

## RIDA® UNITY EHEC/EPEC

**REF** UN2205



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstrasse 17, 64297 Darmstadt, Germania

+49 (0) 61 51 81 02-0 / +49 (0) 61 51 81 02-20 / [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)



## 1. Utilizare preconizată

Se utilizează pentru diagnosticare *in vitro*. Testul RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC, efectuat pe platforma RIDA<sup>®</sup>UNITY, este un test PCR multiplex în timp real pentru detectarea calitativă directă a ADN-ului pentru factorii de virulență ai EHEC, STEC, EPEC și EIEC/*Shigella* spp. în probe coprologice umane netratate și în probe de cultură de la persoane cu semne și simptome de gastroenterită acută.

Testul RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC este conceput să susțină diagnosticul diferențial al infecțiilor cu *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC și EIEC/*Shigella* spp.) la pacienții care prezintă simptome de gastroenterită, împreună cu alte constatări clinice și de laborator.

Rezultatele negative nu exclud infectarea cu *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC, or EIEC/*Shigella* spp.) și nu trebuie folosite ca bază unică de diagnosticare.

Produsul este destinat doar utilizării profesionale.

## 2. Scurtă prezentare și explicare a testului

Bolile diareice constituie probleme de sănătate importantă, în lume înregistrându-se anual circa 1,7 miliarde de cazuri în rândul copiilor.<sup>(1)</sup> Potrivit Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), aceste boli, soldate anual cu aproximativ 525.000 de decese, reprezintă cea de-a doua cauză a decesului la copiii sub vârsta de 5 ani, mai ales în țările în curs de dezvoltare.<sup>(1)</sup> *Escherichia coli* reprezintă unul dintre cei mai comuni agenți patogeni bacterieni ai bolilor diareice.<sup>(2)</sup>

*E. coli* este o bacterie Gram-negativă, cu fermentare a lactozei, cu motilitate și care aparține familiei *Enterobacteriaceae*. Este un organism care locuiește în mod normal în tractul gastrointestinal, dar poate provoca și boli diareice cu morbiditate și mortalitate ridicată la copii, în special în țările în curs de dezvoltare. Pe baza caracteristicilor de virulență, a epidemiologiei și a manifestărilor clinice ale bacteriei, au fost identificate următoarele clase de *E. coli* diareice: *E. coli* enteropatogenă (EPEC), *E. coli* enterotoxigenă (ETEC), *E. coli* enterohemoragică (EHEC), *E. coli* enteroinvazivă (EIEC) și *E. coli* enteroagregantă (EAEC). Toate aceste patotipuri diareogene de *E. coli* pot fi transmise pe cale fecală-orală.<sup>(3)</sup>

Dintre *E. coli* patogene intestinale, *E. coli* enterohemoragice (EHEC) au căpătat o importanță deosebită. Reprezintă un subgrup al *E. coli* producătoare de toxină Shiga sau verotoxină (STEC sau VTEC, respectiv). Patogenitatea bacteriilor STEC poate fi urmărită după capacitatea lor de a coloniza intestinul prin aderarea la celulele epiteliale intestinale. După colonizare, bacteriile pot produce două citotoxine, verotoxina 1 și 2. Datorită asemănării verotoxinelor cu toxina Shiga a *Shigella dysenteriae*, VTEC sunt denumite și STEC. Alți factori importanți de diagnosticare a patogenității EHEC nu sunt doar *stx1/stx2* (genele toxinei Shiga), ci și gena *eae* (gena de atașare și eliminare a *E. coli*), care codifică intimina, proteina membranară. Această proteină membranară este responsabilă de aderarea agentului patogen la celulele epiteliale intestinale.<sup>(4)</sup> Simptomele clinice care pot fi cauzate de EHEC/STEC la om variază de la diaree cu sânge până la sindrom hemolitic uremic

(HUS).<sup>(2, 5)</sup> Sursele de infecție sunt în principal alimentele contaminate, în timp ce mai puțin de 1000 de bacterii sunt suficiente pentru a provoca o infecție EHEC/STEC. Cel mai grav focar alimentar cauzat de STEC în Germania până în prezent s-a înregistrat în 2011. Acest focar a provocat 3816 infecții STEC identificate și 54 de decese, dintre care 32 au fost asociate cu HUS.<sup>(5)</sup>

*E. coli* enteropatogenă (EPEC) este cunoscută ca o cauză a bolilor diareice pediatrice, în special în țările în curs de dezvoltare.<sup>(3)</sup> EPEC se deosebește de EHEC prin absența toxinelor Shiga.<sup>(3)</sup> Cele mai frecvente simptome asociate cu o infecție cu EPEC sunt diareea apoasă, durerile abdominale, greața, vărsăturile și febra, în timp ce doza infecțioasă la adulții sănătoși este de aproximativ  $10^8$  organisme.<sup>(5)</sup>

*E. coli* enteroinvaziv (EIEC) și *Shigella* spp. provoacă, de asemenea, boli diareice în întreaga lume, în special în țările în curs de dezvoltare. Ambele sunt bacterii Gram-negative care sunt strâns legate între ele din punct de vedere biochimic și genetic.<sup>(6)</sup> Patogenitatea EIEC și *Shigella* spp. se bazează pe invazia intermediată de plasmide în celulele epiteliale intestinale și pe distrugerea acestora. Producția genei antigenului plasmidic de invazie H (*ipaH*) sunt responsabili pentru acest proces. Această genă este relevantă pentru detecția EIEC/*Shigella* spp., ceea ce face posibilă deosebirea acestui patogen de EHEC. Se consideră că focarele de infecții cu EIEC/*Shigella* spp. sunt cauzate în principal de alimente și se manifestă prin diaree, dureri abdominale, greață și febră.<sup>(6)</sup>

### 3. Principiul testului

RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC este un PCR multiplex în timp real pentru detectarea calitativă directă și diferențierea genelor pentru factorii de virulență ai EHEC, STEC, EPEC și EIEC/*Shigella* spp. în probe coprologice umane sau de cultură.

