

## RIDA® GENE E. coli Stool Panel I

**REF** PG2285



## 1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDA®GENE E. coli Stool Panel I es un ensayo de PCR múltiple en tiempo real para la detección cualitativa directa y la diferenciación de genes que codifican los factores de virulencia de ECEP y ECTS, ECEP en muestras de heces humanas.<sup>1,2</sup>

El ensayo de PCR múltiple en tiempo real RIDA®GENE E. coli Stool Panel I está concebido como una ayuda para el diagnóstico de gastroenteritis causada por ECEP y ECTS, respectivamente.

## 2. Resumen y descripción del ensayo

Las *Escherichia coli* (*E. coli*) son bacterias gram-negativas tipo bacilo, facultativamente anaeróbicas, que se mueven mediante flagelación peritrica y pertenecen a la familia de las enterobacterias. Las *E. coli* son parte de la flora intestinal normal de los seres humanos y muchos animales de granja y, generalmente, no son patógenas. Algunas cepas de *E. coli* son patógenas para los humanos a través de la adquisición de ciertos factores de virulencia (p.ej., genes para toxinas).

Los seis tipos conocidos de patógenos intestinales de *E. coli*: *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotóxica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteroagregativa (ECEA) y *E. coli* difusamente adherente (ECDA) pueden diferenciarse por medio de los factores de virulencia.<sup>3</sup>

Actualmente, la *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) es la *E. coli* patógena intestinal más importante. Cada año se reportan en Alemania alrededor de 1000 casos de enfermedades provocadas por una infección con *E. coli* enterohemorrágica (ECEH). La ECEH es un subgrupo de *E. coli* productoras de toxina Shiga o Verotoxina (ECTS o ECVT) y tiene la capacidad para producir dos toxinas, las verotoxinas 1 y 2.

Debido a la estrecha similitud entre las verotoxinas y las toxinas Shiga de *Shigella dysenteriae*, la ECVT también se denomina ECTS. Otro factor de virulencia de diagnóstico importante para la ECEH es la intimina codificadora del gene *eae* (gene que se une y borra la *E. coli*).

Los síntomas clínicos provocados por la ECEH varían desde diarreas leves y gastroenteritis severa a colitis hemorrágica, la cual ocurre en aproximadamente 10 a 20 % de los casos de infección. En un 5 a 10 % de las infecciones, particularmente en bebés y niños pequeños, así como en pacientes de edad avanzada o pacientes con sistemas inmunológicos debilitados, esto también puede derivar en un síndrome urémico hemolítico (SUH) o púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) como una complicación postinfecciosa mortal. En los casos de SUH y PTT, la mortalidad es particularmente alta entre infantes (aproximadamente entre 10 y 15 %). Puede haber falla renal aguda con necesidad temporal de diálisis o una pérdida irreversible de la función renal que ocasione la necesidad constante de diálisis. La intensidad del cuadro clínico depende de la predisposición del paciente, pero también del fenotipo

de ECEH correspondiente. Esto significa que el progreso de la enfermedad también depende de las diferentes maneras en que se expresan los factores de virulencia. Existen factores, desconocidos aún al día de hoy, que también juegan un papel. El periodo de incubación es de aproximadamente 2 a 10 días. Debido a la alta resistencia ambiental, la dosis infecciosa para ECEH es de tan solo alrededor de 100 organismos. Las fuentes de infección son los alimentos contaminados provenientes de reses, ovejas o cabras, particularmente carne cruda y productos de carne que no hayan sido tratados con calor de forma suficiente, leche sin pasteurizar o certificada y frutas y verduras contaminadas. Las cadenas infecciosas de humano a humano, en particular en las instalaciones comunitarias, tales como jardines de niños, hogares para adultos mayores u hospitales, así como contactos directos con animales, también son importantes.<sup>4,5</sup>

La *E. coli* enteropatogénica (ECEP) provoca diarrea, particularmente en infantes menores de los 2 años de edad. El factor de virulencia para el ECEP es también el gene *eae*.<sup>4</sup>

### 3. Principio del ensayo

El RIDA<sup>®</sup>GENE *E. coli* Stool Panel I es un ensayo de PCR múltiplex en tiempo real para la detección cualitativa directa y la diferenciación de genes que codifican los factores de virulencia de ECEP y ECTS.

