

RIDA® GENE EAEC

REF PG2215



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. RIDA[®]GENE EAEC est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe de *E. coli* entéro-agrégatif (ECEA) dans les échantillons de selles humaines^{1,2}. Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA[®]GENE EAEC est destiné à faciliter le diagnostic des gastro-entérites provoquées par *E. coli* entéro-agrégatif.

2. Résumé et explication du test

Les bactéries *Escherichia coli* (*E. coli*) sont des bactéries à Gram négatif et facultativement anaérobies en forme de bâtonnet qui se déplacent par flagellation péritriche. Elles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Les *E. coli* font normalement partie de la flore intestinale des humains et de nombreux animaux d'élevage. Ils ne sont généralement pas pathogènes. Certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes pour les humains par acquisition de certains facteurs de virulence (par ex., des gènes codant pour des toxines).

Les six agents pathogènes connus de *E. coli* dans l'intestin sont : *E. coli* entérohémorragique (ECEH), *E. coli* entéropathogène (ECEP), *E. coli* entérotoxigène (ECET), *E. coli* entéro-invasif (ECEI), *E. coli* entéro-agrégatif (ECEA) et *E. coli* à adhésion diffuse (ECAD) et ils peuvent être différenciés par les facteurs de virulence³.

Les *E. coli* entéro-agrégatifs (ECEA) ont été les premiers à être identifiés et décrits dans les selles d'un enfant au Chili en 1987⁴. Le trait distinctif d'un ECEA est son phénotype d'adhésion agrégative (AA) caractéristique. Dans le test d'adhésion aux cellules Hep-2 défini comme norme, les ECEA adhèrent à la surface des cellules épithéliales en formant des ensembles de « briques empilées ». Les ECEA sont définis comme des *E. coli* qui ne sécrètent pas d'entérotoxines thermolabiles ou thermostables et qui adhèrent aux cellules HEp-2 en formant un motif AA⁵. Certaines souches d'ECEA portent un plasmide de poids moléculaire élevé (pAA) associé à l'AA, porteur de plusieurs gènes de virulence (par ex., *aggR*, *aggA*, *aafA*, *agg3* et *aatA*)^{6,7,8}. Les gènes de virulence importants pour la détection de l'ECEA par PCR sont le gène *aatA* (gène du transporteur de la protéine d'anti-agrégation, appelé amorce CVD432 ou ECEA) et le gène *aggR* (régulateur maître des gènes du plasmide de virulence de l'ECEA)^{8,9,10,11}. Les souches d'ECEA qui portent le plasmide pAA sont considérées comme des ECEA typiques, tandis que les souches qui en sont dépourvues sont considérées comme des ECEA atypiques¹². La manifestation clinique la plus courante d'une infection par ECEA est la diarrhée liquide. Des symptômes cliniques associés moins courants sont : légère fièvre, nausées, vomissements, douleur abdominale et présence de sang, de mucus ou de leucocytes dans les selles. L'incubation dure de 8 à 18 h. Dans une étude volontaire, l'inoculation de 10¹⁰ ufc d'ECEA a provoqué un syndrome diarrhéique. L'ampleur de la dose infectieuse requise laisse envisager une transmission de l'ECEA par des aliments ou l'eau, par voie oro-fécale.

L'ECEA provoque une diarrhée aiguë et chronique (> 14 jours) chez les enfants, les adultes, et les personnes infectées par le VIH, aussi bien dans les pays en développement que dans les pays industrialisés⁸.

Il s'agit de la deuxième cause la plus courante de diarrhée du voyageur après l'ECET chez les personnes voyageant vers les pays en développement, comme le Mexique, l'Inde et la Jamaïque¹³. Des épidémies de diarrhée à ECEH signalées ont été associées à la consommation d'aliments contaminés¹⁴. L'ECEA a été isolé chez 2 à 68 % des patients atteints de diarrhée et 0 à 15 % des contrôles en Inde, Amérique du Sud, Europe et au Moyen-Orient¹³. Dans une méta-analyse d'études publiées, l'ECEA provoquait une diarrhée aiguë chez 15 % en moyenne des enfants vivant dans des pays en développement et 4 % des enfants vivant dans les pays industrialisés¹⁵. Des ECEA ont été isolés chez 2 % des patients pédiatriques atteints de diarrhée en Allemagne contre 0 % dans les contrôles sains¹². En Suisse, l'ECEA a été isolé chez 10,2 % des enfants atteints de diarrhée contre 2,2 % des enfants sans diarrhée. Aux États-Unis, l'ECEA a été isolé chez 4,5 % des patients contre 1,7 % dans les contrôles¹⁶.

