

RIDA® GENE E. coli Stool Panel I

REF PG2285



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. Le test RIDA[®]GENE E. coli Stool Panel I est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation des gènes codant pour les facteurs de virulence d'EPEC et STEC, d'EPEC dans des échantillons de selles humaines^{1,2}.

Le test de PCR en temps réel RIDA[®]GENE E. coli Stool Panel I est destiné à faciliter le diagnostic de la gastro-entérite provoquée par EPEC et STEC, respectivement.

2. Résumé et explication du test

Les bactéries *Escherichia coli* (*E. coli*) sont des bactéries gram-négatives en forme de bâtonnets facultativement aérobies, qui se déplacent au moyen de flagelles péritriches. Elles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les bactéries *E. coli* sont normalement présentes dans la flore intestinale de l'être humain et de nombreux animaux de ferme. Elles ne sont généralement pas pathogènes. Quelques souches d'*E. coli* sont pathogènes pour l'être humain du fait de l'acquisition de certains facteurs de virulence (par ex., gènes codant pour des toxines).

Les six souches intestinales pathogènes d'*E. coli* connues, à savoir *E. coli* entérohémorragique (EHEC), *E. coli* entérotoxigène (EPEC), *E. coli* entérotoxigénique (ETEC), *E. coli* entéro-invasive (EIEC), *E. coli* entéro-agrégative (EAEC) *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC) peuvent être différenciées par les facteurs de virulence³.

Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont actuellement les *E. coli* les plus pathogènes dans l'intestin. Chaque année, environ 1 000 cas de maladies dues à une infection par des *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont signalés en Allemagne.

Les EHEC sont un sous-groupe des *E. coli* produisant des toxines de Shiga ou des vérotoxines (STEC ou VTEC) et ont la capacité de produire deux cytotoxines, les vérotoxines 1 et 2. En raison de la ressemblance entre les vérotoxines et les toxines de Shiga de *Shigella dysenteriae*, les VTEC sont aussi dénommés STEC. Un autre facteur de virulence important pour le diagnostic des EHEC est le gène *eae* (gène de l'attachement-effacement d'*E. coli*) codant pour l'intimine.

Les symptômes cliniques provoqués par les EHEC s'étendent des diarrhées légères aux gastro-entérites sévères en passant par la colite hémorragique et surviennent dans environ 10 à 20 % des infections. Dans 5 à 10 % des infections, en particulier chez les nourrissons et les enfants en bas âge, mais aussi chez les patients âgés ou immunodéprimés, cela peut entraîner une complication post-infectieuse engageant le pronostic vital, à savoir un syndrome hémolytique et urémique (SHU) ou un purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT). Les SHU et PTT provoquent une mortalité particulièrement élevée chez les nourrissons (environ 10 à 15 %). Il peut se produire une insuffisance rénale aiguë avec une dépendance temporaire à la dialyse ou une perte irréversible de la fonction rénale et une dépendance définitive à la dialyse en découlant. La gravité du tableau clinique dépend de la prédisposition du patient, mais

aussi du phénotype de l'EHEC correspondant; cela signifie que l'évolution de la maladie dépend des différentes manières dont les facteurs de virulence sont exprimés. Des facteurs encore inconnus de nos jours jouent aussi un rôle. La période d'incubation est d'environ 2 à 10 jours. En raison de la grande résistance environnementale, la dose infectieuse d'EHEC est seulement de quelque 100 organismes. Les sources d'infection sont les aliments contaminés provenant des bovins, ovins ou caprins, en particulier la viande crue ou les produits à base de viande qui n'ont pas été assez chauffés, le lait non pasteurisé ou certifié et les fruits et légumes contaminés. Sont aussi importantes les chaînes infectieuses d'un être humain à l'autre, en particulier dans des structures collectives comme des crèches, des maisons de retraite ou des établissements hospitaliers, ainsi que les contacts directs avec les animaux^{4,5}.

Les *E. coli* entéropathogènes (EPEC) provoquent de la diarrhée, en particulier chez les nourrissons âgés de moins de 2 ans. Le facteur de virulence des EPEC est aussi le gène *eae*⁴.

3. Principe du test

Le test RIDA[®]GENE E. coli Stool Panel I est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation des gènes codant pour les facteurs de virulence d'EPEC et de STEC.

