

RIDA® UNITY EHEC/EPEC

REF UN2205



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

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



1. Sihtotstarve

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks. RIDA®UNITY platvormiga tehtud analüüs RIDA®UNITY EHEC/EPEC on multipleksne reaalaajas PCR EHEC, STEC, EPEC ja EIEC / *Shigella* spp. virulentsustegurite DNA otseseks kvalitatiivseks tuvastamiseks töötlemata inimese väljaheite proovides ja kultuuriproovides inimestelt, kellel on ägeda gastroenteriidi tunnused ja sümptomid.

RIDA®UNITY EHEC/EPEC analüüs on mõeldud toetama *E. coli* infektsioonide (EHEC, EPEC, STEC ja EIEC / *Shigella* spp.) diferentsiaaldiagnoosi patsientidel, kellel on gastroenteriidi sümptomid koos teiste kliiniliste ja laboratoorsete leidudega. Negatiivsed tulemused ei välista *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC ja EIEC / *Shigella* spp.) infektsiooni ning diagnoosimisel ei tohiks ainult neile toetuda.

Toode on mõeldud professionaalseks kasutamiseks.

2. Analüüsi kokkuvõte ja selgitus

Kõhulahtisus on oluline terviseprobleem, mis põhjustab kogu maailma laste seas umbes 1,7 miljardit juhtumit aastas⁽¹⁾. Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) andmetel on need haigused alla 5-aastaste laste surmapõhjuste seas teisel kohal (umbes 525 000 surmajuhtumit aastas), eriti arengumaades.⁽¹⁾ Üks levinumaid kõhulahtisuse bakteriaalseid patogeene on *Escherichia coli*.⁽²⁾

E. coli on gramnegatiivne laktoosi kääriv liikuv bakter, mis kuulub *Enterobacteriaceae* sugukonda. See on tavapärane seedetrakti asukas, kuid võib põhjustada lastel ka kõrge haigestumuse ja suremusega kõhulahtisushaigusi, eriti arengumaades. Bakteri virulentsusomaduste, epidemioloogia ja kliiniliste ilmingute põhjal tuvastati järgmised kõhulahtisust põhjustavad *E. coli* klassid: enteropatogeenne *E. coli* (EPEC), enterotoksigeenne *E. coli* (ETEC), enterohemorraagiline *E. coli* (EHEC), enteroinvasiivne *E. coli* (EIEC) ja *enteroagregatiivne E. coli* (EAEC). Kõik need *E. coli* kõhulahtisust põhjustavad patotüübid võivad edasi kanduda fekaal-oraalselt.⁽³⁾

Soolestiku patogeense *E. coli* hulgas on erilise tähtsusega enterohemorraagiline *E. coli* (EHEC). See on Shiga toksiini või verotoksiini tootva *E. coli* (vastavalt STEC ja VTEC) alamrühm. STEC patogeensust saab seostada nende võimega koloniseerida soolestikku, kleepudes soolestiku epiteelrakkude külge. Pärast koloniseerimist on bakterid võimelised tootma kahte tsütotoksiini, verotoksiini 1 ja 2. Verotoksiinide sarnasuse tõttu *Shigella dysenteriae* Shiga toksiiniga nimetatakse VTEC-d ka STEC-ks. Teised olulised diagnostilised EHEC patogeensuse tegurid ei ole mitte ainult *stx1/stx2* (Shiga toksiini geenid), vaid ka *eae* geen (*E. coli* kinnitumis- ja eemaldumisgeen), mis kodeerib membraanvalku intimiin. See membraanvalk vastutab patogeeni kleepumise eest soolestiku epiteelirakkudes.⁽⁴⁾ Kliinilised sümptomid, mida EHEC/STEC võivad inimestel põhjustada, ulatuvad verisest kõhulahtisusest kuni hemolüütilis-ureemilise sündroomini (HUS).^(2, 5) Nakkusallikaks on peamiselt saastunud toit, samas kui EHEC/STEC nakkuse põhjustamiseks piisab vähem kui 1000 bakterist. Kõige hullem toiduga seotud haiguspuhang, mille STEC

on Saksamaal siiani põhjustanud, oli 2011. aastal. Selle puhangu tagajärjel tuvastati 3816 STEC infektsiooni ja 54 surmajuhtumit, millest 32 olid seotud HUS-iga.⁽⁵⁾ Enteropatogeenne *E. coli* (EPEC) on tuntud kui laste kõhulahtisuse haiguste põhjustaja, eriti arengumaades.⁽³⁾ EPEC-d saab eristada EHEC-st Shiga toksiinide puudumise tõttu.⁽³⁾ Kõige sagedasemad EPEC infektsiooniga seotud sümptomid on vesine kõhulahtisus, kõhuvalu, iiveldus, oksendamine, ja palavik, samas kui tervetel täiskasvanutel on nakkusdoos umbes 10^8 organismi.⁽⁵⁾ Enteroinvasiivne *E. coli* (EIEC) ja *Shigella* spp. põhjustavad samuti kõhulahtisuse haigusi kogu maailmas, eriti arengumaades. Mõlemad on gramnegatiivsed bakterid, mis on omavahel biokeemiliselt ja geneetiliselt lähedalt seotud.⁽⁶⁾ EIEC ja *Shigella* spp. patogeensus põhineb plasmiidide poolt vahendatud invasioonil soolestiku epiteelirakkudesse ja nende hävimisel. Selle protsessi eest vastutavad invasiooniplasmidi H-antigeeni (*ipaH*) tooted. See geen on oluline EIEC / *Shigella* spp. tuvastamiseks ja seetõttu saab seda patotüüpi EHEC-st eristada. EIEC / *Shigella* spp. infektsioonide puhanguid peetakse peamiselt toiduga põhjustatud infektsioonideks, mis avalduvad kõhulahtisuse, kõhuvalu, iivelduse ja palavikuna.⁽⁶⁾

