

RIDA® UNITY EHEC/EPEC

REF UN2205



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

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



0123

1. Javasolt alkalmazás

In vitro diagnosztikai alkalmazásra. A RIDA®UNITY platformon végzett RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt egy multiplex real-time PCR az EHEC, STEC, EPEC és EIEC/*Shigella* spp. virulenciafaktorok DNS-ének közvetlen kvalitatív kimutatására kezeletlen emberi székletmintákban és akut gastroenteritisz jeleit és tüneteit mutató személyektől származó tenyésztett mintákban.

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt célja az *E. coli* fertőzések (EHEC, EPEC, STEC és EIEC/*Shigella* spp.) differenciáldiagnózisának támogatása egyéb klinikai és laboratóriumi leletekkel együtt, a gastroenteritisz tüneteit mutató betegekénél.

A negatív eredmények nem zárják ki az *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC vagy EIEC/*Shigella* spp.) fertőzést, és nem használhatók a diagnózis kizárólagos alapjául.

A terméket kizárólag szakemberek használhatják.

2. A vizsgálat magyarázata és leírása

A hasmenéses megbetegedések jelentős egészségügyi problémát jelentenek, világszerte évente kb. 1,7 milliárd eset fordul elő gyermekeknél.⁽¹⁾ Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) szerint évente körülbelül 525 000 halálesettel az 5 év alatti gyermekek körében ezek a betegségek jelentik a második vezető halálozási okot, különösen a fejlődő országokban.⁽¹⁾ A hasmenéses megbetegedések egyik leggyakoribb bakteriális kórokozója az *Escherichia coli*.⁽²⁾

Az *E. coli* egy Gram-negatív, laktózfermentáló, mozgékony baktérium, amely az *Enterobacteriaceae* családba tartozik. Az egészséges gyomor- és bélrendszerben is jelen van, de hasmenéses megbetegedéseket is okozhat, amelyek magas morbiditással és mortalitással járnak a gyermekek körében, különösen a fejlődő országokban. A baktérium virulenciajellemzői, epidemiológiája és klinikai tüneteinek alapján a következő hasmenéskeltő *E. coli* osztályokat azonosították: enteropatogén *E. coli* (EPEC), enterotoxikus *E. coli* (ETEC), enterohemorragiás *E. coli* (EHEC), enteroinvazív *E. coli* (EIEC) és enteroaggregatív *E. coli* (EAEC). Az *E. coli* valamennyi hasmenéskeltő patotípusa átvihető a széklet szájon át történő bekerülésével.⁽³⁾

A bélpatogén *E. coli*-k közül az enterohemorragiás *E. coli*-k (EHEC) különös jelentőséggel bírnak. Az EHEC a Shiga-toxint és verotoxint termelő *E. coli* (STEC és VTEC) alcsoportja. Az STEC patogenitása arra vezethető vissza, hogy a bélhámsejtekhez tapadva képes kolonizálódni a bélben. A kolonizáció után a baktériumok képesek előállítani két citotoxint: a verotoxin 1-et és 2-t. A verotoxinoknak a *Shigella dysenteriae* Shiga-toxinjához való hasonlósága miatt a VTEC-et STEC-nek is nevezik. További fontos diagnosztikai EHEC-patogenitási faktorok az *stx1/stx2* (Shiga toxin gének) mellett az *eae* gén (*E. coli* rögzítő és leválasztó gén), amely az intimin nevű membránfehérjét kódolja. Ez a membránfehérje felelős a kórokozónak a bélhámsejtekhez való tapadásáért.⁽⁴⁾ Az EHEC/STEC által emberekben okozott klinikai tünetek a véres hasmenéstől a hemolitikus urémiás szindrómáig (HUS) terjednek.^(2, 5) A fertőzés forrásai elsősorban

a szennyezett élelmiszerek, míg az EHEC/STEC-fertőzéshez kevesebb, mint 1000 baktérium elegendő. Németországban az STEC által okozott eddigi legsúlyosabb, élelmiszerekkel kapcsolatos járvány 2011-ben tört ki. Ez a járvány 3816 azonosított STEC-fertőzést és 54 halálesetet eredményezett, amelyek közül 32 a HUS-hez kapcsolódott.⁽⁵⁾

Az enteropatogén *E. coli* (EPEC) a gyermekkori hasmenéses megbetegedések okozójaként ismert, különösen a fejlődő országokban.⁽³⁾ Az EPEC-et a Shiga-toxinok hiánya különbözteti meg az EHEC-től.⁽³⁾ Az EPEC-fertőzés leggyakoribb tünetei a vizes hasmenés, hasi fájdalom, hányinger, hányás és láz, míg egészséges felnőtteknél a fertőző dózis körülbelül 10^8 mikroorganizmus.⁽⁵⁾