Après isolation de l'ADN, on procède à l'amplification des fragments de gène spécifiques aux facteurs de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* (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 E. coli Stool Panel I 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 réactions)

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 imprimée. 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 RIDA[®] GENE E. coli Stool Panel I peut être utilisé avec les plateformes d'extraction et les instruments de PCR en temps réel suivants :

Tableau 2 : Matériel nécessaire

Plateforme d'extraction	
R-Biopharm	RIDA [®] Xtract
Promega	Maxwell [®] RSC
Instrument de PCR en temps réel :	
Roche	LightCycler [®] 480II, LightCycler [®] 480 z
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 les appareils LightCycler[®] 480II et LightCycler[®] 480 z
- 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 sans poudre
- 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 E. coli Stool Panel I 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. L'ADN de contrôle interne **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 d'ADN de contrôle interne **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 contrôle sans matrice **No Template Control** au mélange maître pré-pipeté.

Remarque : si l'ADN de contrôle interne **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 l'ADN de contrôle interne **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 ADN RIDA[®]GENE et ARN RIDA[®]GENE 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® 480II	stx2	465/510	Le RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire
	ICD	533/580	
	stx1	533/610	
	eae	618/660	
Roche LightCycler® 480 z	stx2	465/510	Le RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire
	ICD	540/580	
	stx1	540/610	
	eae	610/670	
ABI 7500	stx2	FAM	Vérifier que l'option de référence passive ROX n'est pas sélectionnée
	ICD	VIC	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	stx2	FAM	Vérifier que le colorant de référence n'est pas précisé
	ICD	HEX	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	stx2	Vert	Les paramètres de gain doivent être réglés sur 5, conformément aux paramètres par défaut
	ICD	Jaune	
	stx1	Orange	
	eae	Rouge	
Bio-Rad CFX96™	stx2	FAM	-
	ICD	VIC	
	stx1	ROX	
	eae	Cy5	

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, figures 1, 2 et 3) 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
Positive control	Positif	S/O *1	Voir Certificat d'assurance qualité
Negative control	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

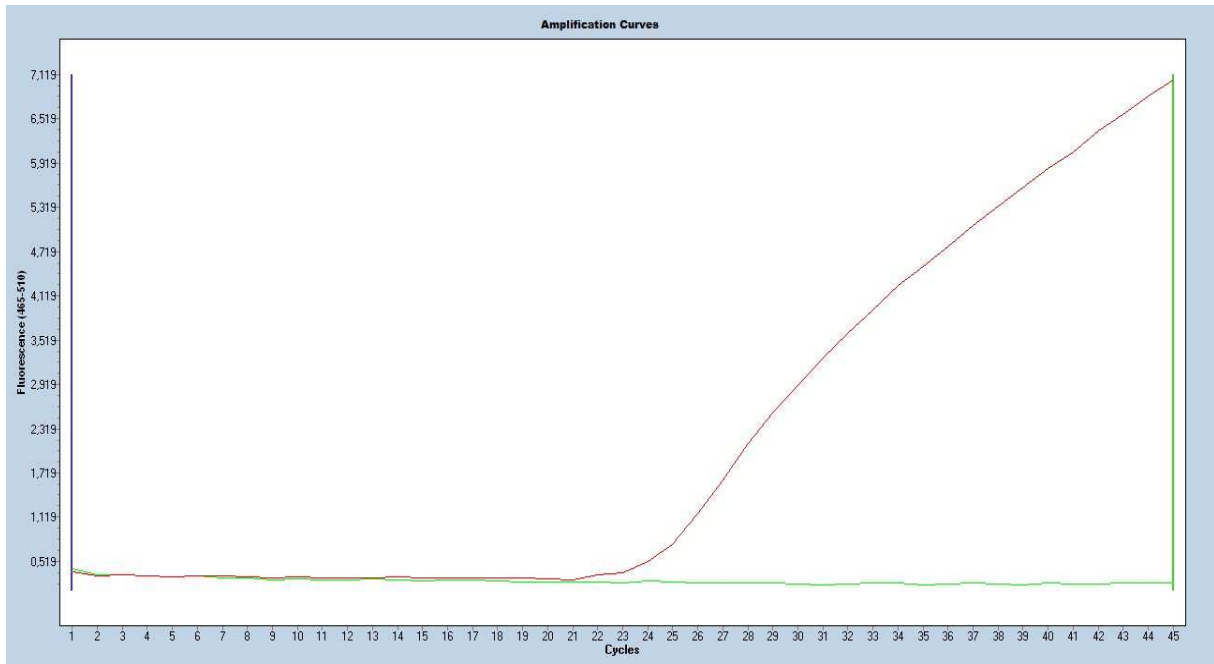


Figure 1 : Exécution correcte des contrôles positif et négatif (stx2) sur le LightCycler® 480II

