

## RIDA® UNITY EHEC/EPEC

**REF** UN2205



## 1. Paskirtis

Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai. RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimas, atliekamas naudojant RIDA®UNITY platformą, yra daugybines tikralaikės PGR tyrimas, skirtas tiesiogiai kokybiškai aptikti EHEC, STEC, EPEC ir EIEC/*Shigella* spp. virulentiškumo veiksnių DNR neapdorotuose žmogaus išmatų mėginiuose ir kultūros mėginiuose, paimtuose iš žmonių, kuriems pasireiškia ūminio gastroenterito požymių ir simptomų. RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimas naudojamas siekiant patvirtinti *E. coli* infekciją (EHEC, EPEC, STEC ir EIEC/*Shigella* spp.) diferencinę diagnozę pacientams, kuriems pasireiškia gastroenterito simptomų, atsižvelgiant į kitus klinikinius ir laboratorinių tyrimų duomenis.

Neigiami rezultatai nepaneigia *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC arba EIEC/*Shigella* spp.) infekcijos ir neturėtų būti naudojami kaip vienintelis diagnozės pagrindas.

Gaminys skirtas naudoti profesionalams.

## 2. Tyrimo santrauka ir paaiškinimas

Viduriavimo ligos yra didelė sveikatos problema, visame pasaulyje vaikams nustatoma maždaug 1,7 milijardo atvejų per metus<sup>(1)</sup>. Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) duomenimis, esant maždaug 525 000 mirčių per metus, tai yra antroji pagrindinė vaikų iki 5 metų amžiaus mirties priežastis, ypač besivystančiose šalyse<sup>(1)</sup>. Vienas dažniausių bakterinių patogenų, sukeliančių viduriavimo ligas, yra *Escherichia coli*<sup>(2)</sup>.

*E. coli* yra gramneigiama, laktozę fermentuojanti, judri bakterija, priklausanti *Enterobacteriaceae* šeimai. Nors ji yra normalios žarnyno mikrofloros dalis, ji taip pat gali sukelti viduriavimo ligas, sukeliančias didelį vaikų sergamumą ir mirtingumą, ypač besivystančiose šalyse. Remiantis bakterijos virulentiškumo charakteristikomis, epidemiologiniais ir klinikiniais pasireiškimais, buvo identifikuotos šios viduriavimą sukeliančios *E. coli* klasės: enteropatogeninė *E. coli* (EPEC), enterotoksigeninė *E. coli* (ETEC), enterohemoraginė *E. coli* (EHEC), enteroinvazinė *E. coli* (EIEC) ir enteroagregatyvi *E. coli* (EAEC). Visi šie viduriavimą sukeliantys *E. coli* patotipai gali būti perduodami fekalinio-oraliniu būdu<sup>(3)</sup>.

Iš žarnyno patogeninių *E. coli* savo svarba išsiskiria enterohemoraginė *E. coli* (EHEC). Tai yra šiga toksiną arba verotoksiną gaminančių *E. coli* (atitinkamai STEC ir VTEC) pogrupis. STEC patogeniškumą galima atsekti pagal jų gebėjimą kolonizuoti žarnyną, prilipus prie žarnyno epitelio ląstelių. Po kolonizacijos bakterija gali gaminti du citotoksinus - verotoksiną 1 ir verotoksiną 2. VTEC dar vadinama STEC dėl verotoksinų panašumo į *Shigella dysenteriae* šiga toksiną. Tarp kitų svarbių diagnostinių EHEC patogeniškumo veiksnių yra ne tik *stx1/stx2* (šiga toksino genai), bet ir *eae* genas (*E. coli* prisijungimo ir pašalinimo genas), kuris užkoduoja intiminą - membraninį baltymą. Šis membraninis baltymas yra atsakingas už patogeno prikibimą prie žarnyno epitelinių ląstelių<sup>(4)</sup>. Klinikiniai simptomai, kuriuos gali sukelti EHEC/STEC žmonėms, varijuoja nuo viduriavimo su krauju iki hemolizinio ureminio sindromo (HUS)<sup>(2, 5)</sup>. Pagrindiniai infekcijos šaltiniai yra užteršti maisto

produktai, o EHEC/STEC infekcijai sukelti pakanka mažiau nei 1000 bakterijų. Iki šiol skaudžiausias su maistu susijęs STEC sukeltas protrūkis Vokietijoje buvo užfiksuotas 2011 m. Per šį protrūkį buvo nustatyta 3816 STEC infekcijos atvejų ir 54 mirtys, iš kurių 32 atvejai buvo siejami su HUS<sup>(5)</sup>.