Procesarea cu sistemul RIDA<sup>®</sup>UNITY este complet automată. În primul rând, acizii nucleici sunt extrași cu ajutorul RIDA<sup>®</sup>UNITY Universal Extraction Kit și Internal Control Kit.

Secvența țintă este detectată întotdeauna într-un format RT-PCR în timp real într-un singur pas (chiar și în cazul testelor ADN), adică transcripția inversă (RT) și, ulterior, PCR au loc în același flacon de reacție. În cadrul acestui proces, ARN-ul izolat (dacă există) este transcris în ADNc cu ajutorul transcriptazei inverse. Fragmentele genetice specifice ale factorilor de virulență *stx1/stx2*, *eae* și *ipaH* sunt apoi amplificate prin PCR în timp real.

Secvențele țintă amplificate sunt detectate folosindu-se probe de hidroliză marcate cu un stingător la un capăt și cu un raportor colorant fluorescent (fluorofor) la celălalt. Probele hibridizează la amplicon în prezența unei secvențe țintă. În timpul extensiei, polimeraza Taq separă raportorul de stingător. Raportorul emite un semnal fluorescent, care este detectat de unitatea optică a unui instrument PCR în timp real. Semnalul fluorescent crește odată cu cantitatea de ampliconi formați. RIDA<sup>®</sup>UNITY Internal Control Kit trebuie utilizat simultan, pentru a putea să verifice pregătirea probei și/sau eventuala inhibare a PCR.

#### 4. Reactivi furnizați

Reactivii din trusă sunt suficienți pentru 96 de determinări\*.

**Tab. 1:** Reactivi furnizați

REF	Reactiv	Cantitate		Culoare
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1935 μL	galben, gata de utilizare
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 μL	roșu, gata de utilizare
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 μL	albastru, gata de utilizare
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 μL	alb, gata de utilizare

\*În cazul utilizării repetate și al seriilor mai mici, numărul maxim de reacții poate fi mai mic.

#### 5. Instrucțiuni de depozitare

- Vă rugăm să urmați instrucțiunile de manipulare din Tabelul 2 și să păstrați trusa după utilizare conform informațiilor specificate.
- Toți reactivii trebuie păstrați într-un loc ferit de lumină, la o temperatură între -16 °C și -28 °C. Dacă ambalajul nu a fost deschis, pot fi utilizați până la data expirării imprimată pe etichetă. Garanția de calitate nu mai este valabilă după data expirării.
- Toți reactivii trebuie decongelați cu atenție înainte de utilizare (de exemplu, într-un frigider, la 2 - 8 °C).
- Congelarea și decongelația repetată de până la 8 ori nu afectează proprietățile testului.

**Tab. 2:** Condiții și informații pentru depozitare

	Temperatura de depozitare	Durata maximă de depozitare
nedeschis	-16 °C la -28 °C	Se poate utiliza doar până la data expirării
deschis	-16 °C la -28 °C	8 de cicluri de congelare-decongelare

## 6. Reactivi necesari care nu sunt furnizați

Testul RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR este destinat exclusiv utilizării cu sistemul RIDA®UNITY. Pentru utilizarea corectă, sunt absolut necesare următoarele produse:

### 6.1 Reactivi

Pentru efectuarea testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC, sunt necesari următorii reactivi:

Reactivi	Numărul articolului
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

### 6.2 Echipamente de laborator

Pentru efectuarea testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC, sunt necesare următoarele echipamente:

Echipament
Sistemul RIDA®UNITY; număr articol: ZUNITY (R-Biopharm AG)
Consumabile RIDA®UNITY (vârfuri, plăci, flacoane de reacție, pelicule). Consultați instrucțiunile de utilizare pentru sistemul RIDA®UNITY și informațiile pentru comandarea consumabilelor.
Agitator
Centrifugă de masă
Mănuși de unică folosință, fără pudră de talc
Ciclor extern (posibilă îmbunătățire a sistemului)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

Kitul RIDA®UNITY EHEC/EPEC poate fi utilizat împreună cu alte cicloare compatibile. Instrumentele PCR în timp real alternative trebuie verificate/validate de către utilizator. Pentru verificarea compatibilității, contactați R-Biopharm AG la [pcr@r-biopharm.de](mailto:pcr@r-biopharm.de).

## 7. Avertismente și măsuri de precauție pentru utilizatori

Se utilizează pentru diagnosticare *in vitro*.

Acest test trebuie efectuat doar de personal de laborator calificat. Trebuie respectate regulile de lucru ale laboratoarelor medicale.

Respectați întotdeauna cu strictețe manualul de utilizare atunci când efectuați acest test.

Nu picurați cu pipeta probe sau reactivi folosind gura. Evitați contactul cu leziuni ale pielii și mucoase.

Purtați echipament de protecție personală (mănuși adecvate, halat de laborator, ochelari de protecție) când manipulați reactivii și probele. Spălați-vă pe mâini după finalizarea testului.

Nu fumați, nu mâncați și nu beți în zonele în care sunt manipulate probele.

Evitați contaminarea probelor și a componentelor trusei cu microbi și nucleaze (deoxiribonucleaza/ribonucleaza).