Az enteroinvazív *E. coli* (EIEC) és a *Shigella* spp. szintén hasmenéses megbetegedéseket okoz világszerte, különösen a fejlődő országokban. Mindkettő Gram-negatív baktérium, amelyek biokémiai és genetikailag szoros rokonságban állnak egymással.⁽⁶⁾ Az EIEC és a *Shigella* spp. patogenitása azon alapul, hogy a plazmidok bekerülnek a bélhámsejtekbe, és ezt követően azok elpusztulnak. Ezért a folyamatért a bekerülő plazmid antigén H gén (*ipaH*) termékei felelősek. Ez a gén fontos az EIEC/*Shigella* spp. kimutatásához, és így alkalmas ennek a patotípusnak az EHEC-től való megkülönböztetésére. Az EIEC/*Shigella* spp. fertőzések kitörését elsősorban élelmiszer okozta fertőzésnek tekintik, és hasmenéssel, hasi fájdalommal, hányingerrel és lázzal járnak.⁽⁶⁾

3. A vizsgálat elve

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC egy multiplex real-time PCR az EHEC, STEC, EPEC és EIEC/*Shigella* spp. virulenciafaktor génjeinek közvetlen kvalitatív kimutatására és differenciálására emberi széklet- vagy tenyésztett mintákban.

A feldolgozás teljesen automatizáltan, a RIDA®UNITY rendszerrel történik. Először a nukleinsavakat a RIDA®UNITY Universal Extraction Kit és az Internal Control Kit segítségével extraháljuk.

A célszekvencia kimutatása mindig egylépéses valós idejű RT-PCR formátumban történik (még DNS-vizsgálatok esetén is), azaz a reverz transzkripció (RT) és az azt követő PCR egy reakcióüvegben zajlik. A folyamat során az izolált RNS-t (ha jelen van) reverz transzkriptáz segítségével cDNS-sé írnak át. Ezután a virulenciafaktorok *stx1/stx2*, *eae* és *ipaH* specifikus génfragmentumait valós idejű PCR segítségével amplifikálják.

Az amplifikált célszekvenciákat hidrolízis próbák segítségével detektálják, amelyek egyik végükön csillapítóval, másik végükön fluoreszcens jelzőfestékkel (fluorofórral) vannak jelölve. A próbák a célszekvencia jelenlétében hibridizálódnak az amplikonhoz. A lánchosszabbodás során a Taq polimeráz elválasztja a jelzőt a csillapítótól. A jelző fluoreszcens jelet bocsát ki, amelyet a valós idejű PCR-készülék optikai egysége érzékel. A fluoreszcens jel a képződött amplikonok mennyiségével növekszik. A RIDA®UNITY Internal Control Kit készletet egyidejűleg kell használni, hogy ellenőrizni lehessen a minta előkészítését és/vagy az esetleges PCR-gátlást.

4. Rendelkezésre bocsátott reagensek

A készletben lévő reagensek 96 meghatározáshoz elegendőek*.

1. táblázat: Rendelkezésre bocsátott reagensek

REF	Reagens	Mennyiség		Fedél színe
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	sárga, használatra kész
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	piros, használatra kész
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 µL	kék, használatra kész
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 µL	fehér, használatra kész

*Ismételt használat esetén és kisebb sorozatokban a reakciók száma csökkenhet.

5. Tárolási utasítások

- Kérjük, kövesse a 2. táblázatban szereplő kezelési útmutatót, és a készletet közvetlenül a használat után a megadott információknak megfelelően tárolja.
- Minden reagenst fénytől védve, -16 °C és -28 °C között kell tárolni, és ha bontatlanok, a címkén feltüntetett lejárati dátumig felhasználhatók. A minőségi garancia a lejárati dátum után már nem érvényes.
- Minden reagenst felhasználás előtt gondosan fel kell olvasztani (pl. hűtőszekrényben, 2 - 8 °C-on).
- A legfeljebb 8-szori ismételt fagyasztás és felolvasztás nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

2. táblázat: Tárolási feltételek és információk

	Tárolási hőmérséklet	Maximális tárolási idő
bontatlan állapotban	-16 °C és -28 °C között	A nyomtatott lejárati dátumig használható
bontott állapotban	-16 °C és -28 °C között	8 lefagyasztási-felolvasztási ciklus

6. Szükséges, de nem biztosított reagensek

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR test kizárólag a RIDA®UNITY rendszerrel való használatra szolgál. A helyes használathoz feltétlenül szükségesek a következő termékek:

6.1. Reagensek

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt elvégzéséhez a következő reagensek szükségesek:

Reagensek	Tételszám
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2. Laboratóriumi felszerelés

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt elvégzéséhez a következő felszerelésekre van szükség:

Felszerelés
RIDA®UNITY rendszer; cikkszám: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY fogyóeszközök (hegyek, lemezek, reakcióüvegek, filmek). Lásd a RIDA®UNITY rendszer használati utasítását, a fogyóeszközök rendelési információit.
Vortex-keverő
Asztali centrifuga
Hintőpormentes eldobható kesztyű

Külső PCR-készülék (lehetséges rendszerfejlesztés)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC készletek más kompatibilis készülékekkel együtt használhatók. Az alternatív valós idejű PCR-eszközöket a felhasználónak kell ellenőriznie/hitelesítenie. A kompatibilitás ellenőrzése érdekében kérjük, lépjen kapcsolatba az R-Biopharm AG-val a következő címen: pcr@r-biopharm.de.