3. Analüüsi põhimõte

RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC on multipleksne reaalaajas PCR EHEC, STEC, EPEC ja EIEC / *Shigella* spp. virulentsustegurite geenide otseseks kvalitatiivseks tuvastamiseks ja eristamiseks inimese väljaheite- ja kultuuriproovides. Süsteemiga RIDA[®]UNITY on töötlemine täielikult automatiseeritud. Esiteks ekstraheeritakse nukleiinhapped, kasutades komplekti RIDA[®]UNITY Universal Extraction Kit ja sisekontrollikomplekti Internal Control Kit. Sihtmärkjärjestus tuvastatakse alati üheastmelises reaalaaja RT-PCR-vormingus (iseegi DNA-analüüsides), st pöördtranskriptsioon (RT) ja järgnev PCR tehakse ühes reaktsiooniviaalis. Selle käigus transkribeeritakse eraldatud RNA (kui seda on) pöördtranskriptaasi abil cDNA-ks. Seejärel amplifitseeritakse virulentsustegurite *stx1/stx2*, *eae* ja *ipaH* spetsiifilisi geenifragmente, kasutades reaalaajas PCR-i. Amplifitseeritud sihtmärkjärjestused tuvastatakse hüdrolüüsisondidega, mis on märgistatud ühes otsas kustutajaga ja teises otsas fluorestseeruva reportervärviga (fluorofooriga). Sondid hübridiseeruvad sihtmärkjärjestuse juuresolekul amplikoniks. Laiendamise ajal eraldab Taq polymerase reportermolekuli kustutajast. Reporter väljastab fluorestsentssignaali, mille tuvastab reaalaajas PCR-seadme optiline üksus. Moodustunud amplikonide hulga suurenedes tugevneb fluorestsentssignaal. Proovi valmistamise ja/või võimaliku PCR-i inhibitsiooni kontrollimiseks tuleb samal ajal kasutada sisekontrollikomplekti RIDA[®]UNITY Internal Control Kit.

4. Komplekti kuuluvad reaktiivid

Komplekti kuuluvatest reaktiividest piisab 96 määramiseks*.

Tabel 1. Komplekti kuuluvad reaktiivid

NR	Reaktiiv	Kogus		Kaane värv
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	kollane, kasutusvalmis
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	punane, kasutusvalmis
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 µL	sinine, kasutusvalmis
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 µL	valge, kasutusvalmis

* Korduval kasutamisel ja väiksemates seeriates võib reaktsioonide arv väheneda.

5. Säilitamissuunised

- Järgige tabelis 2 esitatud käsitsemissuuniseid ja säilitage komplekti vahetult pärast kasutamist neis kirjeldatud viisil.
- Kõiki reaktiive tuleb hoida valguse eest kaitstult temperatuuril -16 °C kuni -28 °C ning avamata kujul võib neid kasutada kuni etiketile trükitud aegumiskuupäevani. Kvaliteedigarantii pärast aegumiskuupäeva enam ei kehti.
- Kõik reaktiivid tuleb enne kasutamist hoolikalt sulatada (nt külmkapis temperatuuril 2 - 8 °C).
- Kuni 8 korda uuesti külmutamine ja sulatamine ei mõjuta analüüsi omadusi.

Tabel 2. Säilitamistingimused ja teave

	Säilitamistemperatuur	Maksimaalne säilitamisaeg
avamata	-16 °C kuni -28 °C	Võib kasutada kuni etiketile trükitud aegumiskuupäevani
avatud	-16 °C kuni -28 °C	8 külmutus-/sulatamistsüklit

6. Vajalikud reaktiivid, mis ei kuulu komplekti

Analüüs RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR on mõeldud kasutamiseks ainult süsteemiga RIDA®UNITY. Õigeks kasutamiseks on järgmised tooted hädavajalikud.

6.1 Reaktiivid

Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC läbiviimiseks on vaja järgmisi reaktiive.

Reaktiivid	Artikli number
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Laboriseadmed

Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC läbiviimiseks on vaja järgmisi seadmeid.

