

## RIDA® UNITY EHEC/EPEC

**REF** UN2205



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

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



## 1. Účel použití

K diagnostickému použití *in vitro*. Test RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC prováděný na platformě RIDA<sup>®</sup>UNITY je multiplex real-time PCR metoda k přímé kvalitativní detekci DNA virulentních faktorů EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp.

v nezpracovaných vzorcích lidské stolice a kultivačních vzorcích osob se známkami a příznaky akutní gastroenteritidy.

Test RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC je určen k podpoře diferenciální diagnostiky infekcí *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC a EIEC/*Shigella* spp.) u pacientů s příznaky gastroenteritidy ve spojení s dalšími klinickými a laboratorními nálezy.

Negativní výsledky nevylučují infekci bakterií *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC nebo EIEC/*Shigella* spp.) a nesmí sloužit jako jediný podklad pro stanovení diagnózy.

Tento produkt je určen pro profesionální použití.

## 2. Souhrn a vysvětlení testu

Průjmová onemocnění jsou závažným zdravotním problémem a ročně způsobují přibližně 1,7 miliardy případů onemocnění u dětí na celém světě.<sup>(1)</sup> Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) jsou tato onemocnění zejména v rozvojových zemích s přibližně 525 000 úmrtími ročně druhou nejčastější příčinou úmrtí dětí do 5 let.<sup>(1)</sup> Jedním z nejčastějších bakteriálních patogenů průjmového onemocnění je *Escherichia coli*.<sup>(2)</sup>

*E. coli* je gramnegativní, laktózu fermentující, pohyblivá bakterie a patří k rodině *Enterobacteriaceae*. Běžně obývá gastrointestinální trakt, ale zejména v rozvojových zemích může způsobovat průjmová onemocnění s vysokou morbiditou a mortalitou u dětí. Na základě charakteristik bakteriální virulence, epidemiologie a klinických projevů byly identifikovány následující třídy *E. coli* vyvolávající průjem: enteropatogenní *E. coli* (EPEC), enterotoxická *E. coli* (ETEC), enterohemoragická *E. coli* (EHEC), enteroinvazivní *E. coli* (EIEC) a enteroagregační *E. coli* (EAEC). Všechny tyto patotypy *E. coli* vyvolávající průjem se mohou přenášet fekálně-orální cestou.<sup>(3)</sup>

Mezi střevními patogenními bakteriemi *E. coli* získaly zvláštní význam enterohemoragické *E. coli* (EHEC). Jsou podskupinou *E. coli* produkujících Shiga toxin nebo verotoxin (STEC nebo VTEC). Patogenitu STEC lze vysledovat v jejich schopnosti kolonizovat střevo přilnutím ke střevním epiteliálním buňkám. Po kolonizaci jsou bakterie schopny produkovat dva cytotoxiny: verotoxin 1 a 2. Vzhledem k podobnosti verotoxinů se Shiga toxinem bakterie *Shigella dysenteriae* se VTEC nazývají také STEC. Dalšími důležitými diagnostickými faktory patogenity EHEC jsou nejen *stx1/stx2* (geny kódující Shiga toxin), ale také gen *eae* (gen *E. Coli pro připojení a smazání*), který kóduje intimin, membránový protein. Tento membránový protein je odpovědný za přilnutí patogenu ke střevním epiteliálním buňkám.<sup>(4)</sup> Klinické příznaky, které mohou být způsobeny EHEC/STEC u lidí se pohybují v rozsahu od krvavého průjmu až k hemolyticko-uremickému syndromu (HUS).<sup>(2, 5)</sup> Zdrojem infekce jsou zejména kontaminovaná jídla, přičemž infekci

EHEC/STEC může způsobit méně než 1000 bakterií. Nejhorší s jídlem spojená nákaza způsobená STEC v Německu propukla v roce 2011. Výsledkem této nákazy bylo 3816 identifikovaných infekcí STEC a 54 úmrtí, z nichž 32 bylo spojeno s HUS.<sup>(5)</sup>

O enteropatogenní *E. coli* (EPEC) je známo, že způsobuje pediatrická průjmová onemocnění, zejména v rozvojových zemích.<sup>(3)</sup> EPEC lze odlišit od EHEC nepřítomností Shiga toxinů.<sup>(3)</sup> Nejčastějšími příznaky spojenými s infekcí EPE jsou vodnatý průjem, bolest břicha, nevolnost, zvracení a horečka. Infekční dávka u zdravých dospělých činí zhruba  $10^8$  organismů.<sup>(5)</sup>