Después del aislamiento del ADN, se lleva a cabo la amplificación de los fragmentos génicos específicos para los factores de virulencia *stx1*, *stx2* y *eae* (si estuvieran 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<sup>®</sup>GENE *E. coli* Stool Panel I 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 reacciones).

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

#### 5. Instrucciones de almacenamiento

- Todos los reactivos deben conservarse protegidos de la luz y a una temperatura de -20 °C. Todos los reactivos pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad marcada. 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 2 - 8 °C).
- Los reactivos admiten hasta 20 ciclos de congelación/descongelación sin que esto afecte a 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 (2 - 8 °C).

## 6. Reactivos adicionales necesarios y equipo necesario

El ensayo de PCR múltiplex en tiempo real RIDA® GENE E. coli Stool Panel I es adecuado para utilizarse con las siguientes plataformas de extracción y equipos de PCR en tiempo real:

**Tabla 2:** Equipamiento necesario

Plataforma de extracción	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Equipo de PCR en tiempo real:	
Roche	LightCycler® 480II, LightCycler® 480 z
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](mailto:mdx@r-biopharm.de).

- RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) para uso con el LightCycler® 480II y el LightCycler® 480 z
- Consumibles para PCR en tiempo real (placas, tubos, papel aluminio)
- Centrífuga y rotor para los viales de reacción
- Agitador 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 del ensayo. 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 del ensayo. 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 las hojas de datos de seguridad (SDS) en [www.r-biopharm.com](http://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<sup>®</sup> Xtract [R-Biopharm]) o un sistema de extracción de ADN (p. ej., Maxwell<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> GENE E. Coli Stool Panel I contiene un Internal Control DNA que detecta la inhibición de la PCR, monitoriza 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 del Internal Control DNA a la mezcla maestra (consulte la tabla 4).

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 deben añadir 20 µl del **Internal Control DNA** durante el procedimiento de extracción. El **Internal Control DNA** debe añadirse siempre a la mezcla de búfer 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 del ensayo

### 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 debe 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 y 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 a 8 °C) durante el paso 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	<b>Reaction Mix</b>	19,3 µl	212,3 µl
2	<b>Taq-Polymerase</b>	0,7 µl	7,7 µl
	<b>Total</b>	<b>20 µl</b>	<b>220 µl</b>

Mezcle suavemente los componentes de la mezcla maestra y centrifúguelos 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	<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>Total</b>	<b>21,0 µl</b>	<b>231,0 µl</b>

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

## 9.2 Preparación de la mezcla para 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:** Añada 5 µl de extracto de ADN a la mezcla maestra prepipeteada.

**Control positivo:** Añada 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. Centrifúgelos 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 el mismo paso.

**Tabla 6:** Perfil de ADN por PCR en tiempo real en 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 el mismo paso.

### 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 serie 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 el mismo paso.

**Tabla 8:** Perfil universal por PCR en tiempo real en Mx3005P, ABI 7500, Rotor-Gene Q y CFX96™

<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 el mismo paso.

## 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® 480II	stx2	465/510	Se requiere el RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICD	533/580	
	stx1	533/610	
	eae	618/660	
Roche LightCycler® 480 z	stx2	465/510	Se requiere el RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICD	540/580	
	stx1	540/610	
	eae	610/670	
ABI 7500	stx2	FAM	Compruebe que la opción de referencia pasiva ROX sea «none» (ninguna).
	ICD	VIC	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	stx2	FAM	Compruebe que el colorante de referencia sea «none» (ninguno).
	ICD	HEX	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	stx2	Verde	La ganancia debe configurarse en 5, según la configuración predeterminada.
	ICD	Amarillo	
	stx1	Naranja	
	eae	Rojo	
Bio-Rad CFX96™	stx2	FAM	-
	ICD	VIC	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	

## 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, figuras 1, 2 y 3) para determinar una corrida válida.

El **Positive Control** tiene una concentración de  $10^3$  copias/ $\mu$ l para stx1, stx 2 y eae. En cada ensayo de PCR se utiliza una cantidad total de  $5 \times 10^3$  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