Seadmed
Süsteem RIDA®UNITY; artikli number: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY tarvikud (otsakud, plaadid, reaktsiooniviaalid, kiled). Teavet tarvikute tellimise kohta vaadake RIDA®UNITY süsteemi kasutusjuhendist.
Vorteksmikser
Lauapealne tsentrifuug
Pulbrivabad ühekordsed kindad

Väline tsükler (võimalik süsteemi täiustus)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

Komplekti RIDA®UNITY EHEC/EPEC saab kasutada koos teiste ühilduvate tsükleritega. Kasutaja peab kontrollima/valideerima alternatiivseid reaajas PCR-i seadmeid. Ühilduvuse kontrollimiseks võtke ühendust R-Biopharm AG-ga aadressil pcr@r-biopharm.de.

7. Hoiatused ja ettevaatusabinõud kasutajatele

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

Seda analüüsi tohivad teha ainult kvalifitseeritud laboritöötajad. Järgida tuleb meditsiinilaborites töötamise suuniseid.

Analüüsi tehes järgige alati rangelt kasutusjuhendit.

Ärge kasutage proovide ega reaktiivide pipeteerimisel oma suud. Vältige haavadele ja limaskestadele sattumist.

Kandke reaktiivide ja proovide käsitlemisel isikukaitsevahendeid (sobivaid kindaid, laborikitlit, kaitseprille) ja peske pärast analüüsi lõpetamist käsi.

Ärge suitsetage, sööge ega jooge kohtades, kus proove käsitletakse.

Vältige proovide ja komplekti komponentide saastumist mikroobide ning nukleaasidega (DNAas/RNAas).

Kliinilisi proove tuleb käsitleda potentsiaalselt nakkusohtlikena ja need tuleb nõuetekohaselt hävitada, nagu kõik potentsiaalselt nakkusohtlike proovidega kokkupuutuvad reaktiivid ja materjalid.

Ärge vahetage ega segage ühe komplekti partii komponente (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) teise partii komponentidega.

Testikomplekti võib kasutada 8 nädala jooksul pärast esimest avamist (komplekti võib kuni 6 korda uuesti laadida). Ärge kasutage testikomplekti pärast aegumiskuupäeva. Neid andmeid kontrollib ka RIDA[®]UNITY süsteem.

Kasutajad vastutavad kõigi reaktiivide ja materjalide nõuetekohase jäätmekäitluse eest. Järgige riiklikke jäätmekäitluse eeskirju.

Lisateavet ohutuskaardi (Safety Data Sheet, SDS) kohta leiate kaubanumbrilt aadressil <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Euroopa Liidu kasutajatele. Teatage kõigist tootega seotud rasketest kõrvaltoimetest ettevõttele R-Biopharm AG ja vastavatele riiklikele ametiasutustele.

Selle toote ohutuse ja toimivuse kokkuvõtte (SSP) on kättesaadav aadressil <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>, kui Euroopa meditsiiniseadmete andmebaas (EUDAMED) käivitub. Otsige seadet andmebaasist, kasutades seadme välispakendil olevat UDI-DI-d.

8. Proovide võtmine ja säilitamine

Analüüsiga RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC parima tulemuse saavutamiseks on soovitatav kasutada värsket proovimaterjali.

Vältige proovi korduvat külmutamist ja sulatamist.

Ärge võtke väljaheiteproove transpordimahutitesse, mis sisaldavad säilitusainetega transpordiaineid, loomseid seerumeid, metalliioone, oksüdeerivaid aineid või detergente, kuna need ained võivad RIDA[®]UNITY analüüse mõjutada.

Soovitatav on valmistada proovidest alikvoodid, et vältida korduvat sulatamist ja külmutamist. Külmutatud proovid tuleb vahetult enne ekstraheerimist üles sulatada, et vältida nukleiinhapete lagunemist.

Järgige tabelites 3 kuni 6 toodud proovi säilitamise suuniseid.

Tabel 3. Proovi säilitamine - EHEC tuvastamine

Töötlemata proovid - väljaheide		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 päeva	≤ 7 päeva	≤ 6 kuud

Töötlemata proovid - kultuur		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 päev	≤ 1 päev	-

Eluaadis (väljaheitest või kultuurist)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 tundi	≤ 36 tundi	≤ 7 päeva

Säilitamisel temperatuuril -20 °C / -80 °C ei mõjuta väljaheiteproovide korduv külmutamine/sulatamine (kuni 5 korda) testi omadusi.

Säilitamisel temperatuuril -20 °C ei mõjuta testi omadusi eluaadi (väljaheitest või kultuurist) korduv külmutamine/sulatamine kuni 3 korda.

Ärge kasvatage kultuure varem külmutatud väljaheitest, sest külmutamine mõjutab tugevalt patogeenide kasvuomadusi ja see võib põhjustada valenegatiivseid tulemusi.

Tabel 4. Proovi säilitamine - STEC tuvastamine

Töötlemata proovid - väljaheide		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 päeva	≤ 7 päeva	≤ 6 kuud

Töötlemata proovid - kultuur		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 päev	≤ 1 päev	-

Eluaadis (väljaheitest või kultuurist)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 tundi	≤ 36 tundi	≤ 7 päeva

Säilitamisel temperatuuril -20 °C / -80 °C ei mõjuta väljaheiteproovide korduv külmutamine/sulatamine (kuni 5 korda) testi omadusi.