3. Principe du test

Le test RIDA[®]GENE EAEC est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe de *E. coli* entéro-agrégatif (ECEA).

Après isolation de l'ADN survient l'amplification des fragments de gène spécifiques à l'ECEA (aat, aggR, si présents). Les cibles amplifiées sont détectées grâce à des sondes pour hydrolyse qui sont marquées à une extrémité par un extincteur et à l'autre extrémité par un colorant fluorescent indicateur (fluorophore). En présence d'une cible, les sondes s'hybrident aux amplicons. Pendant l'étape d'extension, la **Taq-Polymerase** rompt la proximité indicateur-extincteur. L'indicateur émet un signal de fluorescence qui est détecté par l'unité optique d'un instrument de PCR en temps réel. Le signal de fluorescence augmente avec le nombre d'amplicons formés. Le test RIDA[®]GENE EAEC contient un **Internal Control DNA** (ICD) en tant que contrôle interne de la procédure de préparation des échantillons et pour déterminer une éventuelle inhibition de la PCR.

4. Contenu du paquet

Tableau 1 : Contenu du paquet (les réactifs fournis dans le kit permettent de réaliser 100 déterminations)

| Code du kit | Réactif | Quantité | | Couleur du couvercle |
|-------------|----------------------|----------|---------|----------------------|
| 1 | Reaction Mix | 2x | 1050 µl | jaune |
| 2 | Taq-Polymerase | 1x | 80 µl | rouge |
| D | Internal Control DNA | 2x | 1700 µl | orange |
| N | No Template Control | 1x | 450 µl | blanc |
| P | Positive Control | 1x | 200 µl | bleu |

5. Instructions de conservation des réactifs

- Protéger tous les réactifs de la lumière et les conserver à -20 °C. Tous les réactifs peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.
- Décongeler délicatement tous les réactifs avant de les utiliser (par ex., dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C).
- Les réactifs peuvent supporter jusqu'à 20 cycles de congélation/décongélation sans que la performance du test ne soit affectée (par ex., après la première décongélation, séparer les réactifs en aliquotes et les congeler immédiatement).
- Pendant la préparation de la PCR, tous les réactifs doivent être conservés au frais de manière convenable (entre 2 et 8 °C).

6. Autres réactifs et matériel nécessaires

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA[®]GENE EAEC peut être utilisé avec les plateformes d'extraction et les instruments de PCR en temps réel suivants :

Tableau 2 : Matériel nécessaire

| Plateformes d'extraction | |
|----------------------------------|--|
| R-Biopharm | RIDA [®] Xtract |
| Promega | Maxwell [®] RSC |
| bioMérieux | NucliSENS [®] easyMAG [®] |
| Instruments de PCR en temps réel | |
| Roche | LightCycler [®] 2.0, LightCycler [®] 480II |
| Agilent Technologies | Mx3005P |
| Applied Biosystems | ABI 7500 |
| Bio-Rad | CFX96 [™] |
| QIAGEN | Rotor-Gene Q |

Remarque : utiliser uniquement des tubes de 0,1 ml sur le Rotor-Gene Q (QIAGEN).

Si vous souhaitez utiliser d'autres plateformes d'extraction ou instruments de PCR en temps réel, contactez R-Biopharm à l'adresse mdx@r-biopharm.de.

- RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) pour une utilisation avec l'appareil LightCycler[®] 480II
- RIDA[®]GENE Color Compensation Kit II (PG0002) pour une utilisation avec l'appareil LightCycler[®] LC2.0
- Consommables de PCR en temps réel (plaques, tubes, feuilles)
- Centrifugeuse avec rotor pour les flacons de réaction
- Agitateur-mélangeur vortex
- Pipettes (0,5 à 20 µl, 20 à 200 µl, 100 à 1 000 µl)
- Pointes à filtre
- Gants jetables non poudrés
- Eau de PCR (qualité BioScience, sans nucléase)

7. Mesures de précaution

Pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Suivre le manuel d'instructions pour la réalisation du test. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec une peau meurtrie ou les membranes muqueuses. Lors de la manipulation de réactifs ou d'échantillons, porter des vêtements de protection appropriés (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue de la réalisation du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons ou des réactifs sont utilisés.

- L'extraction, la préparation de la PCR et l'exécution de la PCR doivent être menées dans des salles différentes afin d'éviter toute contamination croisée.
- Les échantillons doivent être traités comme du matériel potentiellement infectieux de même que tous les réactifs et le matériel exposés aux échantillons. Ils doivent être manipulés conformément aux règlements nationaux en matière de sécurité.
- Ne pas utiliser le kit après sa date de péremption.

Après utilisation, tous les réactifs et matériaux utilisés doivent être éliminés de façon appropriée. Veuillez vous conformer aux règlements nationaux applicables concernant la mise au rebut.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

8.1 Préparation de l'échantillon à partir d'échantillons de selles

Pour isoler l'ADN des échantillons de selles humaines, utiliser un kit d'isolation d'ADN (par ex., RIDA[®] Xtract [R-Biopharm]) ou un système d'extraction d'ADN (par ex., Maxwell[®] RSC [Promega]) disponible dans le commerce. Extraire l'ADN conformément aux instructions du fabricant.

Il convient de diluer les échantillons de selles avant extraction avec de l'eau selon un rapport de 1/3. Agiter fortement l'échantillon de selles dilué et le centrifuger à 1 000 x g pendant 30 s. Utiliser le volume adéquat du surnageant conformément aux instructions du fabricant.

Le test RIDA[®] GENE EAEC inclut un Internal Control DNA qui détecte l'inhibition de la PCR, surveille l'intégrité du réactif et confirme que l'extraction d'acides nucléiques a été suffisante. L'ADN de contrôle interne Internal Control DNA peut être utilisé comme contrôle de l'inhibition de la PCR ou comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et en tant que contrôle de l'inhibition de la PCR.

Si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange maître (voir tableau 4).

Si le **Internal Control DNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon **et** comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'ajouter 20 µl de **Internal Control DNA** pendant la procédure d'extraction. Le **Internal Control DNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il est aussi recommandé d'ajouter 1 µl de **Internal Control DNA** au mélange de contrôle négatif et contrôle positif de la PCR.

9. Réalisation du test

9.1 Préparation du mélange maître

Calculer le nombre total de réactions de PCR (réactions de l'échantillon et réactions de contrôle) nécessaires. Il faut inclure un contrôle positif et un contrôle négatif dans chaque exécution du test.

Nous recommandons de calculer un volume supplémentaire de 10 % pour compenser l'imprécision du pipetage (voir tableaux 3, 4). Décongeler, mélanger délicatement et centrifuger brièvement le **Reaction Mix**, la **Taq-Polymerase**, le **Positive Control**, le **No Template Control** et le **Internal Control DNA** avant utilisation. Conserver les réactifs à une température assez basse durant l'étape de travail (entre 2 et 8 °C).

Tableau 3 : Calcul et exemple de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICD comme contrôle de l'extraction et de l'inhibition de la PCR)

| Code du kit | Composants du mélange maître | Volume par réaction | 10 réactions (10 % de plus) |
|-------------|------------------------------|---------------------|-----------------------------|
| 1 | Reaction Mix | 19,3 µl | 212,3 µl |
| 2 | Taq-Polymerase | 0,7 µl | 7,7 µl |
| | Total | 20 µl | 220 µl |

Mélanger les composants du mélange maître et les centrifuger brièvement.