Probele clinice trebuie considerate ca potențial infecțioase și trebuie aruncate în mod corespunzător, la fel ca toți reactivii și materialele care vin în contact cu probele potențial infecțioase.

Nu schimbați sau amestecați componentele (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) unui kit dintr-un lot cu componente ale altui lot.

Kitul de testare poate fi utilizat timp de 8 săptămâni de la prima deschidere (kitul poate fi reîncărcat de până la 6 ori). Nu utilizați trusa de testare după data expirării.

Aceste specificații sunt verificate și de sistemul RIDA®UNITY.

Utilizatorii sunt responsabili pentru eliminarea corectă a tuturor reactivilor și materialelor după utilizare. Respectați reglementările naționale privind aruncarea deșeurilor.

Mai multe detalii despre Fișa cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) pot fi găsite sub numărul articolului la <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Pentru utilizatorii din Uniunea Europeană: Raportați toate evenimentele adverse grave asociate produsului către R-Biopharm AG și autoritățile naționale competente.

Rezumatul normelor de siguranță și performanță (SSP) pentru acest produs va fi disponibil pe <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> când va fi creată Baza de date europeană a dispozitivelor medicale (EUDAMED). În această bază de date, căutați dispozitivul după codul UDI-DI, aflat pe ambalajul exterior.

## 8. Colectarea și stocarea probelor

Pentru obținerea unei performanțe optime a testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC, se recomandă utilizarea unei probe proaspăt colectate.

Evitați să congelați și să decongelați proba în mod repetat.

Nu colectați probele coprologice în recipiente de transport care conțin medii de transport cu conservanți sau fixatori, seruri animale, ioni de metale, agenți oxidanți sau detergenți, deoarece astfel de substanțe pot interfera cu testele RIDA®UNITY.

Se recomandă producerea unor alicote din probe, pentru a se evita decongelarea și recongelarea repetată a probelor. Probele congelate trebuie decongelate imediat înainte de extracție, pentru a se evita degradarea acizilor nucleici.

Urmați instrucțiunile de stocare a probelor din Tabelele 3 până la 6.

**Tab. 3:** Stocare probe - detecție EHEC

Probe originale - coprologice		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 zile	≤ 7 zile	≤ 6 luni

Probe originale - cultură		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 zi	≤ 1 zi	-

În eluat (din scaun sau cultură)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 ore	≤ 36 ore	≤ 7 zile

Dacă proba coprologică este păstrată la -20 °C / -80 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de cel mult 5 ori nu afectează proprietățile testului.

Dacă eluatul (din scaun sau cultură) se păstrează la -20 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de 3 ori nu afectează proprietățile testului.

Nu creșteți culturi din probe coprologice congelate anterior, deoarece congelarea afectează grav caracteristicile de creștere ale agenților patogeni și acest lucru poate provoca rezultate fals-negative.

**Tab. 4:** Stocare probe - detecție STEC

<b>Probe originale - coprologice</b>		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 zile	≤ 7 zile	≤ 6 luni

<b>Probe originale - cultură</b>		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 zi	≤ 1 zi	-

<b>În eluat (din scaun sau cultură)</b>		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 ore	≤ 36 ore	≤ 7 zile

Dacă proba coprologică este păstrată la -20 °C / -80 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de cel mult 5 ori nu afectează proprietățile testului.

Dacă eluatul (din scaun sau cultură) se păstrează la -20 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de 3 ori nu afectează proprietățile testului.

Nu creșteți culturi din probe coprologice congelate anterior, deoarece congelarea afectează grav caracteristicile de creștere ale agenților patogeni și acest lucru poate provoca rezultate fals-negative.



**Tab. 5:** Stocare probe - detecție EPEC

Probe originale - coprologice		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 zile	≤ 7 zile	≤ 6 luni

Probe originale - cultură		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 zi	≤ 1 zi	-

În eluat (din scaun sau cultură)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 ore	≤ 36 ore	≤ 7 zile

Dacă proba coprologică este păstrată la -20 °C / -80 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de cel mult 5 ori nu afectează proprietățile testului.

Dacă eluatul (din scaun sau cultură) se păstrează la -20 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de 3 ori nu afectează proprietățile testului.

Nu creșteți culturi din probe coprologice congelate anterior, deoarece congelarea afectează grav caracteristicile de creștere ale agenților patogeni și acest lucru poate provoca rezultate fals-negative.

**Tab. 6:** Stocare probe - detecție EIEC/*Shigella* spp.

Probe originale - coprologice		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 zi	≤ 7 zile	≤ 6 luni

Probe originale - cultură		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 1 zi	-

În eluat (din scaun sau cultură)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 ore	≤ 36 ore	≤ 7 zile

Dacă proba coprologică este păstrată la -20 °C / -80 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de cel mult 5 ori nu afectează proprietățile testului.

Dacă eluatul (din scaun sau cultură) se păstrează la -20 °C, congelarea/decongelarea sa repetată de 3 ori nu afectează proprietățile testului.

Nu creșteți culturi din probe coprologice congelate anterior, deoarece congelarea afectează grav caracteristicile de creștere ale agenților patogeni și acest lucru poate provoca rezultate fals-negative.

### **8.1 Pregătirea ADN-ului din probele coprologice și de cultură**

Pentru izolarea ADN-ului din probe coprologice și de cultură, utilizați RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Urmăți procedurile directe din instrucțiunile de utilizare pentru RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (Secțiunea: Pregătirea acidului nucleic din probele coprologice; Secțiunea: Pregătirea acidului nucleic din probele de cultură).