Säilitamisel temperatuuril -20 °C ei mõjuta testi omadusi eluaadi (väljaheitest või kultuurist) korduv külmutamine/sulatamine kuni 3 korda.

Ärge kasvatage kultuure varem külmutatud väljaheitest, sest külmutamine mõjutab tugevalt patogeenide kasvuomadusi ja see võib põhjustada valenegatiivseid tulemusi.

Tabel 5. Proovi säilitamine - EPEC tuvastamine

Töötlemata proovid - väljaheide		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 päeva	≤ 7 päeva	≤ 6 kuud

Töötlemata proovid - kultuur		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 päev	≤ 1 päev	-

Eluaadis (väljaheitest või kultuurist)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 tundi	≤ 36 tundi	≤ 7 päeva

Säilitamisel temperatuuril -20 °C / -80 °C ei mõjuta väljaheiteproovide korduv külmutamine/sulatamine (kuni 5 korda) testi omadusi.

Säilitamisel temperatuuril -20 °C ei mõjuta testi omadusi eluaadi (väljaheitest või kultuurist) korduv külmutamine/sulatamine kuni 3 korda.

Ärge kasvatage kultuure varem külmutatud väljaheidest, sest külmutamine mõjutab tugevalt patogeenide kasvuomadusi ja see võib põhjustada valenegatiivseid tulemusi.

Tabel 6. Proovi säilitamine - EIEC / *Shigella* spp. tuvastamine

Töötlemata proovid - väljaheide		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 päev	≤ 7 päeva	≤ 6 kuud

Töötlemata proov - kultuur		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 1 päev	-

Eluaadis (väljaheidest või kultuurist)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 tundi	≤ 36 tundi	≤ 7 päeva

Säilitamisel temperatuuril -20 °C / -80 °C ei mõjuta väljaheideproovide korduv külmutamine/sulatamine (kuni 5 korda) testi omadusi.

Säilitamisel temperatuuril -20 °C ei mõjuta testi omadusi eluaadi (väljaheidest või kultuurist) korduv külmutamine/sulatamine kuni 3 korda.

Ärge kasvatage kultuure varem külmutatud väljaheidest, sest külmutamine mõjutab tugevalt patogeenide kasvuomadusi ja see võib põhjustada valenegatiivseid tulemusi.

8.1 DNA preparaadi valmistamine väljaheite- ja kultuuriproovidest

Väljaheite- ja kultuuriproovidest DNA isoleerimiseks kasutage komplekti RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Järgige komplekti RIDA®UNITY Universal Extraction Kit kasutusjuhendis esitatud õigeid protseduure (jaotis: Nukleiinhappe valmistamine väljaheideproovidest; jaotis: Nukleiinhappe valmistamine kultuuriproovidest).

9. Analüüsi protseduur

Pange komplekti RIDA®UNITY EHEC/EPEC proovid ja reaktiivid kasutamise alguses RIDA®UNITY süsteemi.

Segage esmalt kontrollmaterjale **Reaction Mix**, **Negative Control** ja **Positive Control**, kasutades vorteksmikserit. Ärge keerutage kontrollmaterjali **Enzyme Mix**. Seejärel tsentrifuugige lühidalt kõiki komponente.

Uuritavate proovide PCR-katsutid tuleb esmalt asetada integreeritud PCR-tsüklerisse.

Kandurid on saadaval reaktiivide ja tarvikute õigeks sisestamiseks süsteemi.

Laadimisprotsessi vaadake RIDA®UNITY süsteemi juhendist. Järgige RIDA®UNITY süsteemi kasutusjuhendi asjakohaseid jaotisi (jaotis: Tsükli sooritamine).

Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC võib kasutada ainult koos komplektiga RIDA®UNITY Internal Control Kit. See võimaldab varakult tuvastada potentsiaalset PCR-i inhibitsiooni, kontrollida reaktiivi terviklikkust ja kinnitada nukleiinhappe edukat ekstraheerimist. Protseduuri kirjeldatakse komplekti RIDA®UNITY Internal Control Kit kasutusjuhendis (jaotis: Analüüsi protseduur).

Automaatset töötlemist on kirjeldatud RIDA®UNITY süsteemi kasutusjuhendis (jaotis: Tsükli sooritamine).

9.1 Seadme sätted

9.1.1 Universaalse reaalaajas PCR-i profiil

Analüüside RIDA®UNITY ühtlustamiseks kinnitati analüüs RIDA®UNITY EHEC/EPEC universaalsel profiilil. See võimaldab DNA- ja RNA-analüüse omavahel kombineerida. Üldiselt on pöördtranskriptsioon seega universaalses profiilis esikohal.