Enteroinvazivní *E. coli* (EIEC) a *Shigella* spp pravděpodobně způsobují průjmová onemocnění po celém světě, zejména v rozvojových zemích. Jedná se o gramnegativní bakterie, které jsou jedna s druhou úzce biochemicky a geneticky spjaté.<sup>(6)</sup> Patogenita bakterií EIEC a *Shigella* spp. je založena na invazi střevních epitelálních buněk pomocí plazmidů a na jejich destrukci. Za tento proces jsou odpovědné produkty invazivního plazmidového antigenu H genu (*ipaH*). Tento gen je důležitý pro detekci EIEC/*Shigella* spp., což umožňuje odlišit tento patogen od EHEC. Propuknutí infekcí EIEC/*Shigella* spp. je pravděpodobně způsobeno hlavně jídlem a infekce se projevuje průjmem, bolestí břicha, nevolností a horečkou.<sup>(6)</sup>

### 3. Princip testu

Test RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC je multiplex real-time PCR metoda k přímé kvalitativní detekci a diferenciaci genů u virulentních faktorů EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. v lidské stolici nebo kultivačních vzorcích.

Zpracování je plně automatizováno pomocí systému RIDA<sup>®</sup>UNITY. Nukleové kyseliny se nejprve extrahují pomocí soupravy RIDA<sup>®</sup>UNITY Universal Extraction Kit a Internal Control Kit.

Cílová sekvence se vždy detekuje v jedнокrokovém real-time RT-PCR formátu (i s testy DNA), to znamená, že reverzní transkripce (RT) a následné PCR se provádí v jedné reakční lahvičce. Při tomto procesu se izolovaná RNA (je-li přítomna) přepisuje do cDNA pomocí reverzní transkriptázy. Specifické genové fragmenty virulentních faktorů *stx1/stx2*, *eae* a *ipaH* jsou poté amplifikovány pomocí real-time PCR.

Amplifikované cílové sekvence se detekují pomocí hydrolyzačních sond, které jsou na jednom konci označeny zhášečem a na druhém fluorescenčním reportérovým barvivem (fluoroforem). Sondy hybridizují s amplikonem za přítomnosti cílové sekvence. Během extenze

Taq polymeráza oddělí reportér od zhášeče. Reportér emituje fluorescenční signál, který je detekován optickou jednotkou přístroje pro real-time PCR. Fluorescenční signál se zvyšuje s množstvím vytvořených amplikonů. Aby bylo možné zkontrolovat přípravu vzorku nebo případnou PCR inhibici, musí být současně použita souprava RIDA<sup>®</sup>UNITY Internal Control Kit.

#### 4. Dodávaná činidla

Činidla v soupravě vystačí na 96 stanovení\*.

**Tabulka 1:** Dodávaná činidla

REF	Činidlo	Množství		Barva víčka
UNZ2205RM	Reaction Mix	1×	1935 µL	žlutá, připraveno k použití
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1×	350 µL	červená, připraveno k použití
UNZ2205PC	Positive Control	1×	200 µL	modrá, připraveno k použití
UNZ2205NC	Negative Control	1×	450 µL	bílá, připraveno k použití

\* Při opakovaném použití a v menších sériích se může počet reakcí snížit.

#### 5. Pokyny k uskladnění

- Dodržujte pokyny k manipulaci uvedené v tabulce 2 a uskladněte soupravu bezprostředně po použití v souladu s uvedenými informacemi.
- Všechna činidla musí být uskladněna mimo dosah světla, při teplotě -16 °C až -28 °C. Pokud zůstanou neotevřená, lze je používat až do data použitelnosti vytištěného na štítku. Po uplynutí data použitelnosti přestává záruka kvality platit.
- Všechna činidla je třeba před použitím důkladně rozmrazit (např. v chladničce při teplotě 2–8 °C).
- Opakované zmrazení a rozmrazení až 8krát neovlivní vlastnosti testu.

**Tabulka 2:** Podmínky uskladnění a související informace

	Teplota pro uskladnění	Maximální doba uskladnění
neotevřené	-16 °C až -28 °C	Lze používat do vytištěného data použitelnosti.
otevřené	-16 °C až -28 °C	8 cyklů zmrazení a rozmrazení

## 6. Potřebná činidla, která nejsou součástí dodávky

Test RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR je určen výhradně k použití se systémem RIDA®UNITY. Ke správnému použití jsou bezpodmínečně nutné následující produkty:

### 6.1 Činidla

K provedení testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC jsou potřebná následující činidla:

Činidla	Číslo položky
Souprava RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
Souprava RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

### 6.2 Laboratorní vybavení

K provedení testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC je potřeba následující vybavení:

Vybavení
Systém RIDA®UNITY; číslo položky: ZUNITY (R-Biopharm AG)
Spotřební materiál RIDA®UNITY (špičky, destičky, reakční lahvičky, fólie). Viz pokyny k použití systému RIDA®UNITY, informace pro objednávání spotřebního materiálu
Vortex
Stolní odstředivka
Jednorázové rukavice bez pudru

Externí cykler (možné vylepšení systému)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

Soupravu RIDA®UNITY EHEC/EPEC lze použít ve spojení s jinými kompatibilními cykly. Alternativní přístroje pro real-time PCR musí být ověřeny/validovány uživatelem. Chcete-li ověřit kompatibilitu, kontaktujte společnost R-Biopharm AG na adrese [pcr@r-biopharm.de](mailto:pcr@r-biopharm.de).