7. Figyelmeztetések és óvintézkedések a felhasználók számára

In vitro diagnosztikai alkalmazásra.

A vizsgálatot csak képezített laboratóriumi szakszemélyzet végezheti. Az orvosi laboratóriumokban való munkavégzésre vonatkozó irányelveket be kell tartani.

A vizsgálat elvégzésekor mindig szigorúan tartsa be a kezelési kézikönyvet.

Ne pipettázzon mintákat vagy reagenseket a szájával. Kerülje a sérült bőrrel és nyálkahártyával való érintkezést.

A reagensek és minták kezelésénél viseljen egyéni védőeszközt (megfelelő kesztyűt, laboratóriumi köpenyt, védőszemüveget), és a vizsgálat elvégzése után mosson kezet.

Ne dohányozzon, ne egyen vagy igyon azokon a területeken, ahol a mintákat kezeli.

Ügyeljen arra, hogy a minták és a készlet összetevői ne szennyeződjenek mikrobákkal és nukleázokkal (DNáz/RNáz).

A klinikai mintákat potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és megfelelően kell ártalmatlanítani, mint minden olyan reagenst és anyagot, amely potenciálisan fertőző mintákkal érintkezik.

Az egyik készletből származó komponenseket (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) ne cserélje ki és ne keverje össze egy másik készlet komponenseivel.

A tesztkészlet az első felbontás után 8 hétig használható (a készlet legfeljebb 6 alkalommal tölthető újra). A tesztkészletet a lejáratí idő után ne használja fel.

Ezeket az előírásokat a RIDA®UNITY rendszer is ellenőrzi.

Az összes reagens és anyag használat utáni megfelelő ártalmatlanításáért a felhasználók felelősek. Az ártalmatlanítással kapcsolatban kérjük, tartsa be az országos előírásokat.

A biztonsági adatlap (Safety Data Sheet, SDS) további részletei a cikkszám alatt található a következő címen: <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Az Európai Unióban lévő felhasználók számára: Jelentsen minden, a termékkel kapcsolatos súlyos nemkívánatos eseményt az R-Biopharm AG vállalatnak és a megfelelő nemzeti hatóságoknak.

A termék biztonsági és teljesítmény-összefoglalója (SSP) a <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> címen lesz elérhető, amint az orvostechikai eszközök európai adatbázisa (European Database on Medical Devices, EUDAMED) elindul. Az adatbázisban keresse meg az eszközt az eszköz külső csomagolásán található UDI-DI-kód segítségével.

8. A minták levétele és tárolása

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC vizsgálat lehető legjobb teljesítményének elérése érdekében ajánlott friss mintaanyagot használni.

Kerülje a minta ismételt lefagyasztását és felolvasztását.

Ne gyűjtse a székletmintákat olyan szállítóedényekbe, amelyek tartósítószereket, állati szérumokat, fémionokat, oxidálószeret vagy tisztítószereket tartalmazó szállítóközegeket tartalmaznak, mivel ezek az anyagok zavarhatják a RIDA®UNITY teszteket.

Ajánlott a mintákból alikvotokat készíteni az ismételt felolvasztás és fagyasztás elkerülése érdekében. A fagyasztott mintákat közvetlenül az extrakció előtt fel kell olvasztani a nukleinsavak lebomlásának megelőzése érdekében.

Kövesse a 3-6. táblázatokban szereplő mintatárolási utasításokat..

3. táblázat: A minta tárolása - EHEC kimutatása

Natív minták - széklet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 nap	≤ 7 nap	≤ 6 hónap

Natív minták - tenyészet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 nap	≤ 1 nap	-

Eluátumban (székletből vagy tenyészetből)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 óra	≤ 36 óra	≤ 7 nap

-20 °C / -80 °C-os tárolási hőmérséklet esetén a székletminta legfeljebb 5 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

-20 °C-os tárolási hőmérséklet esetén az eluátum (székletből vagy tenyészetből) legfeljebb 3 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

Ne végezzen tenyésztést korábban fagyasztott székletből, mert a fagyasztás súlyosan befolyásolja a kórokozók növekedési jellemzőit, és ez hamis negatív eredményeket okozhat.