Tableau 4 : Calcul et exemple de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICD uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR)

| Code du kit | Composants du mélange maître | Volume par réaction | 10 réactions (10 % de plus) |
|-------------|------------------------------|---------------------|-----------------------------|
| 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 |

Mélanger les composants du mélange maître et les centrifuger brièvement.

9.2 Préparation du mélange pour la PCR

Pipeter 20 µl du mélange maître dans chaque flacon de réaction (tube ou plaque).

Contrôle négatif : Ajouter 5 µl de **No Template Control** au mélange maître pré-pipeté.

Remarque : si le **Internal Control DNA** est utilisé à la fois comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle négatif pour la PCR.

Échantillon : Ajouter 5 µl d'extrait d'ADN au mélange maître pré-pipeté.

Contrôle positif : Ajouter 5 µl de **Positive Control** au mélange maître pré-pipeté.

Remarque : si le **Internal Control DNA** est utilisé à la fois comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle positif pour la PCR.

Recouvrir les tubes ou la plaque. Les centrifuger et les placer dans l'instrument de PCR en temps réel. La réaction de PCR devrait commencer conformément à la configuration de l'instrument de PCR (voir tableaux 5, 6, 7 et 8).

9.3 Configuration de l'instrument de PCR

9.3.1 Profil de PCR en temps réel de l'ADN

Tableau 5 : Profil de PCR en temps réel de l'ADN pour la série LightCycler® et Rotor-Gene Q

| | |
|---|--------------|
| Dénaturation initiale | 1 min, 95 °C |
| Cycles | 45 cycles |
| <u>PCR</u> Dénaturation | 10 s, 95 °C |
| Hybridation/extension | 15 s, 60 °C |
| Vitesse de transition de température / Vitesse de montée | Maximale |

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Tableau 6 : Profil de PCR en temps réel de l'ADN pour Mx3005P, ABI7500, CFX96™

| | |
|---|--------------|
| Dénaturation initiale | 1 min, 95 °C |
| Cycles | 45 cycles |
| <u>PCR</u> Dénaturation | 15 s, 95 °C |
| Hybridation/extension | 30 s, 60 °C |
| Vitesse de transition de température / Vitesse de montée | Maximale |

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

9.3.2 Profil universel de PCR en temps réel

Remarque : le profil universel de PCR en temps réel doit seulement être utilisé pour les tests d'ADN si les tests PCR en temps réel RIDA® GENE DNA et ARN sont effectués lors d'une même exécution.

Tableau 7 : Profil universel de PCR en temps réel pour la série LightCycler®

| | |
|---|---------------|
| <u>Transcription inverse</u> | 10 min, 58 °C |
| Dénaturation initiale | 1 min, 95 °C |
| Cycles | 45 cycles |
| <u>PCR</u> Dénaturation | 10 s, 95 °C |
| Hybridation/extension | 15 s, 60 °C |
| Vitesse de transition de température / Vitesse de montée | Maximale |

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Tableau 8 : Profil universel de PCR en temps réel pour Mx3005P, ABI7500, CFX96™ et Rotor-Gene Q

| | |
|---|---------------|
| <u>Transcription inverse</u> | 10 min, 58 °C |
| Dénaturation initiale | 1 min, 95 °C |
| Cycles | 45 cycles |
| <u>PCR</u> Dénaturation | 15 s, 95 °C |
| Hybridation/extension | 30 s, 60 °C |
| Vitesse de transition de température / Vitesse de montée | Maximale |

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

9.4 Configuration du canal de détection

Tableau 9 : Sélection des canaux de détection adéquats

| Instrument de PCR en temps réel | Détection | Canal de détection | Remarque |
|---------------------------------|-----------|--------------------|--|
| Roche LightCycler® 2.0 | EAEC | 530 | Le RIDA® GENE Color Compensation Kit II (PG0002) est nécessaire |
| | ICD | 560 | |
| Roche LightCycler® 480II | EAEC | 465/510 | Le RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire |
| | ICD | 533/580 | |
| Agilent Techn. Mx3005P | EAEC | FAM | Vérifier que le colorant de référence n'est pas précisé |
| | ICD | HEX | |
| ABI 7500 | EAEC | FAM | Vérifier que l'option de référence passive ROX n'est pas sélectionnée |
| | ICD | VIC | |
| Bio-Rad CFX96™ | EAEC | FAM | - |
| | ICD | VIC | |
| Qiagen Rotor-Gene Q | EAEC | Vert | Les paramètres de gain doivent être réglés sur 5, conformément aux paramètres par défaut |
| | ICD | Jaune | |