## 7. Varování a bezpečnostní opatření pro uživatele

K diagnostickému použití *in vitro*.

Tento test smí provádět výhradně kvalifikovaný laboratorní personál. Dodržujte pokyny pro práci ve zdravotnických laboratořích.

Při provádění tohoto testu vždy striktně dodržujte provozní příručku.

Nepipetujte vzorky ani činidla ústy. Zabraňte kontaktu s poškozenou pokožkou a sliznicemi.

Při manipulaci s činidly a vzorky používejte osobní ochranné prostředky (vhodné rukavice, laboratorní plášť, ochranné brýle) a po dokončení testu si umyjte ruce.

V místech, kde se manipuluje se vzorky, nekuřte, nejezte ani nepijte.

Vyhnete se kontaminaci vzorků a součástí soupravy mikroby a nukleázami (DNáza/RNáza).

Na klinické vzorky se musí pohlížet jako na potenciálně infekční a je nutné je vhodně likvidovat, stejně jako všechna činidla a materiály, které přicházejí do styku s potenciálně infekčními vzorky.

Nezaměňujte ani nemíchejte součásti (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) jedné šarže soupravy se součástmi jiné šarže.

Testovací soupravu lze používat 8 týdnů po prvním otevření (soupravu lze znovu použít až 6krát). Nepoužívejte testovací soupravu po datu použitelnosti. Tyto specifikace jsou rovněž kontrolovány systémem RIDA®UNITY.

Uživatelé jsou zodpovědní za správnou likvidaci všech použitých činidel a materiálů. Při likvidaci dodržujte národní předpisy.

Další podrobné informace o bezpečnostních listech (Safety Data Sheet, SDS) můžete nalézt pod číslem položky na stránkách <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Pro uživatele v Evropské unii: Veškeré závažné nežádoucí účinky související s tímto produktem nahláste společnosti R-Biopharm AG a příslušným státním orgánům.

Souhrn informací o bezpečnosti a funkční způsobilosti (SSP) pro tento produkt bude k dispozici na webové stránce <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>, jakmile bude spuštěna Evropská databáze zdravotnických prostředků (EUDAMED). V této databázi vyhledejte prostředek pomocí identifikátoru UDI-DI umístěného na vnějším balení prostředku.

## 8. Odběr a uskladnění vzorků

Za účelem dosažení co nejlepší výkonnosti testu RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC se doporučuje používat čerstvý vzorek.

Vyhňte se opětovnému zmrazování a rozmrazování vzorků.

Neodebírejte vzorky stolice do transportních nádob s obsahem transportního média s konzervačními přísadami, zvířecího séra, kovových iontů, oxidačních činidel nebo detergentů, protože takové látky mohou interferovat s testy RIDA<sup>®</sup>UNITY.

Aby se zabránilo opakovanému rozmrazování a zmrazování, doporučujeme připravit ze vzorků alikvoty. Zmrazené vzorky rozmrazujte bezprostředně před extrakcí, aby se zabránilo degradaci nukleové kyseliny.

Postupujte podle pokynů k uskladnění uvedených v tabulkách 3 až 6.

**Tabulka 3:** Uskladnění vzorků - detekce EHEC

Nativní vzorky - stolice		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dnů	≤ 7 dnů	≤ 6 měsíců

Nativní vzorky - kultura		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 den	≤ 1 den	-

V eluátu (ze stolice nebo kultury)		
30 °C	2–8 °C	-20 °C
≤ 24 hodin	≤ 36 hodin	≤ 7 dnů

Při uskladňovací teplotě -20 °C / -80 °C nemá opakované zmrazení/rozmrazení vzorku stolice, provedené až 5krát, vliv na testovací vlastnosti.

Při uskladňovací teplotě -20 °C nemá opakované zmrazení/rozmrazení eluátu (ze stolice nebo kultury), provedené až 3krát, vliv na testovací vlastnosti.

Nepěstujte kultury z dříve zmrazené stolice, protože zmrazení silně ovlivňuje růstové charakteristiky patogenů a může potenciálně způsobit falešně negativní výsledky.