4. táblázat: A minta tárolása - STEC kimutatása

Natív minták - széklet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 nap	≤ 7 nap	≤ 6 hónap

Natív minták - tenyészet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 nap	≤ 1 nap	-

Eluátumban (székletből vagy tenyészetből)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 óra	≤ 36 óra	≤ 7 nap

-20 °C / -80 °C-os tárolási hőmérséklet esetén a székletminta legfeljebb 5 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

-20 °C-os tárolási hőmérséklet esetén az eluátum (székletből vagy tenyészetből) legfeljebb 3 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

Ne végezzen tenyésztést korábban fagyasztott székletből, mert a fagyasztás súlyosan befolyásolja a kórokozók növekedési jellemzőit, és ez hamis negatív eredményeket okozhat.

5. táblázat: A minta tárolása - EPEC kimutatása

Natív minták - széklet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 nap	≤ 7 nap	≤ 6 hónap

Natív minták - tenyészet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 nap	≤ 1 nap	-

Eluátumban (székletből vagy tenyészetből)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 óra	≤ 36 óra	≤ 7 nap

-20 °C / -80 °C-os tárolási hőmérséklet esetén a székletminta legfeljebb 5 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

-20 °C-os tárolási hőmérséklet esetén az eluátum (székletből vagy tenyészetből) legfeljebb 3 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

Ne végezzen tenyésztést korábban fagyasztott székletből, mert a fagyasztás súlyosan befolyásolja a kórokozók növekedési jellemzőit, és ez hamis negatív eredményeket okozhat.

6. táblázat: A minta tárolása - EIEC/Shigella spp. kimutatása

Natív minták - széklet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 nap	≤ 7 nap	≤ 6 hónap

Natív minta - tenyészet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 1 nap	-

Eluátumban (székletből vagy tenyészetből)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 óra	≤ 36 óra	≤ 7 nap

-20 °C / -80 °C-os tárolási hőmérséklet esetén a székletminta legfeljebb 5 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

-20 °C-os tárolási hőmérséklet esetén az eluátum (székletből vagy tenyészetből) legfeljebb 3 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

Ne végezzen tenyésztést korábban fagyasztott székletből, mert a fagyasztás súlyosan befolyásolja a kórokozók növekedési jellemzőit, és ez hamis negatív eredményeket okozhat.

8.1. DNS-előkészítés széklet- és tenyészetmintából

A széklet- és tenyészetmintából történő DNS-izoláláshoz használja a RIDA®UNITY Universal Extraction Kit készletet. Kövesse a RIDA®UNITY Universal Extraction Kit használati utasításában leírt helyes eljárásokat (Szakasz: Nukleinsav-előkészítés székletmintákból; Szakasz: Nukleinsav-előkészítés tenyészetmintákból).

9. Vizsgálati eljárás

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC készlet mintáit és reagenseit a használat kezdetén helyezze a RIDA®UNITY rendszerre.

Előzetesen keverje össze megfelelően a **Reaction Mix** reakcióelegyet, a **Negative Control** negatív kontrollt és a **Positive Control** pozitív kontrollt egy vortex-keverő segítségével. Az **Enzyme Mix** enzimkeveréket ne vortexelje. Ezután rövid ideig centrifugálja az összes komponenst.

A vizsgálandó minták PCR-csőveit előzetesen be kell helyezni az integrált PCR-készülékbe.

A rendszer reagensekkel és fogyóeszközökkel való megfelelő feltöltéséhez hordozók állnak rendelkezésre. A betöltési folyamat során kövesse a RIDA®UNITY rendszer utasításait. Tartsa be a RIDA®UNITY rendszer kézikönyvének vonatkozó szakaszait (Szakasz: Futtatás végrehajtása).

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt csak a RIDA®UNITY Internal Control Kit készlettel együtt használható. Ez lehetővé teszi a lehetséges PCR-gátlás korai felismerését, a reagens integritásának ellenőrzését és a sikeres nukleinsav-eltávolítás megerősítését. Az eljárást a RIDA®UNITY Internal Control Kit használati utasítása ismerteti (Szakasz: Vizsgálati eljárás).

Az automatizált feldolgozást a RIDA®UNITY rendszer kézikönyve ismerteti (Szakasz: Futtatás végrehajtása).

9.1. Eszköz beállításai

9.1.1. Univerzális valós idejű PCR-profil

A RIDA®UNITY vizsgálatok harmonizálása érdekében a RIDA®UNITY EHEC/EPEC vizsgálatot az univerzális profilban ellenőrizték. Ez lehetővé teszi a DNS- és RNS-vizsgálatok egymással való kombinálását. A reverz transzkripció ezért az univerzális profilban általában az első helyen áll.

7. táblázat: Univerzális valós idejű PCR-profil a RIDA®UNITY rendszerhez

<u>Reverz transzkripció</u>	10 perc, 58 °C
Kezdeti denaturáció	1 perc, 95 °C
Ciklusok	45 ciklus
<u>PCR</u> Denaturáció	10 másodperc, 95 °C
Hőkezelés/lánchosszabbítás	15 másodperc, 60 °C
Hőmérséklet-átmeneti sebesség/ felmelegedési sebesség	Maximális

Megjegyzés: A hőkezelés és a lánchosszabbítás ugyanabban a lépésben történik.