## **9. Procedura de testare**

Pentru a începe, plasați atât probele, cât și reactivii din kitul RIDA®UNITY EHEC/EPEC pe sistemul RIDA®UNITY.

În prealabil, amestecați bine **Reaction Mix**, **Negative Control** și **Positive Control** cu ajutorul unui agitator. Nu amestecați și **Enzyme Mix**. Apoi, centrifugați pentru scurt timp toate componentele.

Tuburile PCR pentru probele care urmează să fie examinate trebuie poziționate în prealabil în ciclul PCR integrat.

Sunt disponibile suporturi pentru încărcarea corectă a sistemului cu reactivi și consumabile. Pentru procesul de încărcare, urmați instrucțiunile privind sistemul RIDA®UNITY. Respectați secțiunile relevante din manualul sistemului RIDA®UNITY (Secțiunea: Efectuarea unei testări).

Testul RIDA®UNITY EHEC/EPEC poate fi utilizat doar împreună cu RIDA®UNITY Internal Control Kit. Astfel, este posibilă detectarea din timp a eventualei inhibări a PCR, verificarea integrității reactivilor și confirmarea extracției acidului nucleic. Procedura este descrisă în instrucțiunile de utilizare a RIDA®UNITY Internal Control Kit (Secțiunea: Procedura de testare).

Procesarea automată este descrisă în manualul sistemului RIDA®UNITY (Secțiunea: Efectuarea unei testări).

## 9.1 Setările dispozitivului

### 9.1.1 Profilul universal al PCR în timp real

Pentru armonizarea testelor RIDA®UNITY, testul RIDA®UNITY EHEC/EPEC a fost verificat exclusiv în profilul universal. Acest lucru face posibilă combinarea testelor ADN și ARN între ele. În general, transcrierea inversă are loc prima în profilul universal.

**Tab. 7:** Profilul universal PCR în timp real pentru RIDA®UNITY

<u>Transcriere inversă</u>	10 min., 58 °C
Denaturare inițială	1 min., 95 °C
Cicluri	45 de cicluri
<u>PCR</u> Denaturare	10 s, 95 °C
Revenire/extensie	15 s, 60 °C
Rata de tranziție a temperaturii/ rata de creștere	Durata de depozitare

**Notă:** Revenirea și extensia au loc în aceeași etapă.

**Tab. 8:** Profilul universal al PCR în timp real pentru CFX96™ Dx

<u>Transcriere inversă</u>	10 min., 58 °C
Denaturare inițială	1 min., 95 °C
Cicluri	45 de cicluri
<u>PCR</u> Denaturare	15 s, 95 °C
Revenire/extensie	30 s, 60 °C
Rata de tranziție a temperaturii/ rata de creștere	Durata de depozitare

**Notă:** Revenirea și extensia au loc în aceeași etapă.

## 9.2 Setarea canalului de detecție

Tab. 9: Selectarea canalelor de detecție adecvate

Instrument PCR în timp real	Detecție	Canal detecție	Notă
<b>R-Biopharm RIDA®UNITY</b>	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK canal stx
	Martor intern	HEX	SEEK canal ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK canal ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK canal eae
<b>Bio-Rad CFX96™ Dx</b>	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK canal stx
	Martor intern	VIC	SEEK canal ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK canal ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK canal eae

## 10. Controlul calității - indicarea instabilității sau expirării reactivilor

Probele sunt evaluate cu ajutorul software-ului de analiză RIDA®SEEK al sistemului RIDA®UNITY. **Negative Control** și **Positive Control** trebuie să arate rezultatele corecte (consultați Tab. 9).

**Positive Control** este disponibil într-o concentrație de  $10^3$  exemplare/ $\mu\text{L}$ . Se utilizează într-o cantitate totală de  $5 \times 10^3$  exemplare la fiecare serie PCR.

**Negative Control** conține deja RIDA®UNITY Internal Control. Întrucât martorii nu conțin un șablon, nu trebuie să se anticipeze semnale în canalele țintă. Semnalele pozitive în canalul IC cu care este detectat martorul intern sunt esențiale (consultați Tab. 10).

**Tab.10:** O testare PCR validă trebuie să îndeplinească următoarele condiții:

Probă	Rezultat	Ct IC	Ct genă țintă
Martor pozitiv	+	Nu se aplică*	Consultați Certificate of Analysis
Martor negativ	-	Ct > 20	0

\*În anumite circumstanțe, canalul IC poate avea un semnal pozitiv pentru martorul pozitiv și, prin urmare, nu trebuie evaluat.

Dacă martorul pozitiv nu este în intervalul Ct specificat, dar martorul negativ este valid, este necesară reanalizarea în PCR a tuturor reacțiilor, inclusiv a martorilor.

Dacă martorul negativ nu este negativ, dar martorul pozitiv este valid, este necesară reanalizarea în PCR a tuturor reacțiilor, inclusiv a martorilor.

Dacă valorile specificate nu sunt atinse, verificați următoarele aspecte înainte de a repeta testul:

- Data expirării reactivilor utilizați;
- Funcționalitatea echipamentului utilizat;
- Corectitudinea procedurii de testare;

Dacă, după repetarea testului, condițiile tot nu sunt îndeplinite, adresați-vă producătorului sau distribuitorului R-Biopharm local.

## 11. Evaluare și interpretare

Evaluarea și interpretarea probei se efectuează cu ajutorul software-ului de analiză a sistemului RIDA®UNITY, RIDA®SEEK.