**Tabulka 4:** Uskladnění vzorků - detekce STEC

Nativní vzorky - stolice		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dnů	≤ 7 dnů	≤ 6 měsíců

Nativní vzorky - kultura		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 den	≤ 1 den	-

V eluátu (ze stolice nebo kultury)		
30 °C	2–8 °C	-20 °C
≤ 24 hodin	≤ 36 hodin	≤ 7 dnů

Při uskladňovací teplotě -20 °C / -80 °C nemá opakované zmrazení/rozmrazení vzorku stolice, provedené až 5krát, vliv na testovací vlastnosti.

Při uskladňovací teplotě -20 °C nemá opakované zmrazení/rozmrazení eluátu (ze stolice nebo kultury), provedené až 3krát, vliv na testovací vlastnosti.

Nepěstujte kultury z dříve zmrazené stolice, protože zmrazení silně ovlivňuje růstové charakteristiky patogenů a může potenciálně způsobit falešně negativní výsledky.

**Tabulka 5:** Uskladnění vzorků - detekce EPEC

Nativní vzorky - stolice		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dnů	≤ 7 dnů	≤ 6 měsíců

Nativní vzorky - kultura		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 den	≤ 1 den	-

V eluátu (ze stolice nebo kultury)		
30 °C	2–8 °C	-20 °C
≤ 24 hodin	≤ 36 hodin	≤ 7 dnů

Při uskladňovací teplotě -20 °C / -80 °C nemá opakované zmrazení/rozmrazení vzorku stolice, provedené až 5krát, vliv na testovací vlastnosti.

Při uskladňovací teplotě -20 °C nemá opakované zmrazení/rozmrazení eluátu (ze stolice nebo kultury), provedené až 3krát, vliv na testovací vlastnosti.

Nepěstujte kultury z dříve zmrazené stolice, protože zmrazení silně ovlivňuje růstové charakteristiky patogenů a může potenciálně způsobit falešně negativní výsledky.



**Tabulka 6:** Uskladnění vzorku - detekce EIEC/*Shigella* spp.

Nativní vzorky - stolice		
20–25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 den	≤ 7 dnů	≤ 6 měsíců

Nativní vzorek - kultura		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 1 den	-

V eluátu (ze stolice nebo kultury)		
30 °C	2–8 °C	-20 °C
≤ 24 hodin	≤ 36 hodin	≤ 7 dnů

Při uskladňovací teplotě -20 °C / -80 °C nemá opakované zmrazení/rozmrazení vzorku stolice, provedené až 5krát, vliv na testovací vlastnosti.

Při uskladňovací teplotě -20 °C nemá opakované zmrazení/rozmrazení eluátu (ze stolice nebo kultury), provedené až 3krát, vliv na testovací vlastnosti.

Nepěstujte kultury z dříve zmrazené stolice, protože zmrazení silně ovlivňuje růstové charakteristiky patogenů a může potenciálně způsobit falešně negativní výsledky.

### 8.1 Příprava DNA ze vzorků stolice a kultivačních vzorků

K izolaci DNA ze vzorků stolice a kultivačních vzorků použijte soupravu RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Postupujte přesně podle návodu k použití soupravy RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (část: Příprava nukleových kyselin ze vzorků stolice; Část: Příprava nukleových kyselin z kultivačních vzorků).

## 9. Průběh testu

Na začátku používání umístěte vzorky i činidla soupravy RIDA®UNITY EHEC/EPEC do systému RIDA®UNITY.

Předtím pomocí vortexu dostatečně promíchejte reakční směs **Reaction Mix**, negativní kontrolu **Negative Control** a pozitivní kontrolu **Positive Control**.

Enzymový mix **Enzyme Mix** ve vortexu nepromíchejte. Poté všechny součásti krátce odstředte.

PCR zkumavky pro vyšetřované vzorky musí být předem umístěny v integrovaném PCR cykleru.

Ke správnému naplnění systému činidly a spotřebním materiálem jsou k dispozici přenosné nádobky. Při plnění postupujte podle pokynů systému RIDA®UNITY.

Dodržujte příslušné části v příručce pro systém RIDA®UNITY (část: Provedení cyklu).

Test RIDA®UNITY EHEC/EPEC lze použít pouze v kombinaci se soupravou RIDA®UNITY Internal Control Kit. To umožňuje včas rozpoznat potenciální PCR inhibici, ověřit integritu činidla a potvrdit úspěšnou extrakci nukleové kyseliny. Postup je popsán v návodu k použití soupravy RIDA®UNITY Internal Control Kit (část: Průběh testu).

Automatizované zpracování je popsáno v příručce pro systém RIDA®UNITY (část: Provedení cyklu).

## 9.1 Nastavení prostředku

### 9.1.1 Univerzální real-time PCR profil

Za účelem sjednocení testů RIDA®UNITY je test RIDA®UNITY EHEC/EPEC ověřován výhradně v univerzálním profilu. To umožňuje testy DNA a RNA vzájemně kombinovat. Obecně lze říci, že reverzní transkripce je tedy v univerzálním profilu na prvním místě.