8. táblázat: Univerzális valós idejű PCR-profil CFX96™ Dx készülékhez

<u>Reverz transzkripció</u>	10 perc, 58 °C
Kezdeti denaturáció	1 perc, 95 °C
Ciklusok	45 ciklus
<u>PCR</u> Denaturáció	15 másodperc, 95 °C
Hőkezelés/lánchosszabbítás	30 másodperc, 60 °C
Hőmérséklet-átmeneti sebesség/ felmelegedési sebesség	Maximális

Megjegyzés: A hőkezelés és a lánchosszabbítás ugyanabban a lépésben történik.

9.2. Detektálási csatorna beállítása

9. táblázat: A megfelelő detektálási csatornák kiválasztása

Valós idejű PCR-eszköz	Kimutatás	Detektálási csatorna	Megjegyzés
R-Biopharm RIDA®UNITY	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK csatorna stx
	Internal Control	HEX	SEEK csatorna ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK csatorna ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK csatorna eae
Bio-Rad CFX96™ Dx	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK csatorna stx
	Internal Control	VIC	SEEK csatorna ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK csatorna ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK csatorna eae

10. Minőségellenőrzés - a reagensek instabilitásának vagy lejáratának jelzése

A minták kiértékelése a RIDA®UNITY rendszer RIDA®SEEK analitikai szoftverével történik. A **Negative Control** negatív kontrollnak és a **Positive Control** pozitív kontrollnak a megfelelő eredményeket kell mutatnia (lásd 9. táblázat).

A **Positive Control** pozitív kontroll 10^3 kópia/ μ L koncentrációban van jelen. Minden PCR-futtatásban összesen 5×10^3 kópiában használják.

A **Negative Control** negatív kontroll már tartalmazza a RIDA®UNITY Internal Control belső kontrollt. Mivel a kontrollok nem tartalmazzak sablont, a célsatornákon nem várható jelek. A pozitív jelek elengedhetetlenek azon az IC-csatornán, amellyel a belső kontrollt érzékelik (lásd 10. táblázat).

10. táblázat: Az érvényes PCR-futtatásnak a következő feltételeknek kell megfelelnie:

Minta	Eredmény	IC Ct	Ct célgén
Pozitív kontroll	+	N/A*	Lásd: Certificate of Analysis
Negatív kontroll	-	Ct > 20	0

*Bizonyos körülmények között az IC-csatorna pozitív jelet adhat a pozitív kontrollban, ezért nem kell értékelni.

Ha a pozitív kontroll nem a megadott Ct-tartományon belül van, de a negatív kontroll érvényes, akkor minden reakciót, így a kontrollokat is újra kell elemezni a PCR során.

Ha a negatív kontroll nem negatív, de a pozitív kontroll érvényes, akkor minden reakciót, így a kontrollokat is újra kell elemezni a PCR során.

Ha a megadott értékek nem teljesülnek, a vizsgálat megismétlése előtt ellenőrizze a következő elemeket:

- A használt reagensek lejáratú ideje
- A használt berendezések alkalmassága
- Helyes vizsgálati eljárás

Ha a feltételek még a teszt ismételt elvégzése után sem teljesülnek, kérjük, lépjen kapcsolatba a gyártóval vagy a helyi R-Biopharm forgalmazójával.

11. Kiértékelés és értelmezés

A minták kiértékelése és értelmezése a RIDA®UNITY rendszer RIDA®SEEK analitikai szoftverének a segítségével történik.

Jelenleg nincs nemzetközileg elismert referenciamódszer vagy referenciaanyag a standardizáláshoz. A kontrollanyagok mérés technikailag az R-Biopharm AG belső standardjaira vezethetők vissza a specifikus DNS-amplikonok alapján.

A mérés technikai visszavezethetőséggel kapcsolatos további információkért forduljon az R-Biopharm AG vállalathoz.

A megadott értékek, tartományok és további részletek a Minőségi bizonylatban (Certificate of Analysis, CoA) találhatóak.

11. táblázat: Eredmény értelmezése*

A következők kimutatása:				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Eredmény
+	-	-	+/-	STEC (EHEC) kimutatható
-	+	-	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. kimutatható
-	-	+	+/-	EPEC kimutatható
+	+	-	+/-	STEC (EHEC) és EIEC/ <i>Shigella</i> spp. kimutatható
+	-	+	+/-	EHEC kimutatható
-	+	+	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. és EPEC kimutatható
+	+	+	+/-	EHEC és EIEC/ <i>Shigella</i> spp. kimutatható
-	-	-	+	A célgén nem kimutatható
-	-	-	-	Érvénytelen

*+= pozitív

- = negatív

Az Infection Protection Act (IfSG) törvény az EHEC-et a Shiga-toxint termelő *E. coli* (STEC) kórokozónak írja le. Mivel a humán patogén STEC pontos meghatározása jelenleg nem lehetséges, **minden** STEC potenciális EHEC-nek minősül.⁽⁵⁾

A minta akkor minősül pozitívnak, ha a minta DNS-e és az Internal Control belső kontroll amplifikációs jelet mutat a detektáló rendszerben.