Tabel 7. Universaalne reaalaaja PCR-profiil RIDA®UNITY jaoks

<u>Pöördtranskriptsioon</u>	10 min, 58 °C
Esialgne denatureerimine	1 min, 95 °C
Tsüklid	45 tsüklit
<u>PCR</u> Denatureerimine	10 s, 95 °C
Anniilimine/laiendamine	15 s, 60 °C
Temperatuuri üleminekukiirus/ rambikiirus	Maksimaalne

Märkus. Anniilimine ja laiendamine toimuvad samas etapis.

Tabel 8. Universaalne reaalaajas PCR-profiil CFX96™ Dx-i jaoks

<u>Pöördtranskriptsioon</u>	10 min, 58 °C
Esialgne denatureerimine	1 min, 95 °C
Tsüklid	45 tsüklit
<u>PCR</u> Denatureerimine	15 s, 95 °C
Anniilimine/laiendamine	30 s, 60 °C
Temperatuuri üleminekukiirus/ rambikiirus	Maksimaalne

Märkus. Anniilimine ja laiendamine toimuvad samas etapis.

9.2 Tuvastuskanali seadistamine

Tabel 9. Sobivate tuvastuskanalite valimine

Reaalajas PCR-i seade	Tuvastamine	Tuvastuskanal	Märkus
R-Biopharm RIDA®UNITY	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK-i kanal stx
	Sisekontroll	HEX	SEEK-i kanal ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK-i kanal ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK-i kanal eae
Bio-Rad CFX96™ Dx	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK-i kanal stx
	Sisekontroll	VIC	SEEK-i kanal ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK-i kanal ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK-i kanal eae

10. Kvaliteedikontroll - reaktiivide ebastabiilsuse või aegumise väljaselgitamine

Proove hinnatakse RIDA®UNITY süsteemi analüsitarkvaraga RIDA®SEEK.

Kontrollmaterjalid **Negative Control** ja **Positive Control** peavad näitama õigeid tulemusi (vt tabelit 9).

Kontrollmaterjal **Positive Control** on olemas kontsentratsiooniga 10^3 eksemplari μL kohta. Seda kasutatakse kokku 5×10^3 eksemplari igas PCR-i tsüklis.

Kontrollmaterjal **Negative Control** sisaldab juba RIDA®UNITY sisekontrolli. Kuna kontrollmaterjalid ei sisalda malli, ei ole sihtkanalites signaale oodata. Olulised on positiivsed signaalid IC-kanalis, millega sisekontrolli tuvastatakse (vt tabelit 10).

Tabel 10. Kehtiv PCR-i tsükkel peab vastama järgmistele tingimustele.

Proov	Tulemus	IC Ct	Sihtgeeni Ct
Positiivne kontrollmaterjal	+	Ei kohaldata*	Vt Certificate of Analysis
Negatiivne kontrollmaterjal	-	Ct > 20	0

* Teatud tingimustel võib IC-kanalil olla positiivne signaal positiivses kontrollmaterjalis ja seetõttu ei tohiks seda hinnata.

Kui positiivne kontrollmaterjal ei ole määratud Ct-vahemikus, kuid negatiivne kontrollmaterjal on kehtiv, tuleb kõiki reaktsioone, sealhulgas kontrollmaterjale, uuesti PCR-is analüüsida.

Kui negatiivne kontrollmaterjal ei ole negatiivne, kuid positiivne kontrollmaterjal on kehtiv, tuleb kõiki reaktsioone, sealhulgas kontrollmaterjale, uuesti PCR-is analüüsida.

Kui määratud väärtused ei ole täidetud, kontrollige enne analüüsi kordamist järgmisi punkte:

- Kasutatavate reaktiivide aegumiskuupäev
- Kasutatavate seadmete toimivus
- Õige testimisprotseduur

Kui tingimused ei ole pärast testi kordamist ikka täidetud, konsulteerige tootja või kohaliku R-Biopharmi hulgimüüjaga.

11. Hindamine ja tõlgendamine

Proovide hindamine ja tõlgendamine toimub RIDA®UNITY süsteemi analüüsitarkvaraga RIDA®SEEK.

Praegu ei ole standardimiseks olemas rahvusvaheliselt tunnustatud võrdlusmeetodit ega võrdlusmaterjali. Kontrollmaterjale saab spetsiifiliste DNA-amplikonide põhjal metrooloogiliselt jälgida R-Biopharm AG sisestandardite alusel.

Lisateabe saamiseks metrooloogilise jälgitavuse kohta pöörduge R-Biopharm AG poole.

Määratud väärtused, vahemikud ja lisaandmed leiate lisatud analüüsisertifikaadist (Certificate of Analysis, CoA).