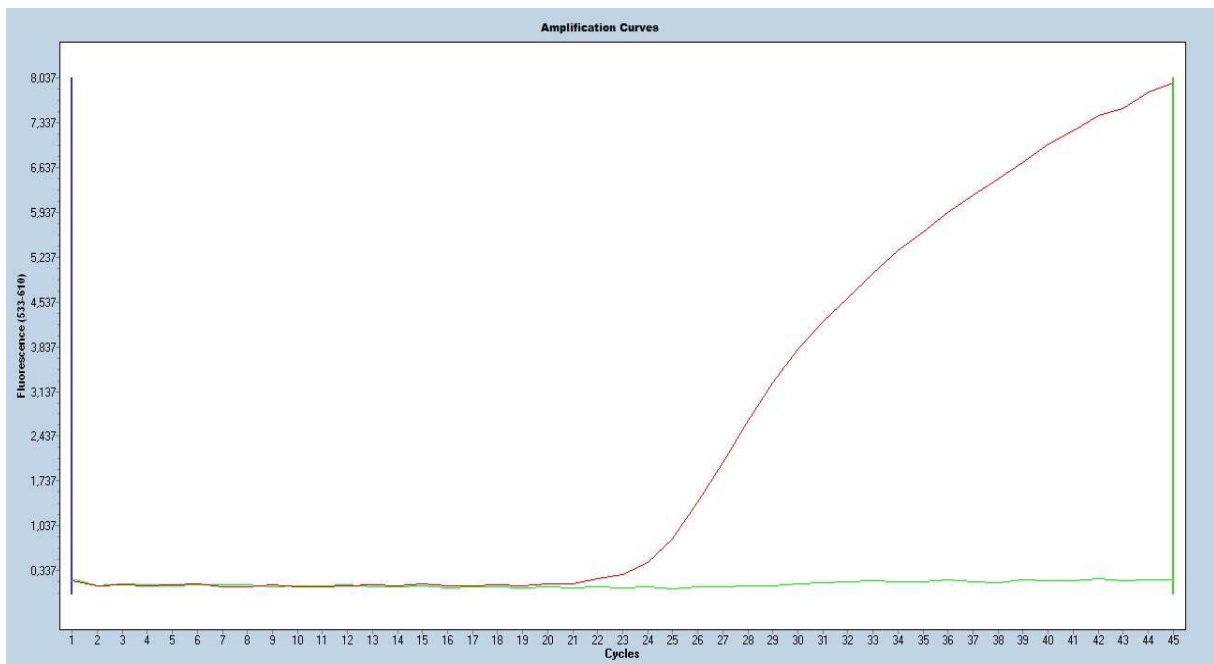


Figure 2 : Exécution correcte des contrôles positif et négatif (stx1) sur le LightCycler® 480II