Enteropatogeninė *E. coli* (EPEC) sukelia viduriavimo ligas vaikams, ypač besivystančiose šalyse<sup>(3)</sup>. EPEC galima atskirti nuo EHEC pagal tai, kad ji neturi šiga toksinų<sup>(3)</sup>. Dažniausi simptomai, susiję su EPEC infekcija, yra vandeningas viduriavimas, pilvo skausmas, pykinimas, vėmimas ir karščiavimas, o infekcinė dozė sveikiems suaugusiesiems yra maždaug  $10^8$  mikroorganizmų<sup>(5)</sup>.

Enteroinvazinės *E. coli* (EIEC) ir *Shigella* spp. taip pat sukelia viduriavimo ligas visame pasaulyje, ypač besivystančiose šalyse. Jos abi yra gramneigiamos bakterijos, kurios yra glaudžiai susijusios biocheminiu ir genetiniu požiūriu<sup>(6)</sup>. EIEC ir *Shigella* spp. patogeniškumas pagrįstas plazmidžių sukelta invazija į žarnyno epitelines ląsteles ir jų sunaikinimu. Invazijos plazmidės antigeno H geno (*ipaH*) produktai yra atsakingi už šį procesą. Šis genas yra svarbus EIEC/*Shigella* spp. aptikimui, nes padeda atskirti šį patotipą nuo EHEC. EIEC/*Shigella* spp. infekcijos protrūkius dažniausiai sukelia maistas ir jos pasireiškia viduriavimu, pilvo skausmu, pykinimu ir karščiavimu<sup>(6)</sup>.

### 3. Tyrimo principas

RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC yra daugybinės tikralaikės PGR tyrimas, skirtas tiesiogiai kokybiškai aptikti ir diferencijuoti EHEC, STEC, EPEC ir EIEC/*Shigella* spp. virulentiškumo veiksnių genus žmogaus išmatų ar kultūros mėginiuose.

Apdorojimas yra visiškai automatizuotas naudojant sistemą RIDA<sup>®</sup> UNITY.

Pirmiausia nukleorūgštys išskiriamos naudojant RIDA<sup>®</sup>UNITY Universal Extraction Kit ir Internal Control Kit.

Tikslinė seka visada aptinkama vienetapės tikralaikės RT-PCR formatu (net atliekant DNR tyrimus), t. y. viename reakcijos buteliuke atliekama atvirkštinė transkripcija (RT) ir paskesnė PGR. Proceso metu izoliuota RNR (jei yra) transkribuojama į kDNR pasitelkiant atvirkštinę transkriptazę. Tada virulentiškumo veiksnių *stx1/stx2*, *eae* ir *ipaH* specifiniai genų fragmentai amplifikuojami naudojant tikralaikę PGR.

Amplifikuotos tikslinės sekos aptinkamos naudojant hidrolizės mėginius, kurių vienas galas pažymėtas slopikliu, o kitas - fluorescenciniu reporteriniu dažu (fluoroforu).

Mėginiai hibridizuojasi su amplikonu esant tikslinei sekai. Plėtimo metu

Taą polymerase atskiria reporterinį dažą nuo slopiklio. Reporterinis dažas skleidžia fluorescencinį signalą, kurį aptinka tikralaikės PGR prietaiso optinis įtaisas.

Fluorescencinis signalas didėja didėjant susidariusių amplikonų kiekiui. RIDA<sup>®</sup> UNITY Internal Control Kit reikia naudoti tuo pačiu metu, kad būtų galima patikrinti mėginio paruošimą ir (arba) galimą PGR slopinimą.

#### 4. Pateikiami reagentai

Rinkinyje esančių reagentų pakanka 96 nustatymams atlikti\*.

##### 1 lent. Pateikiami reagentai

REF	Reagentas	Kiekis		Dangtelio spalva
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	geltona, paruošta naudoti
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	raudona, paruošta naudoti
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 µL	mėlyna, paruošta naudoti
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 µL	balta, paruošta naudoti

\* Pakartotinai naudojant ir mažesnėmis serijomis, reakcijų skaičius gali būti sumažintas.