Egy minta akkor is pozitív, ha a minta DNS-e amplifikációs jelet mutat, de a detektáló rendszerben az Internal Control belső kontroll amplifikációs jele nem található meg. Az Internal Control belső kontroll kimutatása ebben az esetben nem szükséges,

mivel a magas amplikon-koncentráció azt eredményezheti, hogy az **Internal Control** belső kontroll jele gyenge vagy hiányzik.

Egy minta akkor tekinthető negatívnak, ha a minta DNS-e nem mutat amplifikációs jelet, de a detektáló rendszerben az **Internal Control** belső kontroll amplifikációs jele megtalálható. A PCR-reakció és az előzetes extrakció gátlása kizárható az **Internal Control** belső kontroll kimutatásával.

A minta érvénytelen, ha a minta DNS-e és az **Internal Control** belső kontroll nem mutat amplifikációs jelet a detektáló rendszerben. A mintában inhibitorok vannak jelen, vagy hiba történt az extrakciós folyamat során.

12. A módszer korlátai

1. A RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC teszt az EHEC, STEC, EPEC és EIEC/*Shigella* spp. virulenciafaktorok DNS-ét mutatja ki kezeletlen emberi széklet- és tenyésztett mintákban. A meghatározott Ct-érték szintje és a súlyos klinikai tünetek előfordulása között ebből nem lehet összefüggést levezetni. A kapott eredményeket mindig a teljes klinikai tünetekkel együtt kell értelmezni.
2. A diagnózis nem alapulhat kizárólag a molekuláris biológiai elemzés eredményén, hanem mindig figyelembe kell venni a beteg kórtörténetét és tüneteit.
3. Ez a vizsgálat kizárólag a RIDA[®]UNITY rendszerrel történő automatizált feldolgozásra engedélyezett.
4. Ezt a tesztet csak széklet- és tenyészetminták esetében ellenőrizték.
5. A tenyésztési mátrix használatakor ne vigye át az agar táptalajt a PCR-reakcióba, mert ez potenciális interferenciához vezethet.
6. A nem megfelelő mintavétel, szállítás, tárolás és kezelés, illetve a teszt analitikai érzékenysége alatti kórokozó-terhelés hamis negatív eredményhez vezethet.
7. A PCR-inhibitorok jelenléte hamis negatív vagy érvénytelen eredményekhez vezethet.
8. Mint minden PCR-alapú *in vitro* diagnosztikai teszt esetében, a célszekvenciák rendkívül alacsony, a kimutatási határérték (LoD 95 %) alatti koncentrációja is kimutatható. A kapott eredmények nem mindig reprodukálhatók.
9. A primer vagy a próba kötőhelyein található mutációk vagy polimorfizmusok zavarhatják az új vagy ismeretlen variánsok kimutatását, és hamis negatív eredményekhez vezethetnek a RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC használata esetén.
10. A pozitív teszteredmény nem feltétlenül jelenti életképes organizmusok jelenlétét. A pozitív eredmény azt jelzi, hogy a célgének (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae*; és EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*) jelen vannak.
11. Ezt a vizsgálatot a helyes laboratóriumi gyakorlatról (GLP) szóló rendeletnek megfelelően kell elvégezni. A felhasználóknak a teszt elvégzésekor pontosan be kell tartaniuk a gyártó utasításait.

13. Teljesítményjellemzők

13.1. Klinikai teljesítményjellemzők

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR-t egy külső laboratóriumban hasonlították össze egy CE-jelzéssel ellátott referenciateszttel, amely 276, gyomor- és bélrendszeri fertőzés tüneteit mutató beteg székletmintáján alapult.

Az eredmények nagyon magas érzékenységet és specificitást mutatnak az EHEC, STEC, EPEC és EIEC/*Shigella* spp. virulenciafaktorainak kimutatásában a RIDA®UNITY EHEC/EPEC készlet használatával.

12. táblázat: *Stx1/2* kimutatása - székletminták

		Referencia PCR		Összes
		Pozitív	Negatív	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Pozitív	122	0	122
	Negatív	5	149	154
	Összes	127	149	276

Relatív érzékenység (95 %-os CI)	96,1 % (91,1 % - 98,7 %)
Relatív specificitás (95 %-os CI)	100 % (97,6 % - 100 %)

13. táblázat: *ipaH* kimutatása - székletminták

		Referencia PCR		Összes
		Pozitív	Negatív	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Pozitív	65	0	65
	Negatív	0	211	211
	Összes	65	211	276

Relatív érzékenység (95 %-os CI)	100 % (94,5 % - 100 %)
Relatív specificitás (95 %-os CI)	100 % (98,3 % - 100 %)