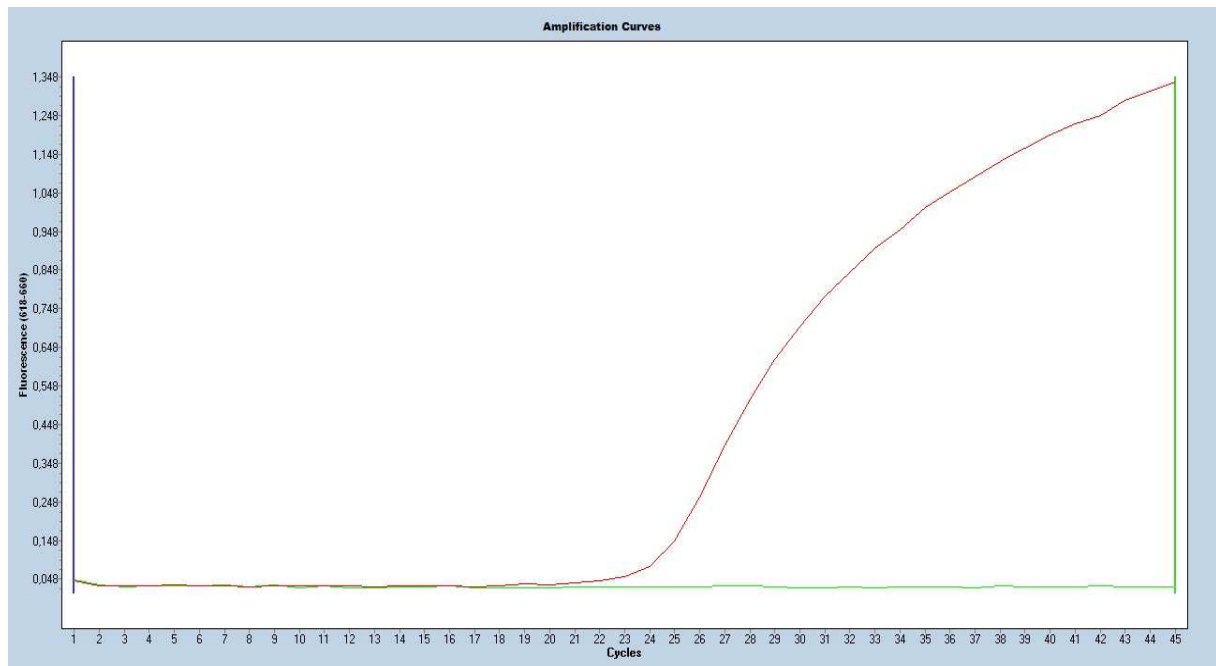


Figure 3 : Exécution correcte des contrôles positif et négatif (eae) sur le LightCycler® 480II

11. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 11.

Tableau 11 : Interprétation des échantillons

Gènes des facteurs de virulence			ICD	Résultat
stx2	stx1	eae	ICD	Résultat
positif	négatif	négatif	positif/négatif	Détection de STEC (EHEC)
négatif	positif	négatif	positif/négatif	Détection de STEC (EHEC)
positif	positif	négatif	positif/négatif	Détection de STEC (EHEC)
négatif	négatif	positif	positif/négatif	Détection d'EPEC
positif	positif	positif	positif/négatif	Détection d'EHEC
positif	négatif	positif	positif/négatif	Détection d'EHEC
négatif	positif	positif	positif/négatif	Détection d'EHEC
négatif	négatif	négatif	positif	Gènes cibles non détectés
négatif	négatif	négatif	négatif	Non valide

Conformément à la loi allemande relative à la protection contre les Infections (IfSG), les EHEC sont les STEC (*E. coli* produisant la toxine de Shiga) qui sont pathogènes pour l'être humain. Étant donné qu'il n'existe aucune définition spécifique pour les STEC pathogènes pour l'être humain, **chaque** STEC doit être considérée potentiellement comme une EHEC⁵.

Un échantillon est estimé positif si l'échantillon d'ADN et le Internal Control DNA présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

Un échantillon est également estimé positif 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.

Un échantillon est également estimé négatif 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 de l'ADN du contrôle interne 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 E. coli Stool Panel I.
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 (stx1, stx2 et eae).

13. Performances

13.1 Sensibilité analytique

La limite de détection du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA® GENE E. coli Stool Panel I est ≥ 10 copies d'ADN par réaction pour stx2, stx1 et eae, respectivement.

Les figures 4, 5 et 6 suivantes montrent les séries de dilution de stx2, stx1 et eae (10^5 - 10^1 copies d'ADN par μl chacune) avec le LightCycler® 480II.