**Tabulka 7:** Univerzální real-time PCR profil pro test RIDA®UNITY

<u>Reverzní transkripce</u>	10 min, 58 °C
Počáteční denaturace	1 min, 95 °C
Cykly	45 cyklů
<u>PCR</u> Denaturace	10 s, 95 °C
Annealing/extenze	15 s, 60 °C
Rychlost přechodové teploty / teplotního náběhu	Maximální

**Poznámka:** Annealing a extenze probíhají ve stejném kroku.

**Tabulka 8:** Univerzální profil real-time PCR pro přístroj CFX96™ Dx

<u>Reverzní transkripce</u>	10 min, 58 °C
Počáteční denaturace	1 min, 95 °C
Cykly	45 cyklů
<u>PCR</u> Denaturace	15 s, 95 °C
Annealing/extenze	30 s, 60 °C
Rychlost přechodové teploty / teplotního náběhu	Maximální

**Poznámka:** Annealing a extenze probíhají ve stejném kroku.

## 9.2 Nastavení detekčního kanálu

Tabulka 9: Výběr vhodných detekčních kanálů

Přístroj pro real-time PCR	Detekce	Detekční kanál	Poznámka
<b>R-Biopharm RIDA®UNITY</b>	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanál stx
	Interní kontrola	HEX	SEEK kanál ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanál ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanál eae
<b>Bio-Rad CFX96™ Dx</b>	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanál stx
	Interní kontrola	VIC	SEEK kanál ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanál ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanál eae

## 10. Kontrola kvality - známky nestability nebo expirace činidel

Vzorky se vyhodnocují pomocí analytického softwaru RIDA®SEEK systému RIDA®UNITY. Negativní kontrola **Negative Control** a pozitivní kontrola **Positive Control** musí vykazovat správné výsledky (viz tab. 9).

Pozitivní kontrola **Positive Control** je k dispozici v koncentraci  $10^3$  kopií/ $\mu\text{L}$ . V každém PCR cyklu se používá v celkovém množství  $5 \times 10^3$  kopií.

Negativní kontrola **Negative Control** již obsahuje interní kontrolu RIDA®UNITY Internal Control. Protože kontroly neobsahují templát, nelze v cílových kanálech očekávat žádné signály. Zásadní jsou však pozitivní signály v kanálu IC, kterým je detekována interní kontrola (viz tabulka 10).

**Tabulka 10:** Platný cyklus PCR musí splňovat následující podmínky:

Vzorek	Výsledek	IC Ct	Ct cílového genu
Pozitivní kontrola	+	neuplatňuje se*	Viz Certificate of Analysis
Negativní kontrola	-	Ct > 20	0

\*Za jistých okolností může mít kanál IC pozitivní signál v pozitivní kontrole a proto nemá být hodnocen.

Pokud pozitivní kontrola není ve stanoveném rozsahu Ct, ale negativní kontrola je platná, je třeba znovu analyzovat v PCR všechny reakce, včetně kontrol.

Pokud negativní kontrola není negativní, ale pozitivní kontrola je platná, je třeba znovu analyzovat v PCR všechny reakce, včetně kontrol.

Pokud není dosaženo stanovených hodnot, před zopakováním testu zkontrolujte následující body:

- Datum použitelnosti použitých činidel,
- Funkčnost používaného vybavení,
- Správný průběh testu.

Pokud nejsou požadované podmínky splněny ani po zopakování testu, obraťte se na výrobce nebo místního distributora společnosti R-Biopharm.

## 11. Hodnocení a interpretace

Vyhodnocení a interpretace vzorků se provádí pomocí analytického softwaru RIDA®SEEK systému RIDA®UNITY.

V současné době neexistuje žádná mezinárodně uznávaná referenční metoda ani referenční materiál pro standardizaci. Kontrolní materiál lze metrologicky vysledovat k interním standardům společnosti R-Biopharm AG na základě specifických amplikonů DNA.

Máte-li zájem o další informace týkající se metrologické sledovatelnosti, obraťte se na společnost R-Biopharm AG.

Specifikované hodnoty, rozsahy a další podrobné údaje jsou uvedeny v osvědčení o analýze (Certificate of Analysis, CoA).

