

RIDA® GENE E. coli Stool Panel I

REF PG2285



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDA[®]GENE E. coli Stool Panel I è un test PCR real-time multiplex per la rilevazione qualitativa diretta e la differenziazione di geni che codificano per i fattori di virulenza di EPEC e STEC, EPEC in campioni fecali umani.^{1,2}

RIDA[®]GENE E. coli Stool Panel I PCR real-time è previsto come ausilio nella diagnosi di gastroenterite causata rispettivamente da EPEC e STEC.

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 *E. coli* patogeni intestinali conosciuti *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.³

Gli *E. coli* enteroemorragici (EHEC) sono attualmente gli *E. coli* patogeni intestinali più importanti. Ogni anno in Germania sono segnalati circa 1000 casi di malattia causati da un'infezione da *E. coli* enteroemorragico (EHEC).

Gli EHEC sono un sottogruppo di *E. coli* produttore della tossina Shiga o della verotossina (STEC o VTEC) e sono in grado di produrre due citotossine, verotossina 1 e 2. Data la somiglianza delle verotossine con le tossine Shiga di *Shigella dysenteriae*, i VTEC sono anche chiamati STEC. Un altro importante fattore di virulenza diagnostico per EHEC è il gene *eae* (il gene di adesione e scomparsa di *E. coli*) che codifica per l'intimina.

I sintomi clinici causati da EHEC variano da forme lievi di diarrea a gastroenteriti gravi fino alla colite emorragica, che insorge in circa il 10-20% delle infezioni. Con il 5-10% delle infezioni, in particolare nei neonati e bambini piccoli, così come in pazienti anziani o pazienti con sistema immunitario indebolito, questo può anche causare sindrome uremica emolitica (HUS) o porpora trombocitopenica trombotica (TTP), una complicanza post-infettiva che mette a rischio la vita. Nel caso di HUS e TTP, la mortalità è particolarmente elevata tra i neonati (circa 10-15%). Può verificarsi insufficienza renale acuta con un bisogno temporaneo di dialisi o una perdita irreversibile della funzione renale e conseguente necessità costante di dialisi. L'intensità del quadro clinico dipende dalla predisposizione del paziente, ma anche dal corrispondente fenotipo EHEC; questo significa che il progresso della malattia dipende anche dai diversi modi in cui sono espressi i fattori di virulenza. Inoltre, sono coinvolti alcuni fattori ancora oggi sconosciuti. Il periodo di incubazione è di circa 2-10 giorni. A causa della elevata resistenza ambientale, la dose infettante per EHEC è

solo di circa 100 organismi. Le fonti di infezione sono alimenti contaminati da bovini, ovini o caprini, particolarmente carne cruda o prodotti della carne che non sono stati riscaldati a sufficienza, latte crudo non pastorizzato o certificato e frutta e verdura contaminata. L'infezione passa da una persona all'altra, soprattutto nelle strutture comunitarie come asili, case di riposo od ospedali, senza contare l'importanza dei contatti diretti con gli animali.^{4,5}

Gli *E. coli* enteropatogeni (EPEC) causano diarrea soprattutto nei bambini di età inferiore ai 2 anni. Il fattore di virulenza per l'EPEC è il gene *eae*.⁴

3. Principio del test

RIDA[®]GENE E. coli Stool Panel I è un test PCR real-time multiplex per la rilevazione qualitativa diretta e la differenziazione di geni che codificano per i fattori di virulenza di EPEC e STEC.

Dopo l'isolamento del DNA, viene eseguita l'amplificazione dei frammenti genetici specifici per i fattori di virulenza *stx1*, *stx2* ed *eae* (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[®]GENE E. coli Stool Panel I contiene un **Internal Control DNA** (ICD) quale controllo interno della procedura di preparazione dei campioni e/o per la determinazione della possibile inibizione della PCR.