#### 5. Laikymo nurodymai

- Vadovaukitės 2 lentelėje pateiktomis tvarkymo gairėmis ir iš karto po naudojimo laikykite rinkinį pagal nurodytą informaciją.
- Visus reagentus reikia laikyti nuo -16 °C iki -28 °C temperatūroje, saugant nuo šviesos, ir neatidarius galima naudoti iki etiketėje išspausdintos galiojimo pabaigos datos. Pasibaigus galiojimo laikui, kokybės garantija nebegalioja.
- Visus reagentus prieš naudojant reikia atsargiai atšildyti (pavyzdžiui, šaldytuve, 2 - 8 °C).
- Pakartotinis užšaldymas ir atšildymas iki 8 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

##### 2 lent. Laikymo sąlygos ir informacija

	Laikymo temperatūra	Maksimali laikymo trukmė
neatidarius	Nuo -16 °C iki -28 °C	Galima naudoti iki išspausdintos galiojimo pabaigos datos
atidarius	Nuo -16 °C iki -28 °C	8 užšaldymo ir atšildymo ciklai

## 6. Reikalingi, bet nepateikiami reagentai

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR tyrimas skirtas naudoti tik su RIDA®UNITY sistema. Norint tinkamai naudoti, būtinai reikalingi šie gaminiai:

### 6.1 Reagentai

RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimui atlikti reikalingi toliau nurodyti reagentai.

Reagentai	Gaminio numeris
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

### 6.2 Laboratorinė įranga

RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimui atlikti reikalinga toliau nurodyta įranga.

Įranga
RIDA®UNITY sistema; gaminio numeris: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY sunaudojamos medžiagos (antgaliai, plokštelės, reakcijos buteliukai, plėvelės). Žr. RIDA®UNITY sistemos naudojimo instrukcijas, sunaudojamų medžiagų užsakymo informaciją.
Sūkurinė maišyklė
Ant stalo pastatoma centrifuga
Vienkartinės pirštinės be pudros

Išorinis cikleris (galimas sistemos patobulinimas)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

RIDA®UNITY EHEC/EPEC rinkinį galima naudoti kartu su kitais suderinamais cikleriais. Alternatyvius tikralaikės PGR instrumentus turi patikrinti / patvirtinti naudotojas. Norėdami gauti informacijos apie suderinamumą, susisiekite su R-Biopharm AG el. pašto adresu [pcr@r-biopharm.de](mailto:pcr@r-biopharm.de).

## 7. Įspėjimai ir atsargumo priemonės naudotojams

Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai.

Šį tyrimą turi atlikti tik kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai. Būtina laikytis darbo medicinos laboratorijose gairių.

Atlikdami šį tyrimą visada griežtai laikykitės naudojimo instrukcijos.

Mėginių ar reagentų į pipetę netraukite burna. Venkite sąlyčio su pažeista oda ir gleivinėmis.

Tvarkydami reagentus ir mėginius naudokite asmens apsaugos priemones (mūvėkite tinkamas pirštines, vilkėkite laboratorinį chalata, dėvėkite apsauginius akinius). Baigę tyrimą nusiplaukite rankas.

Nerūkykite, nevalgykite ir negerkite vietose, kuriose tvarkomi mėginiai.

Stenkitės neužteršti mėginių ir rinkinio komponentų mikrobais ir nukleazėmis (DNaze / RNaze).

Klinikinius mėginius reikia laikyti potencialiai užkrečiamais ir tinkamai pašalinti, kaip ir visus reagentus bei medžiagas, turinčius sąlytį su potencialiai užkrečiamais mėginiais.

Nesukeiskite ir nesumaišykite vienos partijos sudėtinių dalių (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) su kitos partijos sudėtinėmis dalimis.

Tyrimo rinkinį galima naudoti 8 savaites po pirmojo atidarymo (rinkinį galima iš naujo įdėti iki 6 kartų). Nenaudokite tyrimo rinkinio pasibaigus jo galiojimo laikui. Šias specifikacijas taip pat tikrina RIDA<sup>®</sup>UNITY sistema.

Naudotojai yra atsakingi už tinkamą visų panaudotų reagentų ir medžiagų šalinimą. Laikykitės nacionalinių taisyklių dėl šalinimo.

Daugiau informacijos apie saugos duomenų lapą (Safety Data Sheet, SDS) ieškokite pagal gaminio numerį adresu <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Naudotojams Europos Sąjungoje: praneškite R-Biopharm AG ir atitinkamoms nacionalinėms institucijoms apie visus sunkius nepageidaujamus reiškinius, susijusius su gaminiu.