Tabel 11. Tulemuste tõlgendamine*

Tuvastamine				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Tulemus
+	-	-	+/-	STEC (EHEC) tuvastatav
-	+	-	+/-	EIEC / <i>Shigella</i> spp. tuvastatav
-	-	+	+/-	EPEC tuvastatav
+	+	-	+/-	STEC (EHEC) ja EIEC / <i>Shigella</i> spp. tuvastatavad
+	-	+	+/-	EHEC tuvastatav
-	+	+	+/-	EIEC / <i>Shigella</i> spp. ja EPEC tuvastatavad
+	+	+	+/-	EHEC ja EIEC / <i>Shigella</i> spp. tuvastatavad
-	-	-	+	Sihtgeen pole tuvastatav
-	-	-	-	Kehtetu

* + = positiivne

- = negatiivne

Nakkuskaitseaduses (IfSG) kirjeldatakse EHEC-i kui Shiga toksiooni tootvat *E. coli* (STEC), mis on inimese patogeeni. Kuna inimese patogeeni STEC-d ei ole praegu võimalik täpselt määratleda, peetakse iga STEC-d potentsiaalseks EHEC-ks.⁽⁵⁾

Proov on positiivne, kui proovimaterjali DNA ja Internal Control näitavad tuvastussüsteemis amplifikatsioonisignaali.

Proov on samuti positiivne, kui proovimaterjali DNA näitab amplifikatsioonisignaali, kuid tuvastamissüsteem ei näita kontrollmaterjali Internal Control amplifikatsioonisignaali. Sellisel juhul pole

kontrollmaterjali **Internal Control** tuvastamine vajalik, kuna suur amplikoni kontsentratsioon võib põhjustada kontrollmaterjali **Internal Control** nõrka või puuduvat signaali.

Proov on negatiivne, kui proovimaterjali DNA ei näita amplifikatsioonisignaali, kuid kontrollmaterjali **Internal Control** amplifikatsioonisignaali on tuvastamissüsteemis nähtav. PCR-reaktsiooni inhibeerimise ja varasema ekstraheerimise saab välistada kontrollmaterjali **Internal Control** tuvastamisega.

Proov on kehtetu, kui proovimaterjali DNA ja kontrollmaterjal **Internal Control** ei näita tuvastussüsteemis amplifikatsioonisignaali. Proovis on inhibiitoreid või ekstraheerimisprotsessi käigus ilmses tõrge.

12. Meetodi piirangud

1. Analüüs RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC tuvastab EHEC, STEC, EPEC ja EIEC / *Shigella* spp. virulentsustegurite DNA töötlemata inimese väljaheite- ja kultuuriproovides. Sellest ei saa tuletada seost määratud Ct-väärtuse taseme ja raskete kliiniliste sümptomite esinemise vahel. Saadud tulemusi tuleb alati tõlgendada koos kõigi kliiniliste sümptomitega.
2. Diagnoos ei tohiks põhineda ainult molekulaarbioloogilise analüüsi tulemustel, vaid alati tuleb arvestada patsiendi haiguslugu ja sümptomeid.
3. See analüüs on heaks kiidetud ainult automaatseks töötlemiseks RIDA[®]UNITY süsteemi abil.
4. See analüüs on kinnitatud ainult väljaheite- ja kultuuriproovide jaoks.
5. Kultuurmaatriksi kasutamisel ärge kandke agarsöödet PCR-reaktsiooni, kuna see võib põhjustada võimalikku segavat mõju.
6. Nõuetevastane proovivõtt, transportimine, säilitamine ja käsitlemine või patogeenikoormus, mis jääb allapoole analüüsi analüütilist tundlikkust, võib põhjustada valenegatiivseid tulemusi.
7. PCR-i inhibiitorite olemasolu võib põhjustada valenegatiivseid või kehtetuid tulemusi.
8. Nagu kõigi PCR-i-põhiste *in vitro* diagnostiliste analüüside puhul, saab tuvastada väga väikseid sihtmärkjärjestuste kontsentratsioone, mis jäävad alla tuvastamiskiirguse (LoD 95 %). Saadud tulemused ei ole alati korratavad.
9. Mutatsioonid või polümorfismid praimerite või sondi sidumiskohtades võivad segada uute või tundmatute variantide tuvastamist ja põhjustada analüüsi RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC kasutamisel valenegatiivseid tulemusi.
10. Positiivne analüüsitulemus ei näita tingimata elujõuliste organismide olemasolu. Positiivne tulemus näitab, et sihtgeenid (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae*; EIEC / *Shigella* spp., *ipaH*) on olemas.
11. See analüüs tuleb teha hea laboritava määruse (GLP) kohaselt. Kasutajad peavad analüüsi tegemisel tootja suuniseid täpselt järgima.

13. Toimivusnäitajad

13.1 Kliinilised toimivusnäitajad

Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR võrreldi välises laboris CE-märgisega referentsanalüüsiga, mis põhines 276 väljaheiteproovil patsientidelt, kellel esinesid seedetrakti infektsiooni sümptomid.

Tulemused näitavad väga kõrget tundlikkust ja spetsiifilisust EHEC, STEC, EPEC ja EIEC / *Shigella* spp. virulentsustegurite tuvastamisel komplektiga RIDA®UNITY EHEC/EPEC.