**Tabulka 11:** Interpretace výsledků\*

Detekce				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Výsledek
+	-	-	+/-	STEC (EHEC) detekovatelné
-	+	-	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. detekovatelné
-	-	+	+/-	EPEC detekovatelné
+	+	-	+/-	STEC (EHEC) a EIEC/ <i>Shigella</i> spp. detekovatelné
+	-	+	+/-	EHEC detekovatelné
-	+	+	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. a EPEC detekovatelné
+	+	+	+/-	EHEC a EIEC/ <i>Shigella</i> spp. detekovatelné
-	-	-	+	Cílové geny nejsou detekovatelné
-	-	-	-	Neplatný

\*+= pozitivní  
- = negativní

Zákon o ochraně před infekcemi (IfSG) popisuje EHEC jako *E. coli* (STEC) produkující Shiga toxin, což jsou lidské patogeny. Protože přesnou definici lidských patogenních STEC nelze v této době stanovit, je **každá** STEC považována za možnou EHEC.<sup>(5)</sup>

Vzorek je pozitivní, pokud DNA vzorku a interní kontrola Internal Control vykazují v detekčním systému signál amplifikace.

Vzorek je rovněž pozitivní, pokud DNA vzorku vykazuje signál amplifikace, ale v detekčním systému není vidět žádný signál amplifikace pro interní kontrolu

**Internal Control**. Detekce interní kontroly **Internal Control** není v tomto případě nutná, protože vysoké koncentrace amplikonů mohou způsobit slabý nebo žádný signál interní kontroly **Internal Control**.

Vzorek je negativní, pokud DNA vzorku nevykazuje signál amplifikace, ale v detekčním systému je viditelný signál amplifikace pro interní kontrolu **Internal Control**. Inhibici PCR reakce a předchozí extrakci lze vyloučit detekcí interní kontroly **Internal Control**.

Vzorek je neplatný, pokud DNA vzorku a interní kontrola **Internal Control** nevykazují v detekčním systému signál amplifikace. Ve vzorku jsou přítomny inhibitory nebo došlo k chybě při extrakci.

## 12. Omezení metody

1. Test RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC detekuje DNA pro virulentní faktory EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. v neošetřených vzorcích lidské stolice a kultivačních vzorcích. Souvislost mezi vyšší stanovené hodnoty Ct a výskytem závažných klinických příznaků nelze na základě tohoto testu vyvodit. Získané výsledky je vždy nutné interpretovat v kombinaci se všemi klinickými příznaky.
2. Diagnózu nelze stanovit pouze na základě výsledku molekulárně biologické analýzy. Vždy je potřeba brát v potaz anamnézu a příznaky pacienta.
3. Tento test je schválen pouze pro automatizované zpracování pomocí systému RIDA<sup>®</sup>UNITY.
4. Tento test byl ověřen pouze pro vzorky stolice a kultivační vzorky.
5. Při použití kultivační matrice nepřenášejte agarové médium do PCR reakce, protože by to mohlo vést k potenciální interferenci.
6. Nesprávný odběr, přeprava, uskladnění vzorků a manipulace s nimi nebo zatížení patogeny pod analytickou citlivostí tohoto testu mohou vést k falešně negativním výsledkům.
7. Přítomnost inhibitorů PCR může vést k falešně negativním nebo neplatným výsledkům.
8. Stejně jako u všech diagnostických testů *in vitro* založených na PCR lze detekovat extrémně nízké koncentrace cílových sekvencí, které jsou pod limitem detekce (LoD 95 %). Získané výsledky nejsou vždy reprodukovatelné.
9. Při používání testu RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC mohou mutace nebo polymorfismy v primerech či vazebných místech sond narušit detekci nových nebo neznámých variant a být příčinou falešně negativních výsledků.
10. Pozitivní výsledek testu nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopných organismů. Pozitivní výsledek znamená, že jsou přítomny cílové geny (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae* a EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*).
11. Tento test musí být proveden v souladu s nařízením o správné laboratorní praxi. Při provádění testu musí uživatelé postupovat přesně podle pokynů výrobce.

## 13. Charakteristiky provedení

### 13.1 Klinické charakteristiky provedení

Test RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR byl porovnáván v externí laboratoři s referenčním testem s označením CE na základě 276 vzorků stolice od pacientů s příznaky gastrointestinální infekce.

Výsledky prokazují velmi vysokou citlivost a specifitu v detekci virulentních faktorů EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. při použití soupravy RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC.

**Tabulka 12:** Detekce *stx1/2* - vzorky stolice

		Referenční PCR		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
RIDA <sup>®</sup> UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Pozitivní	122	0	122
	Negativní	5	149	154
	Celkem	127	149	276

Relativní citlivost (95 % IS)	96,1 % (91,1 % - 98,7 %)
Relativní specifita (95 % IS)	100 % (97,6 % - 100 %)

**Tabulka 13:** Detekce *ipaH* - vzorky stolice

		Referenční PCR		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
RIDA <sup>®</sup> UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Pozitivní	65	0	65
	Negativní	0	211	211
	Celkem	65	211	276

Relativní citlivost (95 % IS)	100 % (94,5 % - 100 %)
Relativní specifita (95 % IS)	100 % (98,3 % - 100 %)