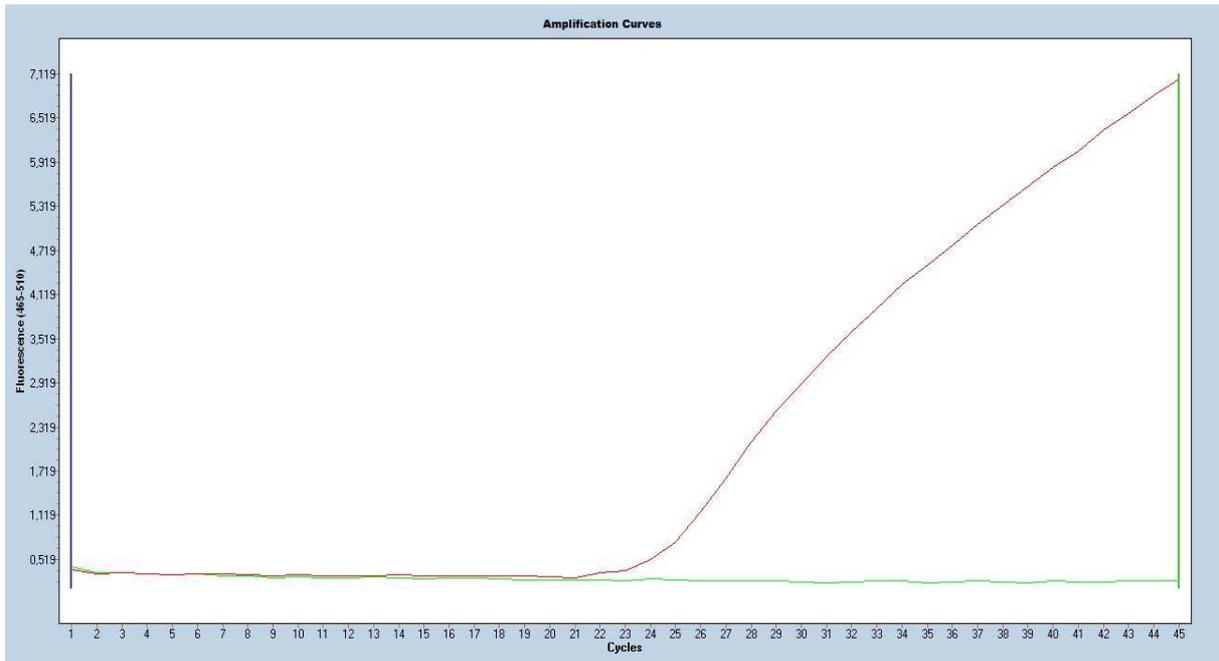
\*1 *No se requiere un valor de Ct del ICD para determinar que el control positivo es positivo.*

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.

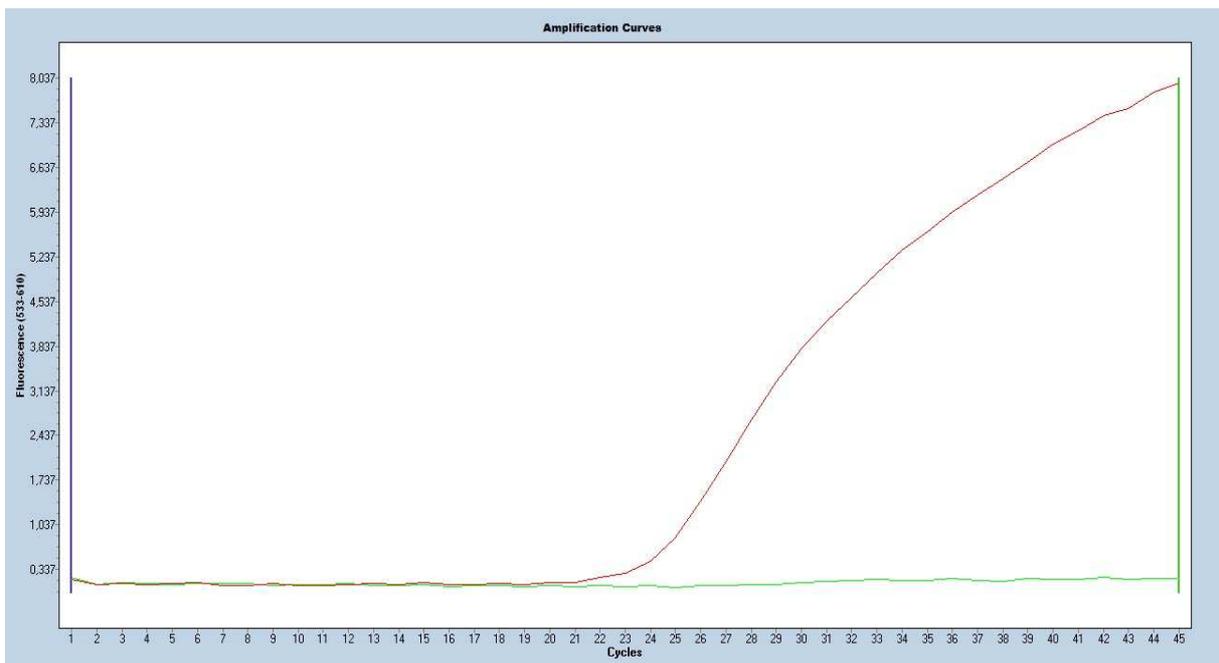
Si el control negativo no es negativo pero el control positivo es válido, prepare de nuevo todas las reacciones, incluidos los controles.