10. Contrôle qualité

L'analyse des échantillons est effectuée par le logiciel de l'instrument de PCR en temps réel utilisé conformément aux instructions du fabricant. Le contrôle positif et le contrôle négatif doivent afficher des résultats corrects (voir tableau 10, figure 1) afin de déterminer qu'une série est valide.

Le Positive Control a une concentration de 10^3 copies/ μ l pour stx1, stx2 et eae. Chaque série de PCR utilise au total 5×10^3 copies de contrôle positif.

Tableau 10 : Pour que l'exécution soit valide, les conditions suivantes doivent être satisfaites :

| Échantillon | Résultat du test | Ct ICD | Ct cible |
|------------------|------------------|--------------------|-------------------------------------|
| Contrôle positif | Positif | S/O * ¹ | Voir Certificat d'assurance qualité |
| Contrôle négatif | Négatif | Ct > 20 | 0 |

*¹ Aucune valeur de Ct n'est requise pour que le résultat de l'ICD soit positif pour le contrôle positif.

Si le contrôle positif n'est pas positif dans la plage de Ct spécifiée, mais que le contrôle négatif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

Si le contrôle négatif n'est pas négatif, mais que le contrôle positif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

Si les critères requis ne sont pas satisfaits, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Fonctionnement de l'instrumentation utilisée
- Exécution correcte de la procédure de test

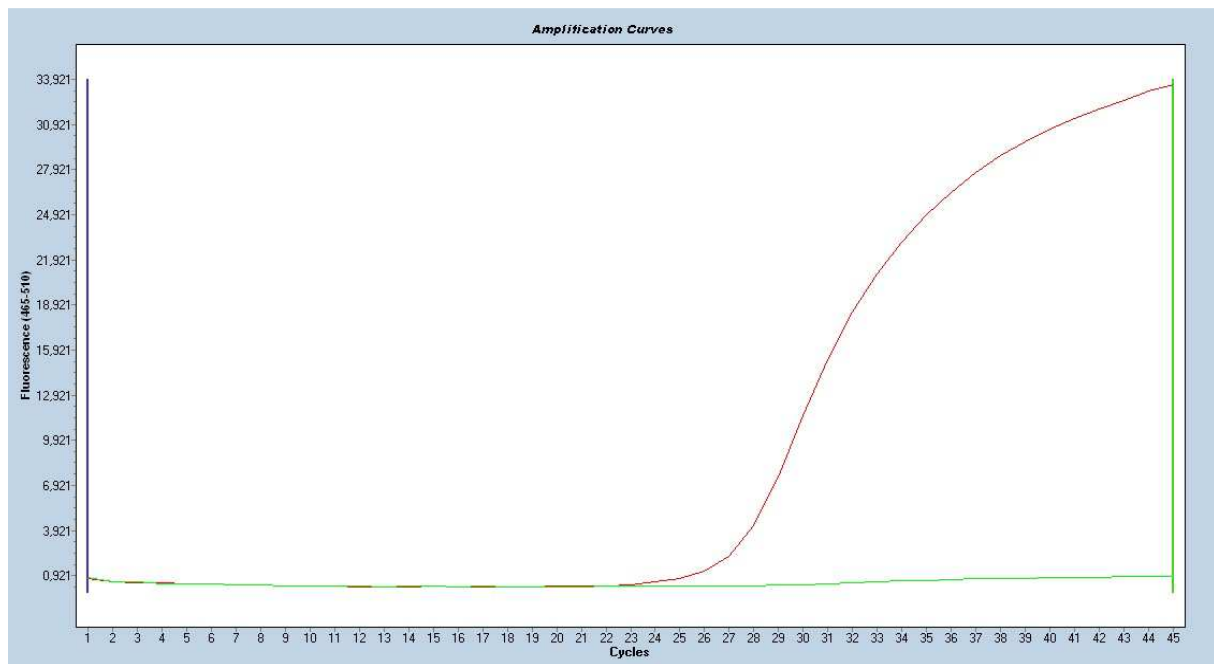


Fig.1 : Exécution correcte des contrôles positif et négatif (EAEC) sur le LightCycler® 480II

11. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 11.