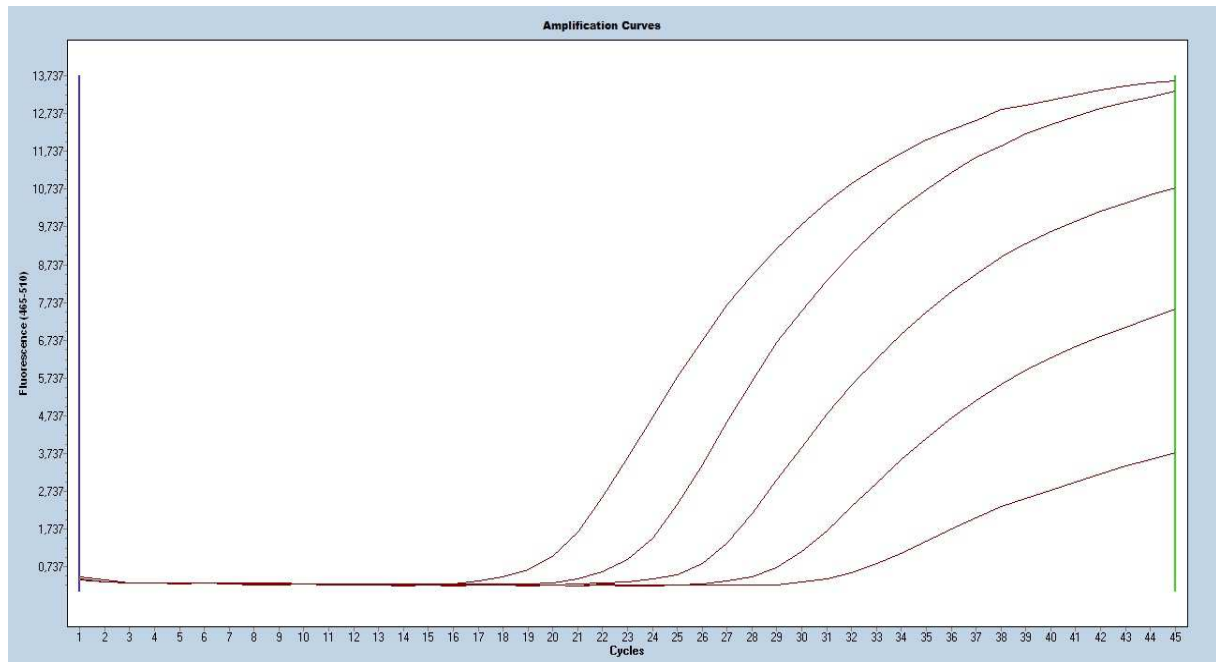


Figure 4 : Série de dilutions du gène stx2 de la toxine Shiga (10^5 – 10^1 copies d'ADN/ μl) avec le LightCycler® 480II

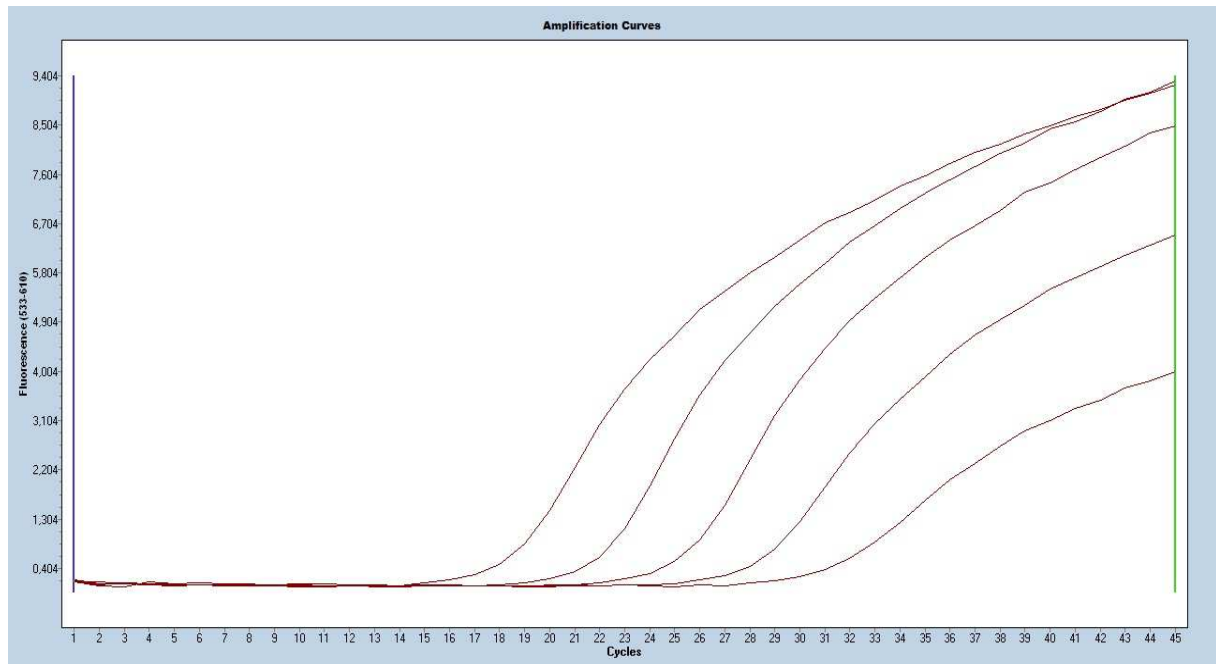


Figure 5 : Série de dilutions du gène stx1 de la toxine Shiga ($10^5 - 10^1$ copies d'ADN/ μ l) avec le LightCycler® 480II

