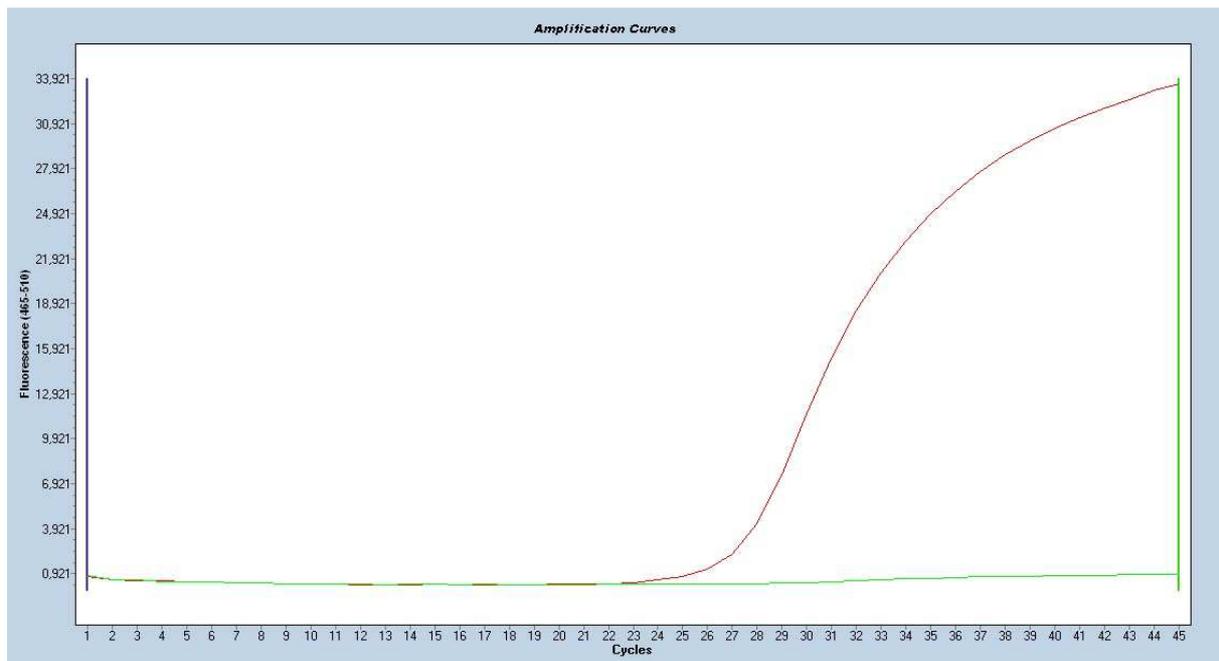


Fig.1: Procesamiento correcto de los controles positivo y negativo (ECEA) en el LightCycler® 480II

11. Interpretación de los resultados

La interpretación de los resultados se lleva a cabo según la tabla 11.

Tabla 11: Interpretación de las muestras

Genes del factor de virulencia		
aat/aggR	ICD	Resultado
positivo	positivo/negativo	ECEA detectada
negativo	positivo	Genes diana no detectados
negativo	negativo	No válido

Se detecta ECEA si el ADN de la muestra y el **Internal Control DNA** muestran una señal de amplificación en el sistema de detección.

También se detecta ECEA si hay señal de amplificación del ADN de la muestra, pero no del **Internal Control DNA** en el sistema de detección. La detección del control de amplificación interno no es necesaria debido a que las altas concentraciones del amplicón pueden hacer que la señal del **Internal Control DNA** sea débil o esté ausente.

ECEA no se detecta si no hay señal de amplificación del ADN de la muestra, pero hay señal de amplificación del **Internal Control DNA** en el sistema de detección. La inhibición de la reacción de PCR se puede excluir por la detección del **Internal Control DNA**.

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

12. Limitaciones del método

1. El resultado del análisis molecular no debe dar lugar a un diagnóstico, sino considerarse siempre en el contexto del historial médico y los síntomas del paciente.
2. Este ensayo solo está validado para muestras de heces.
3. La obtención, transporte, almacenamiento y procesamiento incorrectos de la muestra, o una carga de patógenos en la muestra inferior a la sensibilidad analítica pueden dar lugar a resultados negativos falsos.
4. La presencia de inhibidores de la PCR puede ocasionar resultados no válidos.
5. Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión del cebador o la sonda pueden afectar la detección de nuevas variantes y producir un resultado negativo falso con el ensayo RIDA[®]GENE EAEC.
6. Como ocurre con todos los ensayos diagnósticos de PCR *in vitro*, podría detectarse un nivel sumamente bajo de la diana, por debajo del límite de detección (LoD), pero los resultados podrían no ser reproducibles.
7. Un resultado positivo del ensayo no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. No obstante, un resultado positivo indica la presencia de los genes diana (aatA, aggR).