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

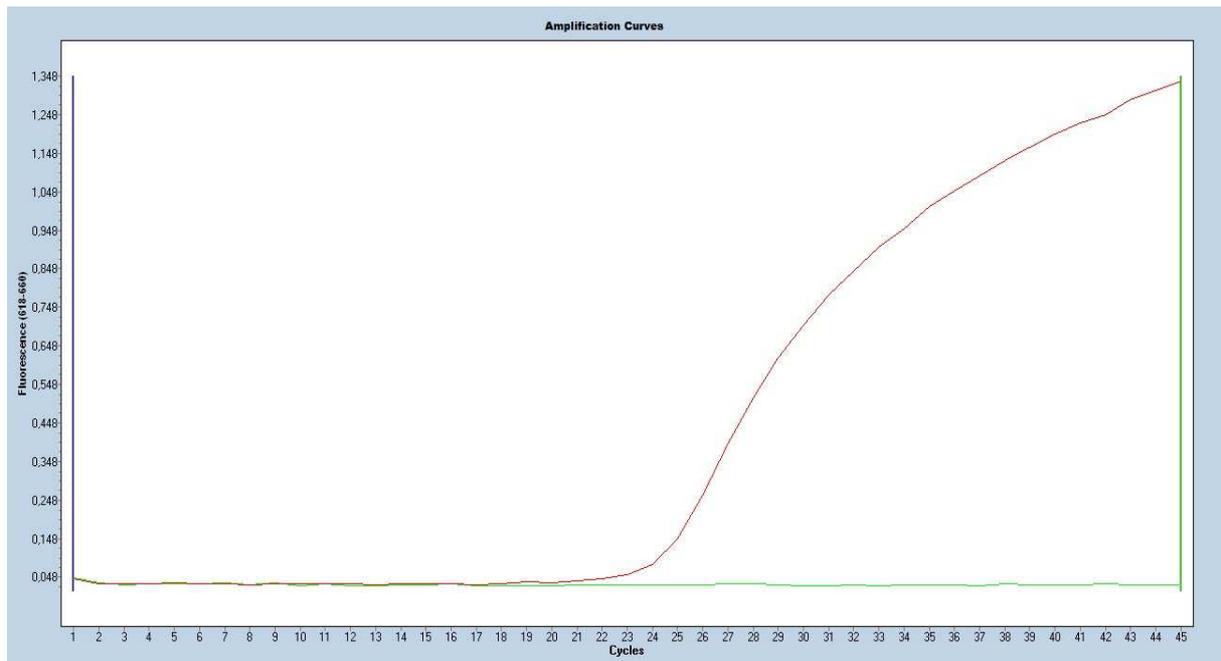
- Fecha de caducidad de los reactivos usados
- Funcionalidad de los equipos utilizados
- Ejecución correcta del procedimiento del ensayo