Tabel 12. *Stx1/2* tuvastamine - väljaheiteproovid

		Võrdlus-PCR		Kokku
		Positiivne	Negatiivne	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Positiivne	122	0	122
	Negatiivne	5	149	154
	Kokku	127	149	276

Suhteline tundlikkus (95 % CI)	96,1% (91,1 % - 98,7 %)
Suhteline spetsiifilisus (95 % CI)	100 % (97,6-100 %)

Tabel 13. *ipaH* tuvastamine - väljaheiteproovid

		Võrdlus-PCR		Kokku
		Positiivne	Negatiivne	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Positiivne	65	0	65
	Negatiivne	0	211	211
	Kokku	65	211	276

Suhteline tundlikkus (95 % CI)	100 % (94,5 % - 100 %)
Suhteline spetsiifilisus (95 % CI)	100 % (98,3 % - 100 %)

Tabel 14. Eae tuvastamine - väljaheiteproovid

		Võrdlus-PCR		Kokku
		Positiivne	Negatiivne	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - eae	Positiivne	179	0	179
	Negatiivne	4	93	97
	Kokku	183	93	276

Suhteline tundlikkus (95 % CI)	97,8 % (94,5 % - 100 %)
Suhteline spetsiifilisus (95 % CI)	100 % (96,1 % - 100 %)

13.2 Analüütilised toimivusnäitajad

13.2.1 Tuvastuspiir (LoD 95 %)

Positiivset kontrollproovi (negatiivsed väljaheiteproovid, rikastatud; või kasutades kultuuriproovi) mõõdeti iga sihtmärgi puhul viies lahjendusastmes (0,25-log astmetena), kusjuures ühes partiis mõõdeti LoD määramiseks 20 kordusmääramist ühe astme kohta. Sellele järgnes probitanalüüs. Seejärel kinnitati arvatud LoD 20 kordusega sihtmärgi kohta arvatud lahjendusetapi/kontsentratsiooni puhul. Analüüsamiseks kasutati järgmisi tüvesid.

- *stx1/stx2*: *Escherichia coli* D3509 (parameetri *stx2* LoD määrati, sest *stx2* on seotud hemolüütilis-ureemilise sündroomiga.)
- *ipaH*: *Escherichia coli* Fr1368
- *eae*: *Escherichia coli* DSM8695

EHEC, STEC, EPEC ja EIEC / *Shigella* spp. DNA tuvastamiseks analüüsiga RIDA®UNITY EHEC/EPEC süsteemis UNITY määrati kindlaks järgmised tuvastuspiirid (LoD).

Nende mõõtmiste tulemused on antud tabelis 15.

Tabel 15. Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC tuvastuspiiride tulemused sihtmärkide *stx1/2*, *ipaH* ja *eaepuhul*.

	Maatriks	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Väljaheide	476 000 CFU/mL	5300 CFU/mL	125 000 CFU/mL
	Kultuur	2130 CFU/mL	798 CFU/mL	2890 CFU/mL

* CFU: Colony Forming Units

Parameetri *stx1/2* LoD väljaheiteproovides määrati tasemel 476 000 CFU/mL.

Parameetri *ipaH* LoD väljaheiteproovides määrati tasemel 5300 CFU/mL.

Parameetri eae LoD väljaheiteproovides määrati tasemel 125 000 CFU/mL.

Parameetri *stx1/2* LoD kultuuriproovides määrati tasemel 2130 CFU/mL.

Parameetri *ipaH* LoD kultuuriproovides määrati tasemel 798 CFU/mL.

Parameetri eae LoD kultuuriproovides määrati tasemel 2890 CFU/mL.

Täiustatud töövoo jaoks, kasutades CFX96™ Dx-i, kinnitati need LoD väärtused eeldusel, et jääme 2-3-kordsesse LoD vahemikku.

13.2.2 Analüütiline spetsiifilisus

Segavad ained

Reaalajas PCR-i inhibiitorite ja segavate ainete olemasolu võib põhjustada valenegatiivseid või kehtetuid tulemusi. Seetõttu uuriti erinevate ainete mõju, mis võivad esineda, arvestades nende laialdast kasutamist seedetrakti infektsioonide raviks või nende laialdast esinemist vastavates proovides.

Aineid, mis võisid testitulemusi oluliselt mõjutada, uuriti esialgu suures kontsentratsioonis (kolmekordne ööpäevane annus või halvima juhtumi simulatsioon) segava mõju suhtes.

Tabelis 16 loetletud ainete puhul segavat mõju ei leitud.

Tabel 16. Potentsiaalselt segavad ained

Potentsiaalselt segav aine	Kontsentratsioon
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg õhukese polümeerikattega tabletid (asitromütsiin)	0,75 % [v/v]
Baariumsulfaat	18,5 % [v/v]
Cologran® vedel magusaine (sahhariin + tsüklamaat)	1,3 % [v/v]
Inimveri	5 % [v/v]
Söetabletid 250 mg (süsi)	6 % [v/v]
Loperamid-ratiopharm® akut (loperamiid)	0,02 % [v/v]
Mutsiinid	5 % [v/v]
Steariinhape/palmitiinhape	40 % [v/v]

Ristreaktsioonid

Uuriti erinevaid organisme (bakterid, parasiidid, seened ja viirused), mida tavaliselt väljaheite maatriksis leidub. Selle analüüsi jaoks uuritavad mikroorganismid valiti seetõttu, et neid leidub väljaheiteproovides loomulikult või need põhjustavad seedetrakti patogeenidena vastavaid sümptomeid. Analüüsiks kasutati bakterikultuure (vahemikus 10^6 ja 10^9 CFU/mL), seene- või viiruskultuure, viiruskultuuride supernatante, isolaate ja vastavate organismide LGC-standardeid.