Nu există în prezent o metodă de referință recunoscută la nivel internațional sau un material de referință pentru standardizare. Materialele de control pot fi urmărite metrologic în comparație cu standardele interne R-Biopharm AG cu ajutorul unor ampliconi ADN specifici.

Pentru informații suplimentare despre trasabilitatea metrologică, vă rugăm să contactați R-Biopharm AG.

Valorile specificate, fluctuațiile și alte detalii pot fi găsite în Certificatul de analiză (Certificate of Analysis, CoA).

**Tab.11:** Interpretarea rezultatului\*

S-a detectat				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Rezultat
+	-	-	+/-	STEC (EHEC) detectabilă
-	+	-	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. detectabilă
-	-	+	+/-	EPEC detectabilă
+	+	-	+/-	STEC(EHEC) și EIEC/ <i>Shigella</i> spp. detectabile
+	-	+	+/-	EHEC detectabilă
-	+	+	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. EPEC detectabile
+	+	+	+/-	EHEC și EIEC/ <i>Shigella</i> spp. detectabile
-	-	-	+	Genele țintă nedetectabile
-	-	-	-	Nevalid

\*+= pozitiv  
- = negativ

Legea privind protecția împotriva infecțiilor (IfSG) descrie EHEC ca fiind *E. coli* producătoare de toxină Shiga (STEC), care reprezintă agenți patogeni pentru om. Deoarece în acest moment nu se poate stabili o definiție exactă a STEC patogene pentru om, **fiecare** STEC este considerată o potențială ECEH.<sup>(5)</sup>

O probă este considerată pozitivă dacă ADN-ul acesteia și Internal Control arată un semnal de amplificare în sistemul de detecție.

O probă este, de asemenea, pozitivă dacă ADN-ul acesteia arată un semnal de amplificare, dar nu poate fi văzut niciun semnal de amplificare

pentru **Internal Control** în sistemul de detecție. Detecția **Internal Control** nu este necesară în acest caz, deoarece concentrațiile mari de amplicon pot produce un semnal slab sau absent de la **Internal Control**.

O probă este considerată negativă dacă ADN-ul acesteia nu arată un semnal de amplificare, dar se vede un semnal de amplificare pentru **Internal Control** în sistemul de detecție. Inhibarea reacției PCR și a extracției anterioare poate fi exclusă prin detecția de **Internal Control**.

O probă este nevalidă dacă ADN-ul acesteia și **Internal Control** nu arată niciun semnal de amplificare în sistemul de detecție. Inhibitorii sunt prezenți în probă sau a apărut o eroare în timpul procesului de extracție.

## 12. Limitări ale metodei

1. Testul RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC detectează ADN-ul pentru factorii de virulență ai EHEC, STEC, EPEC și EIEC/*Shigella* spp. în probe coprologice umane netratate și în probe de cultură. Nu înseamnă, însă, că există o corelație între valoarea Ct determinată și apariția simptomelor clinice severe. Rezultatele obținute trebuie interpretate întotdeauna în combinație cu simptomele clinice complete.
2. Diagnosticul nu trebuie să se bazeze doar pe rezultatul analizei biologice moleculare, ci trebuie să ia întotdeauna în considerare istoricul medical și simptomele pacientului.
3. Acest test este aprobat doar pentru procesarea automată cu ajutorul sistemului RIDA<sup>®</sup>UNITY.
4. Acest test este verificat doar pentru probe coprologice și de cultură.
5. Atunci când se utilizează matricea de cultură, nu transferați mediul de cultură în reacția PCR, deoarece acest lucru poate duce la posibile interferențe.
6. Prelevarea, transportul, depozitarea și manipularea necorespunzătoare sau o cantitate de patogen prea mică pentru sensibilitatea analitică a testului pot determina rezultate fals negative.
7. Prezența inhibitorilor PCR poate duce la rezultate fals negative sau nevalide.
8. Ca în cazul tuturor testelor de diagnosticare *in vitro* bazate pe PCR, pot fi detectate concentrații extrem de scăzute ale secvențelor țintă, aflate sub limita de detecție (LoD 95 %). Rezultatele obținute nu sunt întotdeauna reproductibile.
9. Mutațiile sau polimorfismele din locurile de pregătire a amestecului sau a probei pot împiedica detecția unor variante noi sau necunoscute și pot determina rezultate fals negative ale RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC.
10. Un rezultat pozitiv al testului nu indică neapărat prezența unor organisme viabile. Un rezultat pozitiv semnalează prezența genelor țintă (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae*; și EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*).
11. Acest test trebuie efectuat în conformitate cu regulamentul privind bunele practici de laborator (BPL). Utilizatorii trebuie să urmeze cu strictețe instrucțiunile producătorului atunci când efectuează testul.



### 13. Caracteristici de performanță

#### 13.1 Caracteristici de performanță clinică

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR a fost comparat într-un laborator extern cu un test de referință marcat CE pe baza a 276 de probe coprologice de la pacienți cu simptome de infecție gastrointestinală.

Rezultatele arată o sensibilitate și o specificitate foarte ridicate în ceea ce privește detectarea factorilor de virulență ai EHEC, STEC, EPEC și EIEC/*Shigella* spp. cu ajutorul kitului RIDA®UNITY EHEC/EPEC.