Šio gaminio saugumo ir veiksmingumo suvestinė (SVS) bus pasiekama adresu <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>, kai tik bus sukurta Europos medicinos priemonių duomenų bazė (EUDAMED). Duomenų bazėje ieškokite priemonės naudodami UDI-DI, esantį ant išorinės priemonės pakuotės.

## 8. Mėginių rinkimas ir laikymas

Rekomenduojama naudoti šviežią mėginio medžiagą, kad būtų pasiektas geriausias įmanomas RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimo efektyvumas.

Stenkitės pakartotinai neužšaldyti ir neatšildyti mėginio.

Išmatų mėginių neimkite į transportavimo indus, kuriuose yra transportavimo terpių su konservantais, gyvūnų serumų, metalo jonų, oksidatorių ar ploviklių, nes tokios medžiagos gali trukdyti atlikti RIDA® UNITY tyrimus.

Rekomenduojama paruošti alikvotines mėginių dalis, kad būtų išvengta pakartotinio atšildymo ir užšaldymo. Užšaldytus mėginius reikia atšildyti prieš pat išskyrimą, kad nukleorūgštys nesuirėtų.

Vadovaukitės 3-6 lentelėse pateiktais mėginių laikymo nurodymais.

### 3 lent. Mėginių laikymas. EHEC aptikimas

Natyviniai mėginiai - išmatos		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 d.	≤ 7 d.	≤ 6 mėn.

Natyviniai mėginiai - kultūra		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 d.	≤ 1 d.	-

Eliuate (iš išmatų arba kultūros)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 val.	≤ 36 val.	≤ 7 d.

Laikant -20 °C / -80 °C temperatūroje, pakartotinis išmatų mėginių užšaldymas / atšildymas iki 5 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Laikant -20 °C temperatūroje, pakartotinis eliuato (iš išmatų arba kultūros) užšaldymas / atšildymas iki 3 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Neauginkite kultūrų iš anksčiau užšaldytų išmatų, nes užšaldymas smarkiai paveikia patogenų augimo savybes ir gali lemti klaidingai neigiamus rezultatus.

**4 lent.** Mėginių laikymas. STEC aptikimas

<b>Natyviniai mėginiai - išmatos</b>		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 d.	≤ 7 d.	≤ 6 mėn.

<b>Natyviniai mėginiai - kultūra</b>		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 d.	≤ 1 d.	-

<b>Eliuate (iš išmatų arba kultūros)</b>		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 val.	≤ 36 val.	≤ 7 d.

Laikant -20 °C / -80 °C temperatūroje, pakartotinis išmatų mėginių užšaldymas / atšildymas iki 5 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Laikant -20 °C temperatūroje, pakartotinis eliuato (iš išmatų arba kultūros) užšaldymas / atšildymas iki 3 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Neauginkite kultūrų iš anksčiau užšaldytų išmatų, nes užšaldymas smarkiai paveikia patogenų augimo savybes ir gali lemti klaidingai neigiamus rezultatus.



**5 lent. Mėginių laikymas. EPEC aptikimas****Natyviniai mėginiai - išmatos**

20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 d.	≤ 7 d.	≤ 6 mėn.

**Natyviniai mėginiai - kultūra**

20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 d.	≤ 1 d.	-

**Eliuate (iš išmatų arba kultūros)**

30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 val.	≤ 36 val.	≤ 7 d.

Laikant -20 °C / -80 °C temperatūroje, pakartotinis išmatų mėginių užšaldymas / atšildymas iki 5 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Laikant -20 °C temperatūroje, pakartotinis eliuato (iš išmatų arba kultūros) užšaldymas / atšildymas iki 3 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Neauginkite kultūrų iš anksčiau užšaldytų išmatų, nes užšaldymas smarkiai paveikia patogenų augimo savybes ir gali lemti klaidingai neigiamus rezultatus.

**6 lent. Mėginių laikymas. EIEC/Shigella spp. aptikimas****Natyviniai mėginiai - išmatos**

20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 d.	≤ 7 d.	≤ 6 mėn.

**Natyviniai mėginiai - kultūra**

20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 1 d.	-

**Eliuate (iš išmatų arba kultūros)**

30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 val.	≤ 36 val.	≤ 7 d.