**Tabulka 14:** Detekce *eae* - vzorky stolice

		Referenční PCR		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>eae</i>	Pozitivní	179	0	179
	Negativní	4	93	97
	Celkem	183	93	276

Relativní citlivost (95 % IS)	97,8 % (94,5 % - 100 %)
Relativní specifita (95 % IS)	100 % (96,1 % - 100 %)

## 13.2 Analytické charakteristiky provedení

### 13.2.1 Limit detekce (LoD 95 %)

Za účelem stanovení hodnoty LoD byl pozitivní kontrolní vzorek (negativní vzorky stolice, spiked nebo použití kultivačního vzorku) měřen v pěti krocích ředění (v krocích po 0,25 log) pro každý cíl s 20 replikáty pro každý krok v jedné šarži. Poté následovala probitová analýza. Dále byla vypočtená hodnota LoD potvrzena pomocí 20 replikátů pro každý cíl pro vypočtený krok ředění / koncentraci.

K testování byly použity následující kmeny:

- *stx1/stx2*: *Escherichia coli* D3509 (hodnota LoD pro *stx2* byla stanovena, protože *stx2* souvisí s hemolyticko-uremickým syndromem.)
- *ipaH*: *Escherichia coli* Fr1368
- *eae*: *Escherichia coli* DSM8695

Pro detekci EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. DNA pomocí testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC na systému UNITY byly stanoveny následující limity detekce (LoD).

Výsledky provedených měření jsou uvedeny v tabulce 15.

**Tabulka 15:** Výsledky limitu detekce testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pro cílové geny *stx1/2*, *ipaH* a *eae*.

	Matrice	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Stolice	476 000 CFU/mL	5300 CFU/mL	125 000 CFU/mL
	Kultivace	2130 CFU/mL	798 CFU/mL	2890 CFU/mL

\* CFU: Colony Forming Units (jednotky tvořící kolonie)

Hodnota LoD pro *stx1/2* ve vzorcích stolice byla stanovena na 476 000 CFU/mL.

Hodnota LoD pro *ipaH* ve vzorcích stolice byla stanovena na 5300 CFU/mL.

Hodnota LoD pro *eae* ve vzorcích stolice byla stanovena na 125 000 CFU/mL.

Hodnota LoD pro *stx1/2* v kultivačních vzorcích byla stanovena na 2130 CFU/mL.

Hodnota LoD pro *ipaH* v kultivačních vzorcích byla stanovena na 798 CFU/mL.

Hodnota LoD pro *eae* v kultivačních vzorcích byla stanovena na 2890 CFU/mL.

Za účelem vylepšení pracovního postupu využívajícího CFX96™ Dx byly tyto hodnoty LoD potvrzeny za předpokladu, že zůstaneme v 2-3násobném rozmezí LoD.

## 13.2.2 Analytická specifita

### Interferující látky

Přítomnost inhibitorů PCR a interferujících látek může být příčinou falešně negativních nebo neplatných výsledků. Proto byly zkoumány účinky různých látek, které mohou existovat z důvodu jejich rozšířeného používání při gastrointestinálních infekcích nebo jejich častého výskytu v příslušných vzorcích.

Látky, které by mohly potenciálně významně ovlivnit výsledky testu, byly nejprve zkoumány ve vysokých koncentracích (trojnásobek denní dávky nebo simulace nejhoršího případu) v rámci screeningu interferencí.

U látek uvedených v tabulce 16 nebyla zjištěna žádná interference.

**Tabulka 16:** Potenciálně interferující látky

Potenciálně interferující látka	Koncentrace
Azithromycin-ratiopharm <sup>®</sup> potahované tablety 500 mg (azithromycin)	0,75 % [w/v]
Síran barnatý	18,5 % [v/v]
Cologran <sup>®</sup> , tekuté sladidlo (sacharin + cyklamát)	1,3 % [w/v]
Lidská krev	5 % [v/v]
Tablety s živočišným uhlím 250 mg (živočišné uhlí)	6 % [w/v]
Loperamid-ratiopharm <sup>®</sup> akut (loperamid)	0,02 % [v/v]
Hleny	5 % [w/v]
Kyselina stearová/palmitová	40 % [w/v]

## Zkřížené reakce

Byly zkoumány různé organismy (bakterie, paraziti, plísně a viry), které se běžně vyskytují v matrici stolice. Mikroorganismy zkoumané v rámci tohoto testu byly vybrány proto, že se buď přirozeně vyskytují ve vzorcích stolice, nebo způsobují obdobné příznaky jako gastrointestinální patogeny. V rámci těchto analýz byly použity bakteriální kultury (mezi  $10^6$  a  $10^9$  CFU/mL), fungální nebo virové kultury, supernatanty virových kultur, izoláty a standardy LGC pro dané organismy.