**Fig.1:** Procesamiento correcto del control positivo y del control negativo (stx2) en el LightCycler® 480II



**Fig. 2:** Procesamiento correcto del control positivo y del control negativo (stx1) en el LightCycler® 480II



**Fig. 3:** Procesamiento correcto del control positivo y del control negativo (eae) 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			ICD	Resultado
stx2	stx1	eae		
<b>positivo</b>	negativo	negativo	<b>positivo/negativo</b>	<b>ECTS (ECEH) detectado</b>
negativo	<b>positivo</b>	negativo	<b>positivo/negativo</b>	<b>ECTS (ECEH) detectado</b>
<b>positivo</b>	<b>positivo</b>	negativo	<b>positivo/negativo</b>	<b>ECTS (ECEH) detectado</b>
negativo	negativo	<b>positivo</b>	<b>positivo/negativo</b>	<b>ECEP detectado</b>
<b>positivo</b>	<b>positivo</b>	<b>positivo</b>	<b>positivo/negativo</b>	<b>ECEH detectado</b>
<b>positivo</b>	negativo	<b>positivo</b>	<b>positivo/negativo</b>	<b>ECEH detectado</b>
negativo	<b>positivo</b>	<b>positivo</b>	<b>positivo/negativo</b>	<b>ECEH detectado</b>
negativo	negativo	negativo	<b>positivo</b>	<b>Genes diana no detectados</b>
negativo	negativo	negativo	negativo	<b>No válido</b>

De acuerdo con la Ley alemana de Protección contra Infecciones (IfSG), las ECEH son aquellas ECTS (*E. Coli* productora de toxina Shiga) patógenas para los humanos. Debido a que no hay una definición específica para ECTS patógena para los humanos, **cada** ECTS debe considerarse como ECEH potencial.<sup>5</sup>

Se determina que una muestra es positiva si la muestra y el **Internal Control DNA** presentan una señal de amplificación en el sistema de detección.

También se determina que una muestra es positiva si se detecta que hay una 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.

Se determina que una muestra es negativa si se detecta que no hay una 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 puede ser excluida por la detección del ADN del **Internal Control DNA**.

La muestra no es válida si no hay una señal de amplificación del ADN de la muestra y 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 con agua la muestra extraída para PCR (1:10) y amplificarla de nuevo, o bien, mejorar el aislamiento y la purificación de la muestra.

## 12. Limitaciones del método

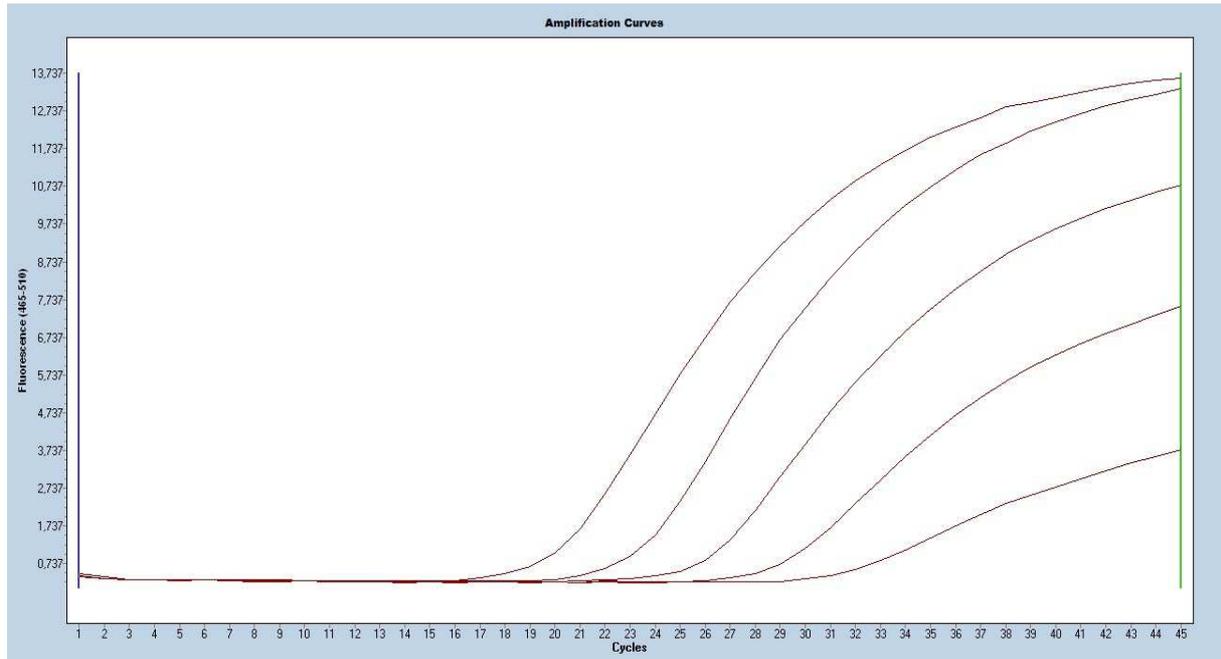
1. El resultado del análisis molecular no debe dar lugar a un diagnóstico, sino que debe considerarse siempre en el contexto del historial médico y los síntomas del paciente.
2. Este ensayo solo está validado para muestras de heces.
3. La obtención, transporte, almacenamiento y procesamiento incorrectos 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 a la detección de nuevas variantes, y producir un resultado negativo falso con el ensayo RIDA<sup>®</sup> GENE *E. coli* Stool Panel I.
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 de la prueba no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. No obstante, un resultado positivo indica la presencia de los genes diana (*stx1*, *stx2* y *eae*).