Laikant -20 °C / -80 °C temperatūroje, pakartotinis išmatų mėginių užšaldymas / atšildymas iki 5 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Laikant -20 °C temperatūroje, pakartotinis eliuato (iš išmatų arba kultūros) užšaldymas / atšildymas iki 3 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Neauginkite kultūrų iš anksčiau užšaldytų išmatų, nes užšaldymas smarkiai paveikia patogenų augimo savybes ir gali lemti klaidingai neigiamus rezultatus.

### 8.1 DNR paruošimas iš išmatų ir kultūros mėginių

Norėdami išskirti DNR iš išmatų ir kultūros mėginių, naudokite RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Vadovaukitės tinkamomis procedūromis, pateiktomis RIDA®UNITY Universal Extraction Kit naudojimo instrukcijose (skyrius: Nukleorūgšties paruošimas iš išmatų mėginių; skyrius: Nukleorūgšties paruošimas iš kultūros mėginių).

## 9. Tyrimo procedūra

Iš pradžių įdėkite ir mėginius, ir RIDA®UNITY EHEC/EPEC reagentus į RIDA®UNITY sistemą.

Prieš tai tinkamai sumaišykite **Reaction Mix**, **Negative Control** ir **Positive Control** naudodami sukurinę maišyklę. Sukurine maišykle išmaišykite **Enzyme Mix**. Tada trumpai centrifuguokite visus komponentus.

Tiriamų mėginių PGR mėgintuvėliai turi būti iš anksto įdėti į integruotą PGR ciklerį. Galima naudoti laikiklius, kad būtų galima tinkamai įkelti į sistemą reagentus ir sunaudojamas medžiagas. Įkeldami vadovaukitės RIDA®UNITY sistemos instrukcijomis. Laikykitės atitinkamų RIDA®UNITY sistemos vadovo skyrių (skyrius: Serijos vykdymas).

RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimą galima naudoti tik su RIDA®UNITY Internal Control Kit. Tai leidžia anksti atpažinti galimą PGR slopinimą, patikrinti reagento vientisumą ir patvirtinti sėkmingą nukleorūgšties ekstrahavimą. Procedūra aprašyta RIDA®UNITY Internal Control Kit naudojimo instrukcijose (skyrius: Tyrimo procedūra).

Automatinis apdorojimas aprašytas RIDA®UNITY sistemos vadove (skyrius: Serijos vykdymas).

## 9.1 Prietaiso nuostatos

### 9.1.1 Universalusis tikralaikės PGR profilis

Siekiant suderinti RIDA®UNITY tyrimus, RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimas buvo patikrintas naudojant vien tik universalųjį profilį. Tai leidžia sujungti DNR ir RNR tyrimus. Bendrai vertinant, atvirkštinė transkripcija universaliajame profilyje yra pirmą kartą.

#### 7 lent. Universalusis tikralaikės PGR profilis, skirtas RIDA®UNITY

<u>Atvirkštinė transkripcija</u>	10 min., 58 °C
Pradinis denatūravimas	1 min., 95 °C
Ciklai	45 ciklai
<u>PGR</u> denatūravimas	10 sek., 95 °C
Atkaitinimas / plėtimas	15 sek., 60 °C
Temperatūros perėjimo greitis / kitimo greitis	Maksimalus

**Pastaba. Atkaitinimas ir išplėtimas atliekami tame pačiame etape.**

#### 8 lent. Universalusis tikralaikės PGR profilis, skirtas CFX96™ Dx

<u>Atvirkštinė transkripcija</u>	10 min., 58 °C
Pradinis denatūravimas	1 min., 95 °C
Ciklai	45 ciklai
<u>PGR</u> denatūravimas	15 sek., 95 °C
Atkaitinimas / plėtimas	30 sek., 60 °C
Temperatūros perėjimo greitis / kitimo greitis	Maksimalus

**Pastaba. Atkaitinimas ir išplėtimas atliekami tame pačiame etape.**

## 9.2 Aptikimo kanalo nustatymas

9 lent. Tinkamų aptikimo kanalų parinkimas

Tikralaikės PGR prietaisas	Aptikimas	Aptikimo kanalas	Pastaba
<b>R-Biopharm RIDA®UNITY</b>	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanalas stx
	Internal Control	HEX	SEEK kanalas ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanalas ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanalas eae
<b>Bio-Rad CFX96™ Dx</b>	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanalas stx
	Internal Control	VIC	SEEK kanalas ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanalas ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanalas eae

## 10. Kokybės kontrolė - reagentų nestabilumo arba galiojimo pabaigos nustatymas

Mėginiai vertinami naudojant RIDA®UNITY sistemos analitinę programinę įrangą RIDA® SEEK. **Negative Control** ir **Positive Control** turi rodyti teisingus rezultatus (žr. 9 lentelę).