4. Contenuto della confezione

Tab. 1: Contenuto della confezione (i reagenti inclusi nel kit sono sufficienti per 100 reazioni)

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 stampata. Dopo la scadenza, la garanzia di qualità non è più valida.
- Scongellare 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/scongellamento senza compromettere i test (ad esempio dopo il primo scongelamento separare il reagente in aliquote e ricongelare immediatamente).
- Durante la preparazione della PCR tutti i reagenti devono essere conservati al freddo in modo appropriato (2 - 8 °C).

6. Reagenti aggiuntivi e dispositivi necessari

Il test RIDA[®] GENE E. coli Stool Panel I PCR real-time multiplex è adatto per l'uso con le piattaforme di estrazione e gli strumenti per la PCR real-time indicati di seguito:

Tab. 2: Attrezzatura necessaria

Piattaforma di estrazione	
R-Biopharm	RIDA [®] Xtract
Promega	Maxwell [®] RSC
Strumento per la PCR real-time:	
Roche	LightCycler [®] 480II, LightCycler [®] 480 z
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96 [™]
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.

- RIDA[®] GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) per l'uso con

LightCycler[®] 480II e LightCycler[®] 480 z

- 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

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[®] Xtract (R-Biopharm)) o un sistema di estrazione disponibile in commercio (ad es. Maxwell[®] 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[®] GENE E. coli Stool Panel I contiene un **Internal Control DNA** che rileva l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia stata 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	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
	Totale	20 µl	220 µl

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

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	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
	Totale	21,0 µl	231,0 µl

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

9.2 Preparazione della 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** alla 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 (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	Nota
Roche LightCycler® 480II	stx2	465/510	RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) necessario
	ICD	533/580	
	stx1	533/610	
	eae	618/660	
Roche LightCycler® 480 z	stx2	465/510	RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) necessario
	ICD	540/580	
	stx1	540/610	
	eae	610/670	
ABI 7500	stx2	FAM	Controllare che l'opzione di riferimento passivo ROX sia impostata su nessuno
	ICD	VIC	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	stx2	FAM	Controllare che non vi sia colorante di riferimento
	ICD	HEX	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	stx2	Verde	Le impostazioni di amplificazione devono essere regolate su 5, in base alle impostazioni predefinite
	ICD	Giallo	
	stx1	Arancione	
	eae	Rosso	
Bio-Rad CFX96™	stx2	FAM	-
	ICD	VIC	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	

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, occorre che il controllo positivo e il controllo negativo mostrino risultati corretti (vedere Tabella 10, Fig. 1, Fig. 2, Fig.3).

Il **Controllo positivo** ha una concentrazione di 10^3 copie/ μ l per stx1, stx2 ed eae. In ogni ciclo di PCR viene usato in una quantità totale di 5×10^3 copie.

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

Campione	Risultato del test	Ct ICD	Ct Target
Positive Control	Positivo	NA *1	Vedere certificato di garanzia di qualità
Controllo negativo	Negativo	Ct > 20	0

**1 Per ottenere un risultato positivo del controllo positivo non occorre un valore Ct per l'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