## 13. Características de rendimiento

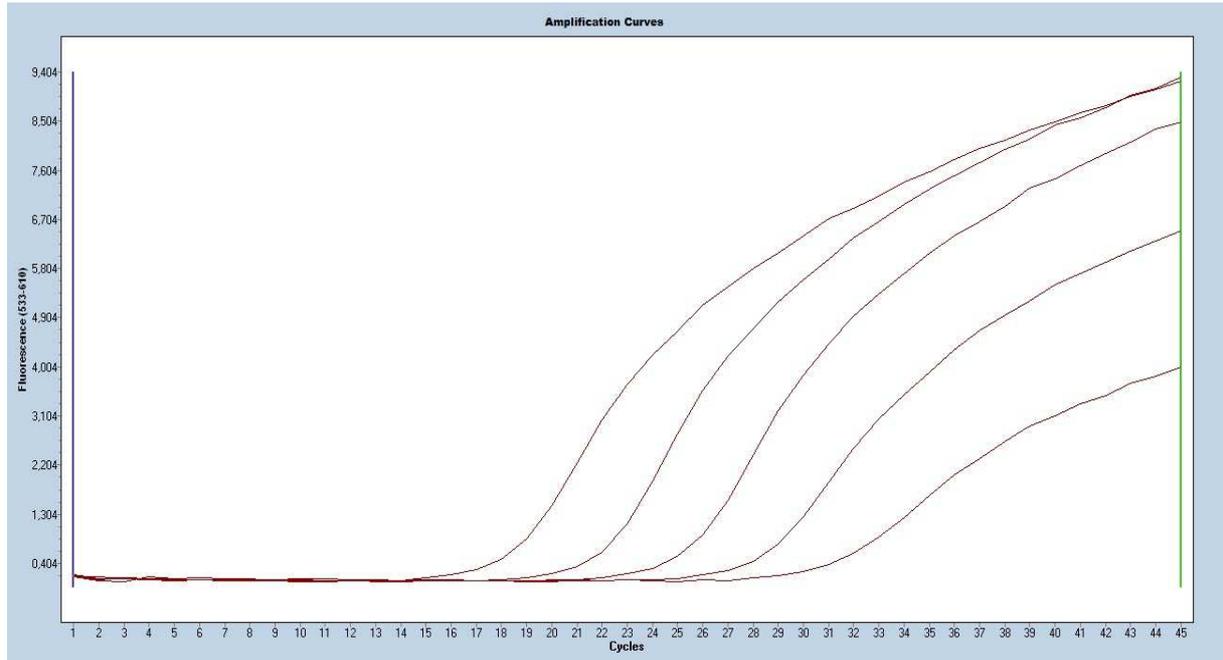
### 13.1 Sensibilidad analítica

El ensayo PCR múltiplex en tiempo real RIDA® GENE E. coli Panel I tiene un límite de detección de  $\geq 10$  copias de ADN por reacción para stx2, stx1 y eae, respectivamente.