Tableau 11 : Interprétation des échantillons

| Gènes des facteurs de virulence | | |
|---------------------------------|-----------------|---------------------------|
| aat/aggR | ICD | Résultat |
| positif | positif/négatif | ECEA détecté |
| négatif | positif | Gènes cibles non détectés |
| négatif | négatif | Non valide |

L'ECEA est détecté si l'ADN de l'échantillon et le **Internal Control DNA** présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

L'ECEA est également détecté si l'ADN de l'échantillon présente un signal d'amplification dans le système de détection, mais aucun pour le **Internal Control DNA**. La détection du contrôle d'amplification interne n'est pas nécessaire, car les concentrations élevées de l'amplicon peuvent générer un signal faible ou absent de l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA**.

L'ECEA n'est pas détecté si l'ADN de l'échantillon ne présente aucun signal d'amplification dans le système de détection, mais en présente un pour le **Internal Control DNA**. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection du **Internal Control DNA**.

Un échantillon est non valide si l'ADN de l'échantillon et l'ADN du contrôle interne **Internal Control DNA** ne présentent aucun signal d'amplification dans le système de détection. L'échantillon contient un inhibiteur de la PCR ou la procédure d'extraction est défectueuse. L'échantillon extrait doit être encore dilué avec de l'eau de PCR (1/10) et de nouveau amplifié, ou il convient d'améliorer l'isolation et la purification de l'échantillon.

12. Limites de la méthode

1. Le résultat de l'analyse moléculaire ne doit pas mener au diagnostic, mais toujours être envisagé dans le contexte des antécédents médicaux et des symptômes du patient.
2. Ce test est seulement validé pour les échantillons de selles.
3. Un prélèvement, transport, stockage et traitement incorrects du spécimen ou une charge en agents pathogènes inférieure à la sensibilité analytique peuvent entraîner des résultats faux négatifs.
4. La présence d'inhibiteurs de la PCR peut donner lieu à des résultats non valides.
5. Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison à l'amorce ou à la sonde peuvent empêcher la détection de nouveaux variants et donner lieu à un résultat faux négatif avec le test RIDA[®]GENE EAEC.
6. À l'instar de tous les tests de diagnostic *in vitro* de type PCR, des niveaux de la cible extrêmement bas sous la limite de détection (LDD) peuvent être détectés, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
7. Un résultat positif du test ne signifie pas nécessairement que des organismes viables sont présents. Cependant, un résultat positif indique la présence des gènes cibles (aatA, aggR).

13. Performances

13.1 Sensibilité analytique

La limite de détection du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE EAEC est ≥ 10 copies d'ADN par réaction.

La figure 2 ci-dessous présente une série de dilutions de aat/aggR (10^5 - 10^1 copies d'ADN par μ l) avec le LightCycler® 480II.