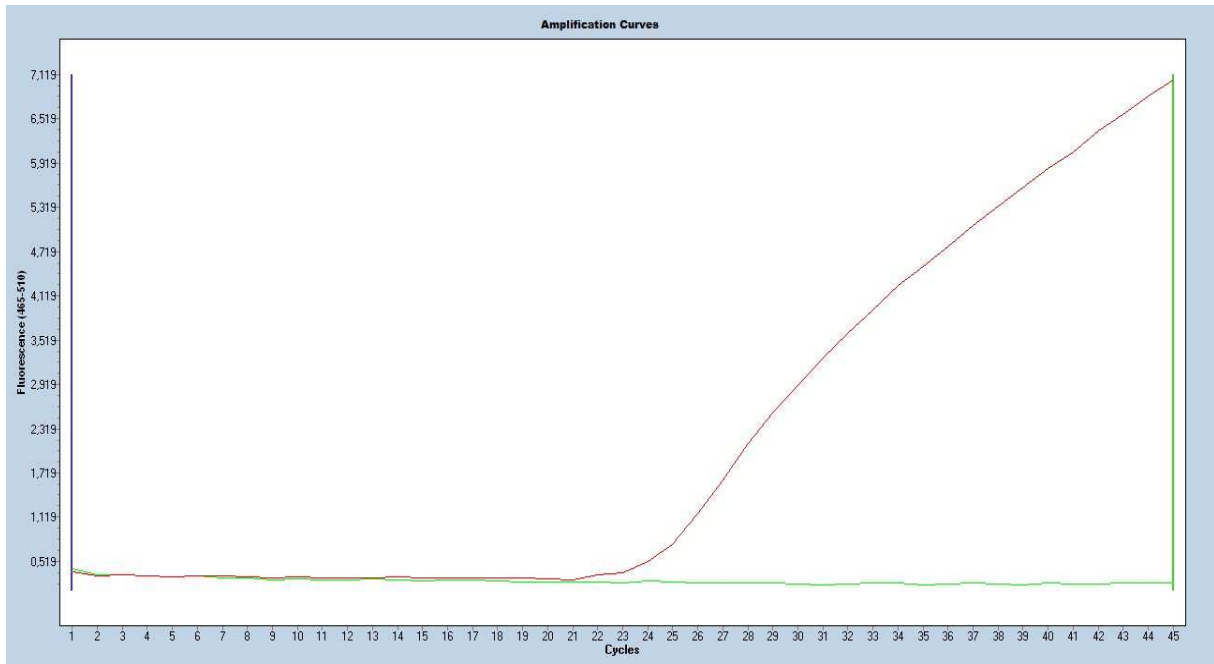


Fig.1: Esecuzione corretta del controllo positivo e del controllo negativo (stx2) sul LightCycler® 480II

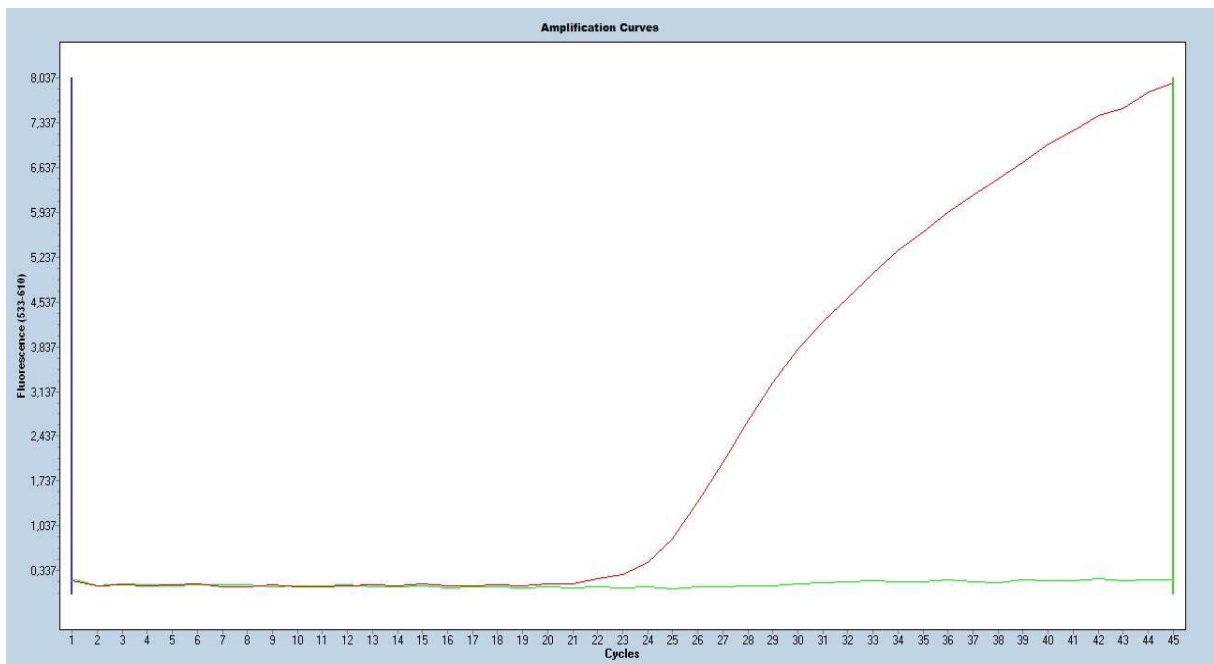


Fig. 2: Esecuzione corretta del controllo positivo e del controllo negativo (stx1) sul LightCycler® 480II