Test RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR je specifický pro EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. S následujícími druhy nebyly detekovány žádné zkřížené reakce (viz tabulka 17):

**Tabulka 17:** Potenciálně zkříženě reaktivní organismy

Organismus	Výsledek testu*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenovirus 40	-	-	-
Adenovirus 41, lidský, kmen 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 klon 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> (sérovar Enteritidis)	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (sérovar Typhimurium)	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-

\* - = negativní

\*\* *Giardia intestinalis* a *Giardia lamblia* jsou stejné organismy.

### 13.2.3 Přesnost

Přesnost testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR byla stanovena pro následující úroveň.

Přesnost *uvnitř* testu: Stanovení 5 kontrolních vzorků s použitím vždy 20 replikátů na systému RIDA®UNITY za stejných podmínek.

Přesnost *v rámci* testů: Stanovení 5 kontrolních vzorků ve 20 cyklech v duplikátu během 10 pracovních dnů (2 cykly denně) provedená různými technickými pracovníky za podmínek reprodukovatelnosti.

Testování přesnosti *uvnitř* testu a *v rámci* testů bylo provedeno s použitím tří různých šarží.

Variační koeficienty získané pro každé měření pomocí testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR na systému RIDA®UNITY a CFX96™ Dx byly 4,29 %.

**Tabulka 18:** Výsledky přesnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pro gen *stx1/2* ze vzorků stolice (systém RIDA®UNITY).

Ct střední hodnota / CV	Uvnitř testu			V rámci testů			V rámci šarží	
	Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 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 (%)	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	2,15 %	2,23 %	2,26 %	2,28 %
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	CV (%)	2,34 %	2,05 %	2,13	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se

**Tabulka 19:** Výsledky přesnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pro gen *stx1/2* ze vzorků stolice (systém CFX96™ Dx).

Ct	střední hodnota / CV	Uvnitř testu			V rámci testů			V rámci šarží
		Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 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 (%)	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	2,96 %	2,90 %	2,76 %	3,04 %
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	CV (%)	1,52 %	1,59 %	3,43 %	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se

**Tabulka 20:** Výsledky přesnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pro gen *ipaH* ze vzorků stolice (systém RIDA®UNITY).

Ct střední hodnota / CV	Uvnitř testu			V rámci testů			V rámci šarží	
	Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 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 (%)	neplatňuje se	neplatňuje se	neplatňuje se	1,44 %	1,34 %	1,45 %	1,42 %
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	CV (%)	0,88 %	0,77 %	0,69 %	neplatňuje se	neplatňuje se	neplatňuje se	neplatňuje se



**Tabulka 21:** Výsledky přesnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pro gen *ipaH* ze vzorků stolice (systém CFX96® Dx).

Ct	střední hodnota / CV	Uvnitř testu			V rámci testů			V rámci šarží
		Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 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 (%)	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	1,27 %	1,45 %	1,36 %	1,36 %
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	CV (%)	0,89 %	0,53 %	0,70 %	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se

**Tabulka 22:** Výsledky přesnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pro gen eae ze vzorků stolice (systém RIDA®UNITY).

Ct	střední hodnota / CV	Uvnitř testu			V rámci testů			V rámci šarží
		Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 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 (%)	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	1,81 %	1,78 %	1,81 %	1,80 %
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	CV (%)	1,24 %	0,78 %	1,18 %	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se

**Tabulka 23:** Výsledky přesnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pro gen eae ze vzorků stolice (systém CFX96® Dx).

Ct	střední hodnota / CV	Uvnitř testu			V rámci testů			V rámci šarží
		Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 1	Šarže soupravy 2	Šarže soupravy 3	Šarže soupravy 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 (%)	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	1,32 %	1,58 %	1,48 %	1,47 %
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	CV (%)	0,73 %	0,55 %	0,68 %	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se	neuplatňuje se

### 13.2.4 Analytická reaktivita

Reaktivita testu RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR byla testována na definovaném panelu kmenů *E. coli* a *Shigella* (viz tabulka 24).

**Tabulka 24:** Testování analytické reaktivity

Kmen	Výsledek*		
	<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>	-	+	-

\* + = pozitivní (alespoň 2 ze 3 replikátů pozitivní)










- = negativní

## 14. Historie verze




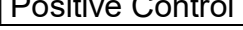
Číslo verze	Část a určení
2022-06-14	Verze vydání

## 15. Vysvětlení symbolů

### Obecné symboly

	K diagnostickému použití <i>in vitro</i>
	Postupujte podle návodu k použití
	Číslo šarže
	Datum spotřeby
	Teplota pro uskladnění
	Číslo položky
	Počet testů
	Datum výroby
	Výrobce

### Symboly specifické pro test

	Reakční mix
	Enzymový mix
	Negativní kontrola
	Pozitivní kontrola

## 16. Literatura

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).