14. táblázat: eae kimutatása - székletminták

		Referencia PCR		Összes
		Pozitív	Negatív	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - eae	Pozitív	179	0	179
	Negatív	4	93	97
	Összes	183	93	276

Relatív érzékenység (95 %-os CI)	97,8 % (94,5 % - 100 %)
Relatív specifitás (95 %-os CI)	100 % (96,1 % - 100 %)

13.2. Analitikai teljesítményjellemzők**13.2.1. Kimutatási határ (LoD 95 %)**

Az LoD meghatározásához egy pozitív kontrollmintát (negatív székletminták, adalékolt vagy tenyészetminták alkalmazása) mértek öt hígítási lépésben (0,25-log lépésekben) minden egyes célpont esetében, egy tételben lépésenként 20 ismétléssel. Ezt követte a probit-elemzés. Ezután a számított LoD-t célpontonként 20 ismétléssel megerősítették a számított hígítási lépés/koncentráció esetében. A következő törzseket használták a vizsgálathoz:

- *stx1/stx2: Escherichia coli* D3509 (Az *stx2* LoD-t azért határozták meg, mert az *stx2* hemolitikus urémiás szindrómával van összefüggésben.)
- *ipaH: Escherichia coli* Fr1368
- *eae: Escherichia coli* DSM8695

Az EHEC, STEC, EPEC és EIEC/*Shigella* spp. DNS kimutatására a RIDA®UNITY EHEC/EPEC vizsgálat segítségével az UNITY rendszeren a következő kimutatási határokat (LoD) határozták meg.

A mérések eredményei a 15. táblázatban láthatók.

15. táblázat: A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt kimutatási határértékének eredményei az *stx1/2*, *ipaH* és *eae* célpontok esetében.

	Mátrix	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Széklet	476 000 CFU/mL	5300 CFU/mL	125 000 CFU/mL
	Tenyészet	2130 CFU/mL	798 CFU/mL	2890 CFU/mL

*CFU: Colony Forming Units

A székletmintákban lévő *stx1/2* LoD értékét 476 000 CFU/mL-ben határozták meg.

A székletmintákban lévő *ipaH* LoD értékét 5300 CFU/mL-ben határozták meg.

A székletmintákban lévő *eae* LoD értékét 125 000 CFU/mL-ben határozták meg.

A székletmintákban lévő *stx1/2* LoD értékét 2130 CFU/mL-ben határozták meg.

A tenyészetmintákban lévő *ipaH* LoD értékét 798 CFU/mL-ben határozták meg.

A tenyészetmintákban lévő *eae* LoD értékét 2890 CFU/mL-ben határozták meg.

A CFX96™ Dx készülékkel végzett továbbfejlesztett munkafolyamat esetében ezeket a LoD-értékeket megerősítették azzal a feltételezéssel, hogy a 2-3-szoros LoD-tartományban maradunk.

13.2.2. Analitikai specificitás

Zavaró anyagok

A PCR-inhibitorok és zavaró anyagok jelenléte hamis negatív vagy érvénytelen eredményekhez vezethet. Ezért megvizsgálták a különböző anyagok hatásait, a gasztrointesztinális fertőzésekre való széles körű használatuk vagy a megfelelő mintákban való széles körű előfordulásuk alapján.

Azokat az anyagokat, amelyek potenciálisan jelentősen befolyásolhatják a vizsgálati eredményeket, kezdetben magas koncentrációban (a napi dózis háromszorosa vagy a legrosszabb eset szimulációja) vizsgálták egy interferenciaszűrés során.

A 16. táblázatban felsorolt anyagok esetében nem találtak interferenciát.

16. táblázat: Potenciálisan zavaró anyagok

Potenciálisan zavaró anyag	Koncentráció
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg filmtabletta (azitromicin)	0,75 [m/v]%
Bárium-szulfát	18,5 [v/v]%
Cologran® folyékony édesítőszer (szacharin + ciklamát)	1,3 [m/v]%
Emberi vér	5 [v/v]%
Széntabletta 250 mg (szén)	6 [m/v]%
Loperamid-ratiopharm® akut (loperamid)	0,02 [v/v]%
Nyálka	5 [m/v]%
Sztearin-/palmitinsav	40 [m/v]%

Keresztreakciók

Különböző mikroorganizmusokat (baktériumok, paraziták, gombák és vírusok) vizsgáltak, amelyek gyakran előfordulhatnak a székletmintákban. Az e vizsgálatnál értékelendő mikroorganizmusokat azért választották ki, mert vagy természetes módon előfordulnak a székletmintákban, vagy gasztrointesztinális kórokozóként megfelelő tüneteket okoznak. Az elemzésekhez baktériumkultúrákat (10^6 - 10^9 CFU/mL), gomba- vagy víruskultúrákat, víruskultúrák felülúszóit, izolátumokat vagy az adott mikroorganizmusokra vonatkozó LGC-standardokat használtak.