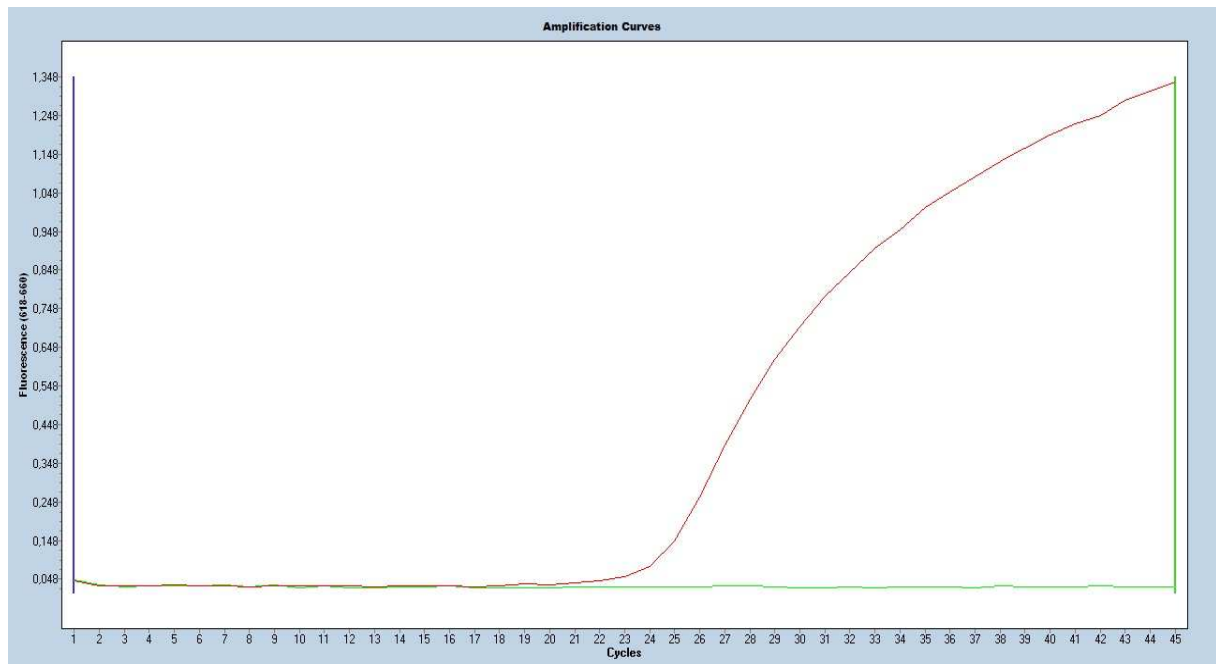


Fig. 3: Esecuzione corretta del controllo positivo e del controllo negativo (eae) sul LightCycler® 480II

11. Interpretazione del risultato

Il risultato viene interpretato in base alla Tabella 11.

Tab. 11: Interpretazione del campione

Geni del fattore di virulenza				
stx2	stx1	eae	ICD	Risultato
positivo	negativo	negativo	positivo/negativo	STEC (EHEC) rivelato
negativo	positivo	negativo	positivo/negativo	STEC (EHEC) rivelato
positivo	positivo	negativo	positivo/negativo	STEC (EHEC) rivelato
negativo	negativo	positivo	positivo/negativo	EPEC rivelato
positivo	positivo	positivo	positivo/negativo	EHEC rivelato
positivo	negativo	positivo	positivo/negativo	EHEC rivelato
negativo	positivo	positivo	positivo/negativo	EHEC rivelato
negativo	negativo	negativo	positivo	Geni target non rivelati
negativo	negativo	negativo	negativo	Non valido

Secondo la legge tedesca sulla protezione dalle infezioni (IfSG) gli EHEC sono gli STEC (*E. coli* produttore di tossina Shiga) patogeni per l'uomo. Poiché non esiste una definizione specifica per gli STEC patogeni umani, **ogni** STEC deve essere considerato come potenziale EHEC.⁵

Un campione è valutato come positivo se il campione e l'**Internal Control DNA** mostrano un segnale di amplificazione nel sistema di rivelazione.