Analüüs RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR on spetsiifiline EHEC, STEC, EPEC ja EIEC / *Shigella* spp. jaoks. Ristreaktsioone järgmiste liikidega ei tuvastatud (vt tabelit 17).

Tabel 17. Potentsiaalselt ristreaktiivsed organismid.

Organism	Testitulemus*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenoviirus 40	-	-	-
Adenoviirus 41, inimese, tüvi Tak	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
Astroviirus 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 Clone C6	-	-	-
<i>Giardia lamblia</i> **	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-
Noroviiirus GI	-	-	-
Noroviiirus GII	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-
Rotaviirus	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serovar Enteritidis)	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serovar Typhimurium)	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-

* - = negatiivne

** *Giardia intestinalis* ja *Giardia lamblia* on sama organism.

13.2.3 Täpsus

Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR täpsus määrati järgmiste kaalutlustasemetega jaoks.

Testisisene täpsus: 5 kontrollproovi määramine 20 kordusanalüüsiga seadmel RIDA®UNITY identsetes tingimustes.

Testidevaheline täpsus: 5 kontrollproovi määramine 20 tsüklis 10 tööpäeva jooksul (2 tsüklit päevas), mida teevad erinevad tehnikud korratavates tingimustes.

Testide-*sisese ja -vahelise* täpsuse kontrollimiseks kasutati kolme erinevat partiid.

Analüüsiga RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR süsteemidel RIDA®UNITY ja CFX96™ Dx iga mõõtmise kohta saadud variatsioonikoefitsiendid olid 4,29 %.

Tabel 18. Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC *stx1/2* täpsuse tulemused väljaheiteproovidest (süsteem RIDA®UNITY).

Ct	Keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline
		Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplektipartiid 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 (%)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	2,15 %	2,23 %	2,26 %	2,28 %
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	CV (%)	2,34 %	2,05 %	2,13	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Tabel 19. Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC *stx1/2* täpsuse tulemused väljaheiteproovidest (süsteem CFX96™ Dx).

Ct	Keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline
		Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplektipartiid 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 (%)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	2,96 %	2,90 %	2,76 %	3,04 %
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	CV (%)	1,52 %	1,59 %	3,43 %	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Tabel 20. Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC *ipaH* täpsuse tulemused väljaheiteproovidest (süsteem RIDA®UNITY).

Ct	Keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline
		Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplektipartiid 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 (%)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	1,44 %	1,34 %	1,45 %	1,42 %
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	CV (%)	0,88 %	0,77 %	0,69 %	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Tabel 21. Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC *ipaH* täpsuse tulemused väljaheiteproovidest (CFX96™ Dx).

Ct	Keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline
		Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplektipartiid 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 (%)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	1,27 %	1,45 %	1,36 %	1,36 %
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	CV (%)	0,89 %	0,53 %	0,70 %	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Tabel 22. Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC eae täpsuse tulemused väljaheiteproovidest (süsteem RIDA®UNITY).

Ct	Keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline
		Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplektipartiid 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 (%)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	1,81 %	1,78 %	1,81 %	1,80 %
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	CV (%)	1,24 %	0,78 %	1,18 %	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Tabel 23. Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC eae täpsuse tulemused väljaheiteproovidest (süsteem CFX96™ Dx).

Ct	Keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline
		Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplektipartiid 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 (%)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	1,32 %	1,58 %	1,48 %	1,47 %
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	CV (%)	0,73 %	0,55 %	0,68 %	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

13.2.4 Analüütiline reaktiivsus

Analüüsi RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR reaktiivsust analüüsiti *E. coli* ja *Shigella* tüvede määratletud paneelil (vt tabelit 24).

Tabel 24. Analüütilise reaktiivsuse analüüsimine

Tüvi	Tulemus*		
	<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>	-	+	-

* + = positiivne (vähemalt kaks kolmest kordusmääramisest positiivsed)










- = negatiivne

14. Versiooniajalugu





Versiooni number	Jaotis ja tähistus
2022-06-14	Väljaande versioon

15. Sümbolite selgitus

Üldised sümbolid

	<i>In vitro</i> diagnostiliseks kasutamiseks
	Järgige kasutusjuhendit
	Partiinumber
	Kasutada enne
	Säilitamistemperatuur
	Artikli number
	Analüüside arv
	Tootmiskuupäev
	Tootja

Analüüsipõhised sümbolid

	Reaktsioonisegu
	Ensüümisegu
	Negatiivne kontrollmaterjal
	Positiivne kontrollmaterjal

16. Viited

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).