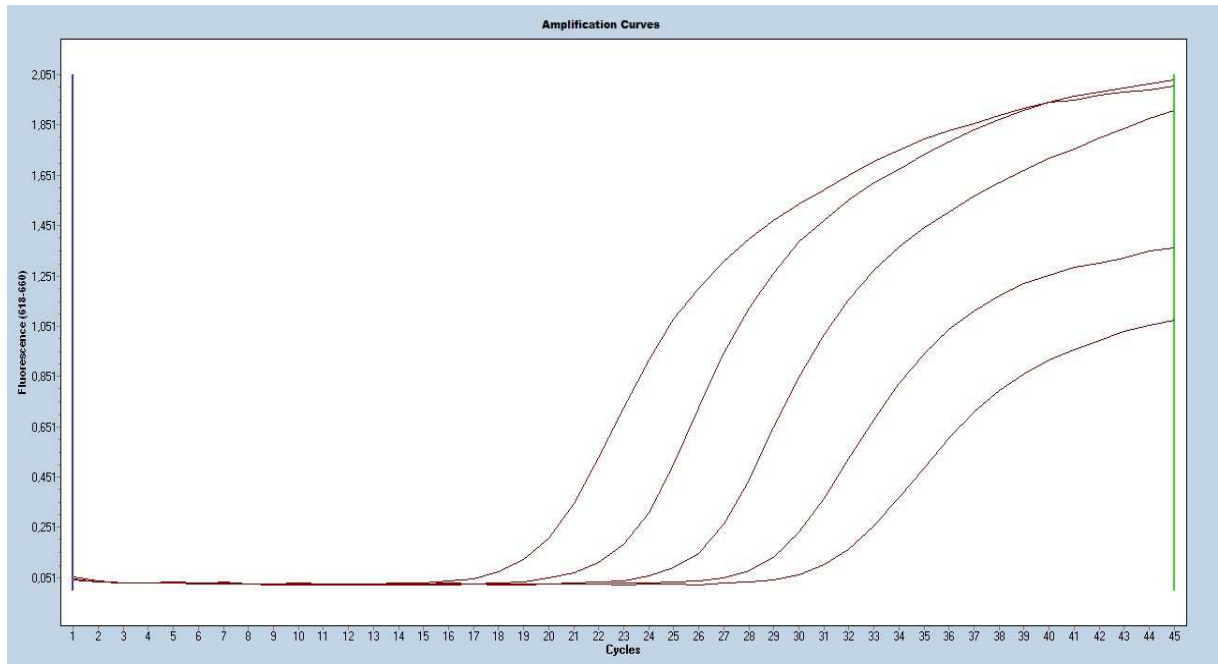


Figure 6 : Série de dilutions du gène eae ($10^5 - 10^1$ copies d'ADN/ μ l) avec le LightCycler® 480II

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 RIDAGENE® GENE E. coli Stool Panel I est spécifique pour stx1, stx2 et eae. Aucune réaction croisée n'a pu être détectée pour les espèces suivantes (voir tableau 13) :

Tableau 13 : Test de la réactivité croisée

Adénovirus 1, humain, souche Adénoïde 71	-	<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
Adénovirus 7, humain, souche Gomen	-	<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Adénovirus 40, humain, souche Dugan	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	Rotavirus	-
Adénovirus 41, humain, souche 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 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> subsp. <i>fetus</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	Norovirus GG II	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-				

13.3 Réactivité analytique

La réactivité du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA[®]GENE E. coli Stool Panel I a été testée par rapport aux sous-types du gène *stx1* et *stx2* (voir tableau 14). Les sous-types de *stx1* et *stx2* ont été détectés par le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA[®]GENE E. coli Stool Panel I :

Tableau 14 : Test de la réactivité analytique










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

14. Historique des versions

Numéro de version	Chapitre et désignation
2016-05-27	Version pour la publication
2018-06-08	Révision générale
2018-06-08	4. Contenu du paquet 6. Autres réactifs et matériel nécessaires 9. Réalisation du test 10. Contrôle qualité 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

Sans objet

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. *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.