13. Características de rendimiento

13.1 Sensibilidad analítica

El ensayo multiplex de PCR en tiempo real RIDA® GENE EAEC tiene un límite de detección de ≥ 10 copias de ADN por reacción.

En la figura 2 se muestra una dilución seriada de *aat/aggR* (10^5 - 10^1 copias de ADN por μl) en el LightCycler® 480II.

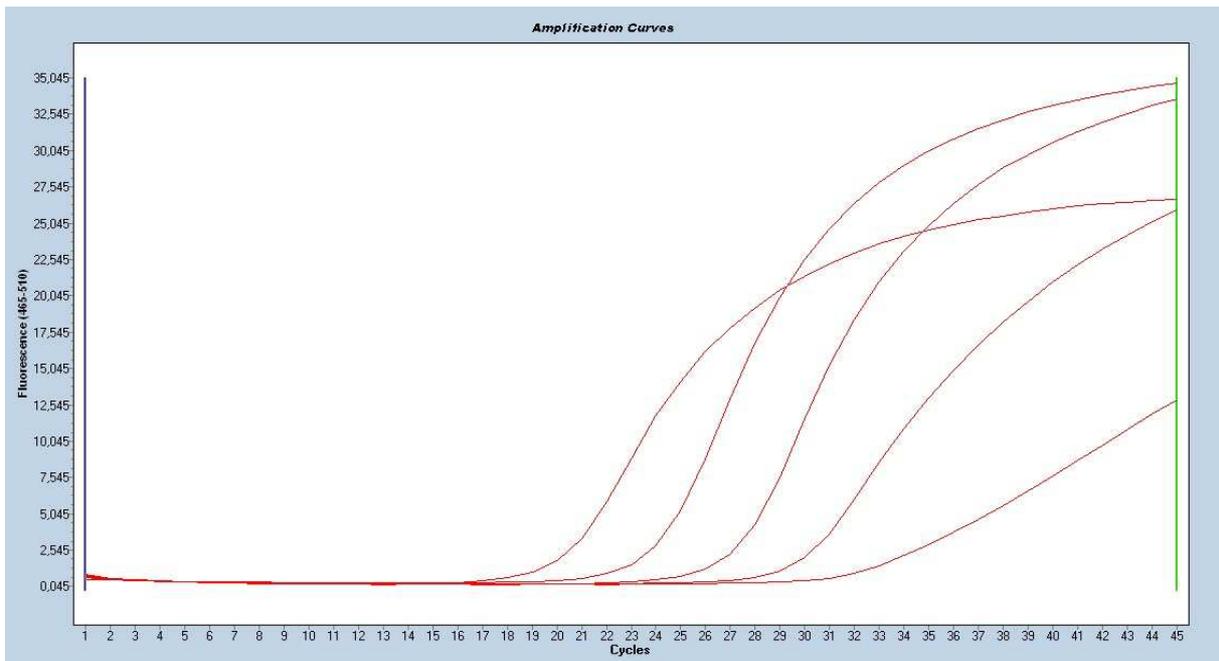


Fig. 2: Dilución seriada de ECEA (10^5 a 10^1 copias de ADN por μl) en el LightCycler® 480II

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

13.2 Especificidad analítica

El ensayo de PCR multiplex en tiempo real RIDA®GENE EAEC es específico para la *E. coli* enteroagregativa. No se detectaron reacciones cruzadas con las siguientes especies (consulte la tabla 12):

Tabla 12: Ensayos de reactividad cruzada

Adenovirus 1, humano, cepa Adenoid 71	-	<i>Campylobacter lari</i> subespecie <i>lari</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	Norovirus GG II	-
Adenovirus 7, humano, cepa Gomen	-	<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
Adenovirus 40, humano, cepa Dugan	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Adenovirus 41, humano, cepa 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 clon 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. Historial de versiones

Número de versión	Capítulo y designación
2013-01-30	Versión de lanzamiento
2018-09-03	Revisión general
2018-09-03	4. Reactivos suministrados 5. Instrucciones de almacenamiento 6. Reactivos adicionales necesarios y equipo necesario 9. Ejecución de la prueba 10. Control de calidad 11. Interpretación de los resultados 13. Características de rendimiento 14. Historial de versiones 15. Explicación de los símbolos

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso.*
	Número de lote
	Caducidad
	Almacene a
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos del ensayo

16. Bibliografía

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.