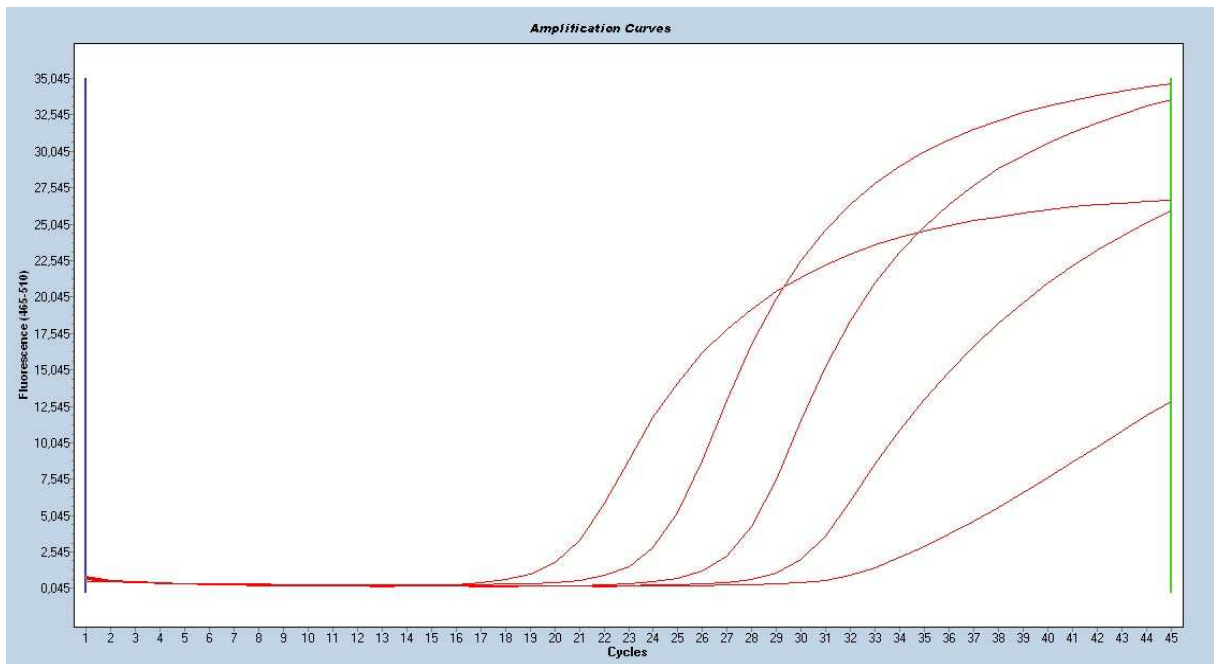


Fig. 2 : Série de dilutions pour l'ECEA (10^5 à 10^1 copies d'ADN/ μ l) avec le LightCycler® 480II

La limite de détection de l'ensemble de la procédure dépend de la matrice de l'échantillon, de l'extraction de l'ADN et de la concentration de l'ADN.

13.2 Spécificité analytique

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA® GENE EAEC est spécifique pour le *E. coli* entéro-agrégatif. Aucune réaction croisée n'a pu être détectée pour les espèces suivantes (voir tableau 12) :

Tableau 12 : Test de la réactivité croisée










| | | | | | | | |
|---|---|--|---|---|---|-----------------------------------|---|
| Adénovirus 1, humain, souche Adénoïde 71 | - | <i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i> | - | <i>Cryptosporidium parvum</i> | - | Norovirus GG II | - |
| Adénovirus 7, humain, souche Gomen | - | <i>Campylobacter upsaliensis</i> | - | <i>E. coli</i> (O157:H7) | - | <i>Proteus vulgaris</i> | - |
| Adénovirus 40, humain, souche Dugan | - | <i>Candida albicans</i> | - | <i>E. coli</i> (O26:H-) | - | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - |
| Adénovirus 41, humain, souche 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> sous-esp. <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. Historique des versions

| Numéro de version | Chapitre et désignation |
|-------------------|---|
| 2013-01-30 | Version de la publication |
| 2018-09-03 | Révision générale |
| 2018-09-03 | 4. Contenu du paquet 5. Instructions de conservation des réactifs 6. Autres réactifs et matériel nécessaires 9. Réalisation du test 10. Contrôle qualité 11. Interprétation des résultats 13. Performances 14. Historique des versions 15. Signification des symboles |

15. Signification des symboles

Symboles généraux

| | |
|---|------------------------------------|
|  | Pour le diagnostic <i>in vitro</i> |
|  | Respecter le mode d'emploi |
|  | Numéro de lot |
|  | Date de péremption |
|  | Température de stockage |
|  | Numéro d'article |
|  | Nombre de tests |
|  | Date de fabrication |
|  | Fabricant |

Symboles spécifiques au test

16. Bibliographie

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.