**Tab. 12:** Detecția *stx1/2* - probe coprologice

		PCR referință		Total
		Pozitiv	Negativ	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Pozitiv	122	0	122
	Negativ	5	149	154
	Total	127	149	276

Sensibilitate relativă (95 % CI)	96,1 % (91,1 % - 98,7 %)
Specificitate relativă (95 % CI)	100 % (97,6 % - 100 %)

**Tab. 13:** Detecția *ipaH* - probe coprologice

		PCR referință		Total
		Pozitiv	Negativ	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Pozitiv	65	0	65
	Negativ	0	211	211
	Total	65	211	276

Sensibilitate relativă (95 % CI)	100 % (94,5 % - 100 %)
Specificitate relativă (95 % CI)	100 % (98,3 % - 100 %)

**Tab. 14:** Detecția *eae* - probe coprologice

		PCR referință		Total
		Pozitiv	Negativ	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>eae</i>	Pozitiv	179	0	179
	Negativ	4	93	97
	Total	183	93	276

Sensibilitate relativă (95 % CI)	97,8 % (94,5 % - 100 %)
Specificitate relativă (95 % CI)	100 % (96,1 % - 100 %)

## 13.2 Caracteristici de performanță analitică

### 13.2.1 Limita de detecție (LoD 95 %)

Pentru determinarea LoD, a fost măsurată o probă de control pozitivă (probe coprologice negative, cu vârfuri sau folosind o probă de cultură) în cinci pași de diluție (la intervale de 0,25) pentru fiecare țintă cu 20 de replici per pas în același lot. Apoi, a urmat o analiză probit. Apoi, LoD calculată a fost confirmată cu 20 de replici per țintă pentru etapa/concentrația de diluție calculată.

Pentru testare, au fost folosite următoarele tulpini:

- *stx1/stx2*: *Escherichia coli* D3509 (LoD pentru *stx2* a fost determinată deoarece *stx2* este asociat cu sindromul hemolitic uremic.)
- *ipaH*: *Escherichia coli* Fr1368
- *eae*: *Escherichia coli* DSM8695

Pentru detectarea ADN-ului EHEC, STEC, EPEC și EIEC/*Shigella* spp. cu ajutorul testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC pe sistemul UNITY, au fost stabilite următoarele limite de detecție (LoD).

Rezultatele acestor măsurători sunt prezentate în Tabelul 15.

**Tab. 15:** Rezultatele limitei de detecție a testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC pentru țintele *stx1/2*, *ipaH* și *eae*.

	Matrice	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Probă coprologică	476.000 CFU/mL	5.300 CFU/mL	125.000 CFU/mL
	Cultură	2.130 CFU/mL	798 CFU/mL	2.890 CFU/mL

\*CFU: Colony Forming Units (Unități formare colonie)

LoD stabilită pentru *stx1/2* din probele coprologice a fost de 476.000 CFU/mL.

LoD stabilită pentru *ipaH* din probele coprologice a fost de 5.300 CFU/mL.

LoD stabilită pentru *eae* din probele coprologice a fost de 125.000 CFU/mL.

LoD stabilită pentru *stx1/2* din probele de cultură a fost de 2.130 CFU/mL.

LoD stabilită pentru *ipaH* din probele de cultură a fost de 798 CFU/mL.

LoD stabilită pentru *eae* din probele de cultură a fost de 2.890 CFU/mL.

Pentru fluxul de lucru îmbunătățit care utilizează CFX96™ Dx, aceste valori LoD au fost confirmate în ipoteza în care ne menținem într-un interval LoD dublu sau triplu.

### 13.2.2 Specificitatea analitică

#### Substanțe interferente

Prezența inhibitorilor PCR și a substanțelor interferente poate conduce la rezultate fals negative sau nevalide. Prin urmare, au fost investigate posibilele efecte ale mai multor substanțe, având în vedere frecvența utilizării lor în cazul infecțiilor gastrointestinale sau a apariției lor în probele prelevate.

Substanțele care ar putea influența semnificativ rezultatele testului au fost examinate inițial la concentrații mari (triplul dozei zilnice sau simularea celui mai rău caz) într-un ecran de interferență.

Nu a fost găsită nicio interferență pentru substanțele menționate în Tabelul 16.

**Tab. 16:** Substanțe potențial interferente

Substanțe potențial interferente	Concentrație
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg, comprimate filmate (azitromicină)	0,75 % [w/v]
Sulfat de bariu	18,5 % [v/v]
Îndulcitor lichid Cologran® (zaharină + ciclamat)	1,3 % [w/v]
Sânge	5 % [v/v]
Cărbune medicinal, comprimate, 250 mg (cărbune)	6 % [w/v]
Loperamid-ratiopharm® akut (loperamid)	0,02 % [v/v]
Mucine	5 % [w/v]
Acid stearic/palmitic	40 % [w/v]

## Reacții încrucișate

Au fost investigate diferite organisme (bacterii, paraziți, fungi și virusuri) care se pot găsi, în mod obișnuit, în matricea coprologică. Microorganismele investigate pentru acest test au fost alese deoarece fie apar în mod obișnuit în probele coprologice, fie provoacă simptome corespunzătoare patogenilor gastrointestinali. Pentru analize, s-au folosit culturi bacteriene (între  $10^6$  și  $10^9$  CFU/mL), culturi fungice sau de virusuri, supernatanți din culturi de virusuri, izolați, și standarde LGC pentru organismele respective.