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR specifikus az EHEC, STEC, EPEC és EIEC/*Shigella* spp. ellen. A következő fajokkal nem mutattak ki keresztreakciókat (lásd 17. táblázat):

17. táblázat: Potenciálisan keresztreakciót adó mikroorganizmusok.

Mikroorganizmus	Vizsgálati eredmény*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenovirus 40	-	-	-
Adenovirus 41, humán, Tak törzs	-	-	-
<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 C6-os klón	-	-	-
<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> (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>	-	-	-

* - = negatív

** A *Giardia intestinalis* és a *Giardia lamblia* ugyanaz a mikroorganizmus.

13.2.3. Pontosság

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR-teszt pontosságát a következő mérlegelési szintek esetében határozták meg.

Vizsgálaton *belüli* pontosság: 5 kontrollminta meghatározása egyenként 20 ismétléssel, RIDA®UNITY készülékkel, azonos körülmények között.

Vizsgálatok *közötti* pontosság: 5 kontrollminta meghatározása 20 futtatásban két párhuzamosban, 10 munkanapon (napi 2 futtatás), különböző technikusok által, reprodukálható körülmények között.

A vizsgálaton *belüli* és vizsgálatok *közötti* pontosság vizsgálatát három különböző tétel felhasználásával végezték el.

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR-teszttel a RIDA®UNITY és a CFX96™ Dx készülékeken végzett egyes méréseknél kapott variációs együttható 4,29 % volt.

18. táblázat: A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt pontosságának eredményei az *stx1/2* tekintetében, székletmintákból (RIDA®UNITY rendszer).

Ct	Átlagérték/ CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>
		1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel
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 (%)	N/A	N/A	N/A	2,15 %	2,23 %	2,26 %	2,28 %
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	CV (%)	2,34 %	2,05 %	2,13	N/A	N/A	N/A	N/A

19. táblázat: A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt pontosságának eredményei az *stx1/2* tekintetében, székletmintákból (CFX96™ Dx).

Ct Átlagérték/ CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>	
	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel	
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 (%)	N/A	N/A	N/A	2,96 %	2,90 %	2,76 %	3,04 %
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	CV (%)	1,52 %	1,59 %	3,43 %	N/A	N/A	N/A	N/A

20. táblázat: A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt pontosságának eredményei az *ipaH* tekintetében, székletmintákból (RIDA®UNITY rendszer).

Ct Átlagérték/ CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>	
	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel	
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 (%)	N/A	N/A	N/A	1,44 %	1,34 %	1,45 %	1,42 %
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	CV (%)	0,88 %	0,77 %	0,69 %	N/A	N/A	N/A	N/A

21. táblázat: A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt pontosságának eredményei az *ipaH* tekintetében, székletmintákból (CFX96™ Dx).

Ct	Átlagérték/ CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>
		1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel
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 (%)	N/A	N/A	N/A	1,27 %	1,45 %	1,36 %	1,36 %
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	CV (%)	0,89 %	0,53 %	0,70 %	N/A	N/A	N/A	N/A

22. táblázat: A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt pontosságának eredményei az eae tekintetében, székletmintákból (RIDA®UNITY rendszer).

Ct Átlagérték/ CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>	
	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel	
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 (%)	N/A	N/A	N/A	1,81 %	1,78 %	1,81 %	1,80 %
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	CV (%)	1,24 %	0,78 %	1,18 %	N/A	N/A	N/A	N/A

23. táblázat: A RIDA®UNITY EHEC/EPEC teszt pontosságának eredményei az eae tekintetében, székletmintákból (CFX96™ Dx).

Ct	Átlagérték/ CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>
		1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel
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 (%)	N/A	N/A	N/A	1,32 %	1,58 %	1,48 %	1,47 %
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	CV (%)	0,73 %	0,55 %	0,68 %	N/A	N/A	N/A	N/A

13.2.4. Analitikai reaktivitás

A RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR-teszt reaktivitását *E. coli* és *Shigella* törzsek meghatározott paneljén tesztelték (lásd 24. táblázat).

24. táblázat: Analitikai reaktivitás vizsgálata

Törzs	Eredmény*		
	<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>	-	+	-

*+ = pozitív (3 ismétlésből legalább 2 pozitív)










- = negatív

14. Verziótörténet





Verziószám	Szakasz és megnevezés
2022-06-14	Kiadási verzió

15. A szimbólumok magyarázata

Általános szimbólumok

	<i>In vitro</i> diagnosztikai alkalmazásra
	Kövesse a használati utasítást
	Gyártási szám
	Felhasználhatósági idő
	Tárolási hőmérséklet
	Tételszám
	A tesztek száma
	A gyártás dátuma
	Gyártó

Vizsgálatspecifikus szimbólumok

	Reakcióelegy
	Enzimkeverék
	Negatív kontroll
	Pozitív kontroll

16. Hivatkozások

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).