Un campione viene inoltre valutato come positivo 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.

Un campione viene valutato come negativo se il DNA del campione non mostra alcun segnale di amplificazione, ma nel sistema di rivelazione è presente un segnale di amplificazione per l'**Internal Control DNA**. 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 rivelazione di nuove varianti e causare un risultato falso negativo con il test RIDA[®] GENE *E. coli* Stool Panel I.
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 di geni target (16s-rDNA, tcdA/tcdB)

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1 Sensibilità analitica

Il test RIDA® GENE E. coli Stool Panel I PCR real-time multiplex ha un limite di rilevazione ≥ 10 copie di DNA per reazione per rispettivamente per stx2, stx1 ed eae.

Le seguenti Figure 4, 5 e 6 mostrano serie di diluizioni di stx2, stx1 ed eae (ciascuna $10^5 - 10^1$ copie di DNA per μl) sul LightCycler® 480II.

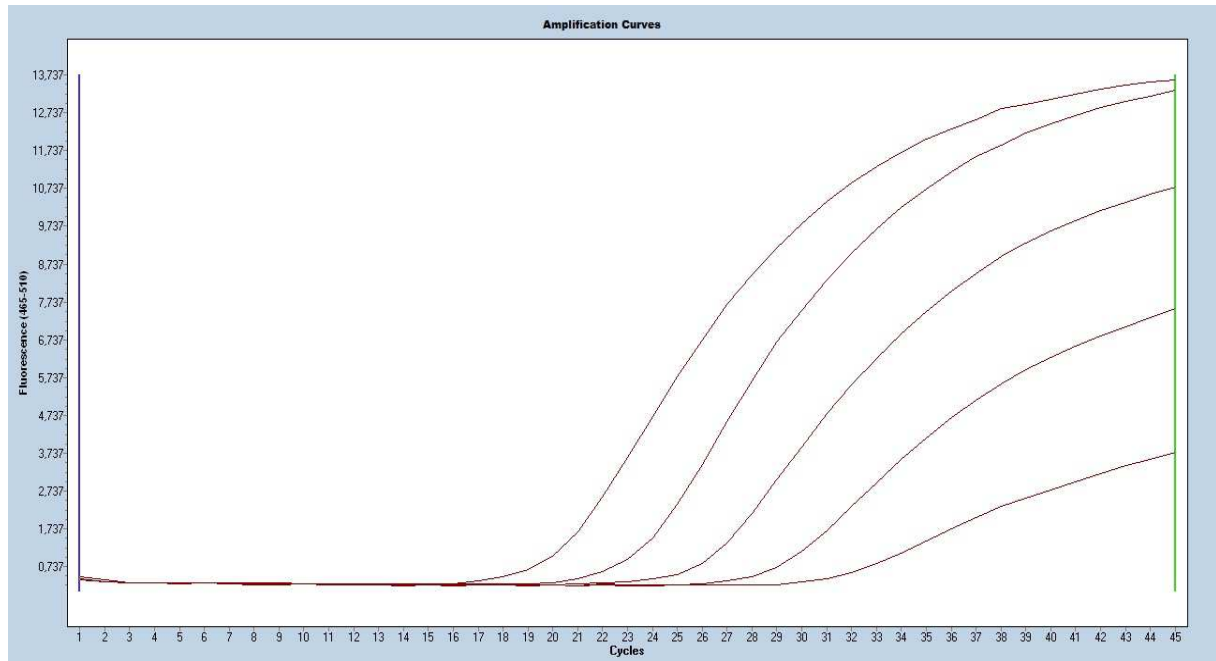


Fig. 4: Serie di diluizioni del gene della tossina Shiga stx2 ($10^5 - 10^1$ copie di DNA per μl) sul LightCycler® 480II