Testul RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR este specific pentru EHEC, STEC, EPEC și EIEC/*Shigella* spp. Nu au fost detectate reacții încrucișate cu următoarele specii (a se vedea Tab. 17):

**Tab. 17:** Organisme potențial reactive încrucișat.

Organism	Rezultat test*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenovirus 40	-	-	-
Adenovirus 41, uman, tulpina Tak	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
Astrovirus 2	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	-	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	-	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	-
<i>Clostridium bifermentans</i>	-	-	-
<i>Clostridium difficile</i>	-	-	-
<i>Clostridium novyi</i>	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-
<i>Clostridium septicum</i>	-	-	-
<i>Clostridium sordellii</i>	-	-	-
<i>Clostridium sporogenes</i>	-	-	-
<i>Cryptosporidium muris</i>	-	-	-
<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	-	-

<i>E. coli</i> (O6)	-	-	-
<i>Entamoeba histolytica</i>	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
<i>Giardia intestinalis</i> ** Portland 1	-	-	-
<i>Giardia intestinalis</i> ** WB Clona C6	-	-	-
<i>Giardia lamblia</i> **	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-
Norovirus GI	-	-	-
Norovirus GII	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-
Rotavirus	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serotip Enteritidis)	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serotip Typhimurium)	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-

\* - = negativ

\*\* *Giardia intestinalis* și *Giardia lamblia* sunt același organism.

### 13.2.3 Precizie

Precizia testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR a fost stabilită pentru nivelurile prezentate în continuare.

Precizia *Intra-test*: Testarea a 5 probe de control, de câte 20 de ori, pe RIDA®UNITY, în condiții identice.

Precizia *Inter-teste*: Testarea a 5 probe de control în 20 de serii, în dublu exemplar, în 10 zile lucrătoare (2 testări pe zi), efectuată de diferiți tehnicieni, în condiții reproductibile.

Testarea pentru stabilirea preciziei *intra-* și *inter-test* a fost efectuată folosindu-se trei loturi.

Coeficienții de variație obținuți pentru fiecare măsurare folosind testul RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR pe RIDA®UNITY și pe CFX96™ Dx au fost de 4,29 %.

**Tab. 18:** Rezultatele preciziei testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC pentru *stx1/2* din probele coprologice (sistemul RIDA®UNITY).

Ct	Valoare medie/CV	<i>Intra-test</i>			<i>Inter-test</i>			<i>Inter-lot</i>
		Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 1-3
1	Ct	27,8	27,7	27,4	27,8	27,7	27,6	27,7
	CV (%)	1,02 %	1,19 %	1,11 %	3,25 %	3,19 %	3,18 %	3,21 %
2	Ct	29,6	29,5	29,2	30,0	29,8	29,8	29,8
	CV (%)	1,07 %	0,87 %	0,85 %	2,93 %	2,66 %	2,53 %	2,71 %
3	Ct	29,2	29,0	28,9	30,2	30,0	30,1	30,1
	CV (%)	1,72 %	1,35 %	1,46 %	3,29 %	2,85 %	3,15 %	3,10 %
4	Ct	-	-	-	32,0	31,7	31,6	31,8
	CV (%)	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	2,15 %	2,23 %	2,26 %	2,28 %
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	CV (%)	2,34 %	2,05 %	2,13	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică

**Tab. 19:** Rezultatele preciziei testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC pentru depistarea *stx1/2* din probele coprologice (CFX96™ Dx).

Ct	Valoare medie/CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lot
		Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 1-3
1	Ct	27,2	27,1	26,9	26,1	26,0	26,0	26,0
	CV (%)	0,82 %	1,04 %	0,76 %	3,12 %	2,61 %	2,64 %	2,80 %
2	Ct	27,6	27,2	27,1	28,1	27,5	27,5	27,7
	CV (%)	1,91 %	0,95 %	0,71 %	4,03 %	3,02 %	2,86 %	3,50 %
3	Ct	27,7	27,2	27,2	28,1	27,7	27,6	27,8
	CV (%)	2,34 %	0,74 %	0,95 %	4,29 %	3,11 %	2,91 %	3,54 %
4	Ct	-	-	-	29,2	28,7	28,6	28,9
	CV (%)	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	2,96 %	2,90 %	2,76 %	3,04 %
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	CV (%)	1,52 %	1,59 %	3,43 %	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică

**Tab. 20:** Rezultatele preciziei testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC pentru depistarea *ipaH* din probele coprologice (sistemul RIDA®UNITY).

Ct	Valoare medie/CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lot
		Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 1-3
1	Ct	25,0	24,8	24,6	25,3	25,1	25,1	25,2
	CV (%)	1,02 %	1,11 %	1,09 %	1,84 %	1,73 %	1,83	1,80 %
2	Ct	26,2	26,1	26,0	26,3	26,1	26,2	26,2
	CV (%)	0,81 %	0,89 %	0,90 %	1,49 %	1,39 %	1,37 %	1,40 %
3	Ct	25,5	25,3	25,4	26,2	26,1	26,1	26,1
	CV (%)	0,96 %	0,99 %	0,87 %	1,72 %	1,57 %	1,53 %	1,61 %
4	Ct	-	-	-	27,1	27,0	27,0	27,0
	CV (%)	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	1,44 %	1,34 %	1,45 %	1,42 %
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	CV (%)	0,88 %	0,77 %	0,69 %	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică



**Tab. 21:** Rezultatele preciziei testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC pentru depistarea *ipaH* din probele coprologice (CFX96™ Dx).

Ct	Valoare medie/CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lot
		Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 1-3
1	Ct	25,1	25,0	24,8	24,4	24,4	24,4	24,4
	CV (%)	1,15 %	1,25 %	1,06 %	1,49 %	1,79 %	1,70 %	1,67 %
2	Ct	25,2	25,2	25,2	25,4	25,3	25,4	25,4
	CV (%)	0,85 %	1,03 %	1,01 %	1,11 %	1,21 %	1,21 %	1,17 %
3	Ct	25,2	25,0	25,0	25,4	25,4	25,3	25,4
	CV (%)	1,04 %	1,09 %	1,14 %	1,29 %	1,46 %	1,53 %	1,43 %
4	Ct	-	-	-	26,2	26,1	26,1	26,2
	CV (%)	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	1,27 %	1,45 %	1,36 %	1,36 %
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	CV (%)	0,89 %	0,53 %	0,70 %	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică

**Tab. 22:** Rezultatele preciziei testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC pentru depistarea eae din probele coprologice (sistemul RIDA®UNITY).