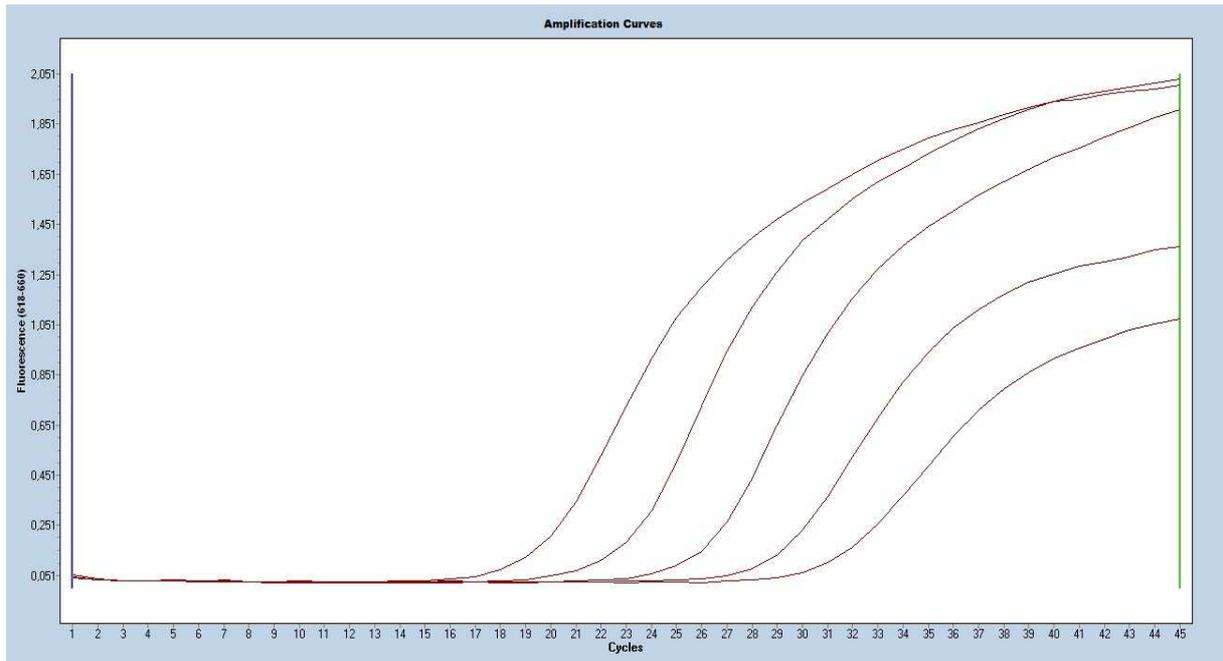
Las siguientes figuras 4, 5 y 6 muestran diluciones seriadas de stx2, stx1 y eae ( $10^5 - 10^1$  copias de ADN por  $\mu\text{l}$  cada una) en el LightCycler® 480II.



**Fig. 4:** Dilución seriada de genes de toxina Shiga stx2 ( $10^5 - 10^1$  copias de ADN/ $\mu\text{l}$ ) en el LightCycler® 480II



**Fig. 5:** Dilución seriada de genes de toxina Shiga stx1 ( $10^5 - 10^1$  copias de ADN/ $\mu$ l) en el LightCycler<sup>®</sup> 480II



**Fig. 6:** Dilución seriada de genes de eae ( $10^5 - 10^1$  copias de ADN/ $\mu$ l) en el LightCycler<sup>®</sup> 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 PCR múltiplex en tiempo real RIDA® GENE E. coli Stool Panel I es específico para stx1, stx2 y eae. No se detectaron reacciones cruzadas con las siguientes especies (consulte la tabla 13):

**Tabla 13:** Ensayos de reactividad cruzada

Adenovirus 1, humano, cepa Adenoid 71	-	<i>Campylobacter lari</i> subespecie <i>lari</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
Adenovirus 7, humano, cepa Gomen	-	<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Adenovirus 40, humano, cepa Dugan	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	Rotavirus	-
Adenovirus 41, humano, cepa Tak	-	<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium bifermentans</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 clon 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> subespecie <i>fetus</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	Norovirus GG II	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-				

### 13.3 Reactividad analítica

La reactividad del ensayo de PCR múltiplex en tiempo real de RIDA<sup>®</sup>GENE E. coli Stool Panel I fue evaluado contra múltiples subtipos de los genes *stx1* y *stx2* gene (consulte la tabla 14). Los subtipos *stx1* y *stx2* que se muestran a continuación fueron detectados por el ensayo PCR múltiplex en tiempo real RIDA<sup>®</sup>GENE E. coli Stool Panel I:

**Tabla 14:** Pruebas de reactividad analítica

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

## 14. Historial de versiones

Número de versión	Capítulo y designación
2016-05-27	Versión de lanzamiento
2018-06-08	Revisión general
2018-06-08	4. Reactivos suministrados 6. Reactivos adicionales necesarios y equipo necesario 9. Ejecución del ensayo 10. Control de calidad 14. Historial de versiones 15. Explicación de los símbolos

## 15. Explicación de los símbolos

### Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Consulte las instrucciones de uso.
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de ensayos
	Fecha de fabricación
	Fabricante

### Símbolos específicos del ensayo

No aplicable

## 16. Referencias bibliográficas

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.