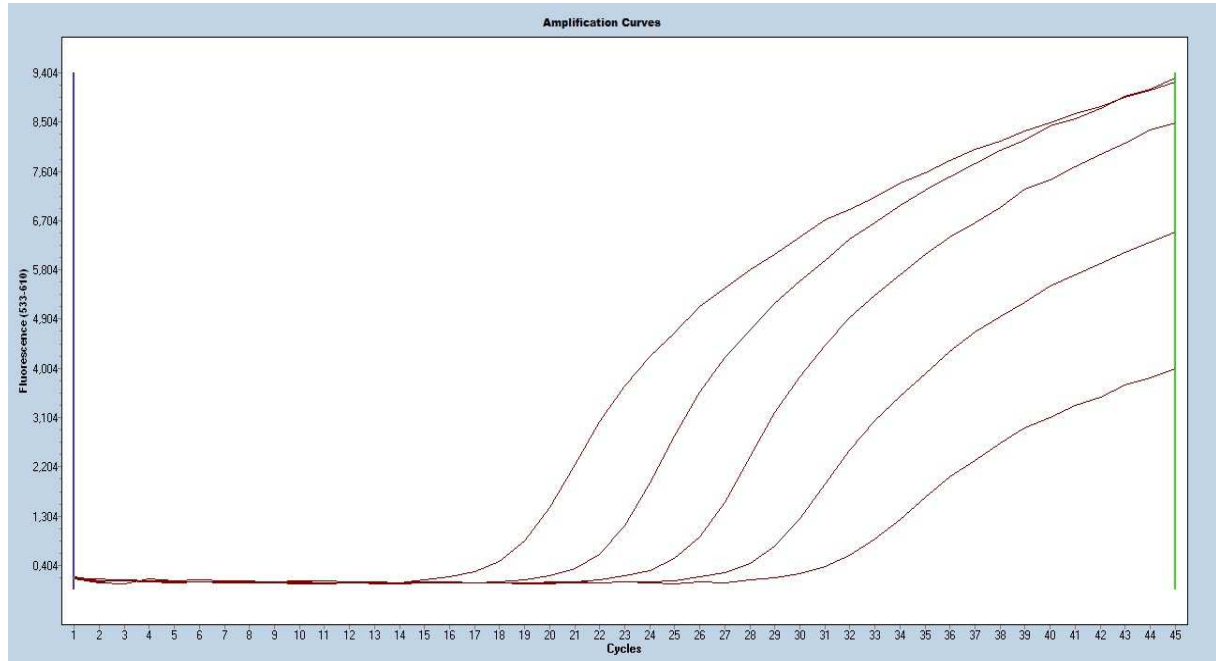


Fig. 5: Serie di diluizioni del gene della tossina Shiga di stx1 ($10^5 - 10^1$ copie di DNA per μl) sul LightCycler[®] 480II