Ct	Valoare medie/CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lot
		Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 1-3
1	Ct	26,2	26,3	26,0	26,4	26,5	26,5	26,5
	CV (%)	0,93 %	0,86 %	0,85 %	1,92 %	1,95 %	2,03 %	1,97 %
2	Ct	27,7	27,9	27,7	27,9	28,0	28,0	27,9
	CV (%)	0,86 %	0,92 %	0,77 %	1,85 %	1,76 %	1,75 %	1,78 %
3	Ct	27,0	27,0	27,2	27,8	27,9	27,9	27,9
	CV (%)	1,05 %	0,86 %	0,99 %	2,03 %	1,84 %	1,80 %	1,89 %
4	Ct	-	-	-	28,9	29,1	29,1	29,0
	CV (%)	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	1,81 %	1,78 %	1,81 %	1,80 %
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	CV (%)	1,24 %	0,78 %	1,18 %	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică

**Tab. 23:** Rezultatele preciziei testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC pentru depistarea eae din probele coprologice (CFX96™ Dx).

Ct	Valoare medie/CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lot
		Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Lot kit 1	Lot kit 2	Lot kit 3	Loturi kit 1-3
1	Ct	26,5	26,6	26,5	26,3	26,4	26,4	26,4
	CV (%)	0,54 %	0,69 %	0,58 %	1,76 %	1,86 %	1,88 %	1,84 %
2	Ct	27,3	27,5	27,5	27,6	27,7	27,8	27,7
	CV (%)	0,68 %	0,68 %	0,65 %	1,49 %	1,70 %	1,51 %	1,59 %
3	Ct	27,3	27,4	27,4	27,6	27,8	27,8	27,7
	CV (%)	0,88 %	0,74 %	0,79 %	1,66 %	1,78 %	1,85 %	1,77 %
4	Ct	-	-	-	28,5	28,7	28,6	28,6
	CV (%)	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	1,32 %	1,58 %	1,48 %	1,47 %
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	CV (%)	0,73 %	0,55 %	0,68 %	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică	Nu se aplică

### 13.2.4 Reactivitate analitică

Reactivitatea testului RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR a fost testată pe un set definit de tulpini de *E. coli* și *Shigella* (a se vedea Tab. 24).

**Tab. 24:** Testarea reactivității analitice

Tulpină	Rezultat*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>E. coli (stx1c, stx2b)</i>	+	-	-
<i>E. coli (stx1a, stx2c, eae)</i>	+	-	+
<i>E. coli (stx1d)</i>	+	-	
<i>E. coli (stx2a, eae)</i>	+	-	+
<i>E. coli (stx2d)</i>	+	-	-
<i>E. coli (stx2e)</i>	+	-	-
<i>E. coli (stx2f, eae)</i>	+	-	+
<i>E. coli (stx2g)</i>	+	-	-
<i>E. coli</i> O127:H6 ( <i>eae alpha</i> )	-	-	+
<i>E. coli</i> O157:H7 ( <i>eae gamma</i> )	-	-	+
<i>Shigella boydii (ipaH)</i>	-	+	-
<i>Shigella dysenteriae (ipaH)</i>	-	+	-
<i>Shigella flexneri (ipaH)</i>	-	+	-
<i>Shigella sonnei (ipaH)</i>	-	+	-

\*+ = pozitiv (cel puțin 2 din 3 replici pozitive)










- = negativ

## 14. Istoricul versiunilor





Numărul versiunii	Secțiune și denumire
2022-06-14	Versiunea

## 15. Explicația simbolurilor

### Simboluri generale

	Se utilizează pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Respectați instrucțiunile de utilizare
	Numărul lotului
	A se utiliza înainte de
	Temperatura de depozitare
	Numărul articolului
	Număr de teste
	Data producerii
	Producătorul

### Simboluri specifice testului

	Amestec de reacție
	Amestec de enzime
	Martor negativ
	Martor pozitiv

## 16. Referințe

1. Aziz FAA, Ahmad NA, Razak MAA, Omar M, Kasim NM, Yusof M, et al. Prevalence of and factors associated with diarrhoeal diseases among children under five in Malaysia: a cross-sectional study 2016. *BMC Public Health*. 2018;18(1):1363.
2. Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(12):6235-54.
3. Schuetz AN. Emerging agents of gastroenteritis: *Aeromonas*, *Plesiomonas*, and the diarrheagenic pathotypes of *Escherichia coli*. *Semin Diagn Pathol*. 2019;36(3):187-92.
4. Newell DG, La Ragione RM. Enterohaemorrhagic and other Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Where are we now regarding diagnostics and control strategies? *Transbound Emerg Dis*. 2018;65 Suppl 1:49-71.
5. Yang SC, Lin CH, Aljuffali IA, Fang JY. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Arch Microbiol*. 2017;199(6):811-25.
6. Lagerqvist N, Löf E, Enkirch T, Nilsson P, Roth A, Jernberg C. Outbreak of gastroenteritis highlighting the diagnostic and epidemiological challenges of enteroinvasive *Escherichia coli*, County of Halland, Sweden, November 2017. *Euro Surveill*. 2020;25(9).