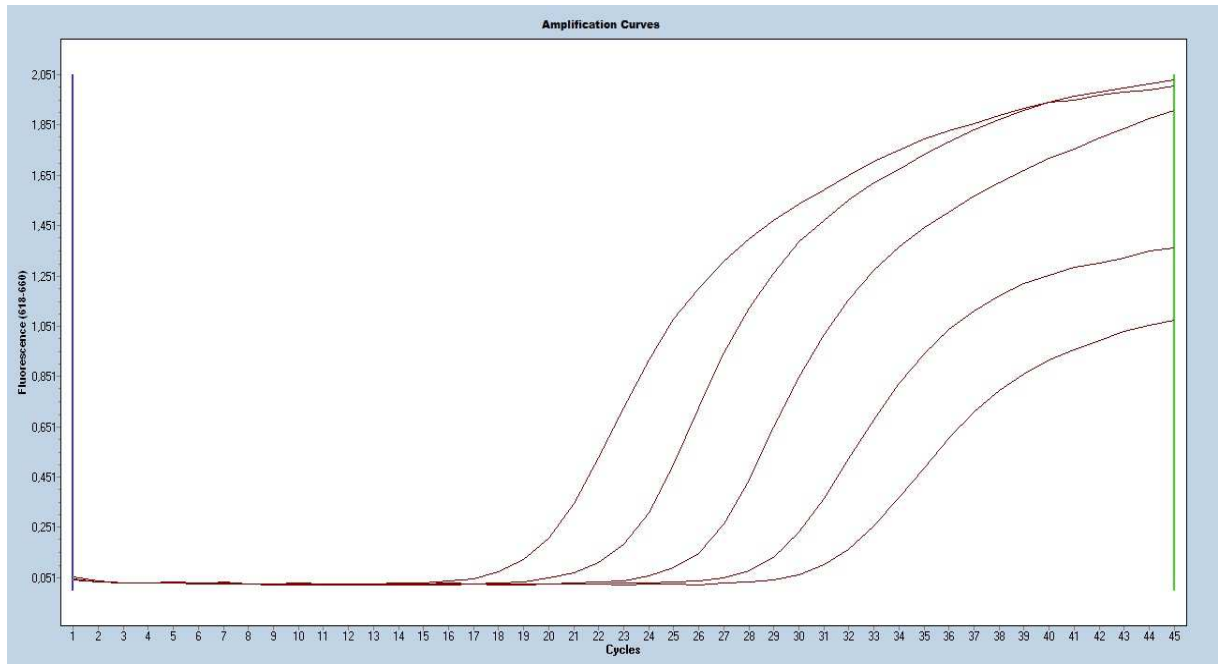


Fig. 6: Serie di diluizioni del gene eae ($10^5 - 10^1$ copie di DNA per μl) sul LightCycler[®] 480II

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 E. coli Stool Panel I multiplex real time PCR è specifico per stx1, stx2 ed eae. Non è stata rivelata alcuna reazione crociata per le seguenti specie (vedere Tab. 13):

Tab. 13: Test di reattività crociata

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

13.3 Reattività analitica

La reattività di RIDA[®]GENE E.coli Stool Panel I multiplex real time PCR è stata valutata rispetto a più sottotipi del gene *stx1* e *stx2* (cfr. la Tab. 14). I seguenti sottotipi di *stx1* e *stx2* sono stati rivelati da RIDA[®]GENE E Coli Stool Panel I multiplex real-time PCR:

Tab. 14: Test di reattività analitica










Sottotipi <i>stx1</i>					
<i>stx1a</i>	+	<i>stx1c</i>	+	<i>stx1d</i>	+
Sottotipi <i>stx2</i>					
<i>stx2a</i>	+	<i>stx2d</i>	+	<i>stx2g</i>	+
<i>stx2b</i>	+	<i>stx2e</i>	+		
<i>stx2c</i>	+	<i>stx2f</i>	+		
Sottotipi <i>eae</i>					
<i>eae alpha</i>	+	<i>eae gamma</i>	+		

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e designazione
2016-05-27	Versione di rilascio
2018-06-08	Revisione generale
2018-06-08	4. Contenuto della confezione 6. Reagenti aggiuntivi e dispositivi necessari 9. Esecuzione del test 10. Controllo qualità 14. Cronologia delle versioni 15. Descrizione dei simboli

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

	Diagnostica <i>in vitro</i>
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici nel testo

Non pertinente

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. *Applied and Environmental Microbiology* 2007; 73 (10): 3380–3390.
2. Thiem VD, et al. Detection of *Shigella* by a PCR Assay Targeting the *ipaH* Gene Suggests Increased Prevalence of Shigellosis in Nha Trang, Vietnam. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42(5): 2031-2035.
3. Kaper JM, et al. PATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI*. *Nature Reviews Microbiology* 2004; 2:123-140.
4. Nataro JP and Kaper JM. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* 1998; 11(1): 132-201.
5. Robert Koch Institut. Erkrankungen durch Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC). RKI-Ratgeber für Ärzte 2008.