**Positive Control** pateikiama  $10^3$  kopijų/ $\mu$ L koncentracijos. Jos naudojama iš viso  $5 \times 10^3$  kopijų kiekvienam PGR tyrimui.

**Negative Control** sudėtyje jau yra RIDA®UNITY Internal Control. Kadangi kontrolinės medžiagos neturi šablono, tiksliniuose kanaluose signalų nenumatoma. Teigiami signalai IC kanale, su kuriuo aptinkama vidinė kontrolė, yra būtini (žr. 10 lentelę).

**10 lent.** Galiojantis PGR tyrimas turi atitikti toliau nurodytas sąlygas.

Mėginys	Rezultatas	IC Ct	Tikslinio geno Ct
Teigiama kontrolinė medžiaga	+	Netaikoma*	Žr. Certificate of Analysis
Neigiama kontrolinė medžiaga	-	Ct > 20	0

\* Tam tikromis aplinkybėmis IC kanalas gali turėti teigiamą signalą teigiamoje kontrolinėje medžiagoje, todėl neturėtų būti vertinamas.

Jei teigiama kontrolinė medžiaga nepatenka į nurodytą Ct diapazoną, bet neigiama kontrolinė medžiaga yra tinkama, visas reakcijas, įskaitant kontrolines medžiagas, reikia analizuoti iš naujo taikant PGR.

Jei neigiama kontrolinė medžiaga nėra neigiama, bet teigiama kontrolinė medžiaga yra tinkama, visas reakcijas, įskaitant kontrolines medžiagas, reikia analizuoti iš naujo taikant PGR.

Jei gaunamos kitokios vertės, nei nurodyta, prieš kartodami tyrimą patikrinkite:

- Naudojamų reagentų galiojimo pabaigos datą;
- Naudojamos įrangos veikimą;
- Tyrimo procedūros tinkamumą.

Jei pakartojus tyrimą sąlygos vis tiek neįvykdomos, kreipkitės į gamintoją arba vietinį R-Biopharm platintoją.

## 11. Vertinimas ir interpretavimas

Mėginių vertinimas ir interpretavimas atliekamas naudojant RIDA®UNITY sistemos analitinę programinę įrangą RIDA®SEEK.

Šiuo metu nėra tarptautiniu mastu pripažinto pamatinio metodo ar pamatinės medžiagos dėl standartizacijos. Kontrolinės medžiagos metrologiškai atsekamos pagal vidinius R-Biopharm AG standartus, pagrįstus specifiniais DNA ampliconais.

Dėl išsamesnės informacijos apie metrologinį atsekamumą kreipkitės į R-Biopharm AG.

Pakoreguotas vertes, diapazonus ir papildomos informacijos galima rasti analizės sertifikate (Certificate of Analysis, CoA).

### 11 lent. Rezultatų interpretavimas\*

Aptikimas				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Rezultatas
+	-	-	+ / -	STEC (EHEC) aptinkama
-	+	-	+ / -	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. aptinkama
-	-	+	+ / -	EPEC aptinkama
+	+	-	+ / -	STEC (EHEC) ir EIEC/ <i>Shigella</i> spp. aptinkamos
+	-	+	+ / -	EHEC aptinkama
-	+	+	+ / -	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. Ir EPEC aptinkamos
+	+	+	+ / -	EHEC ir EIEC/ <i>Shigella</i> spp. aptinkamos
-	-	-	+	Tiksliniai genai neaptinkami
-	-	-	-	Negaliojantis

\*+= teigiamas

- = neigiamas

Apsaugos nuo infekcijos akte (Infection Protection Act, IfSG) EHEC apibūdinama kaip šiga toksiną gaminanti *E. coli* (STEC) bakterija, kuri yra žmogaus patogenas. Kadangi šiuo metu negalima tiksliai apibrėžti žmogaus patogeno STEC, **kiekviena** STEC laikoma potencialia EHEC.<sup>(5)</sup>

Mėginys laikomas teigiamu, jei mėginio DNR ir Internal Control rodo amplifikacijos signalą aptikimo sistemoje.

Mėginys taip pat laikomas teigiamu, jei mėginio DNR rodo amplifikacijos signalą, bet Internal Control amplifikacijos signalo negalima matyti aptikimo sistemoje. Šiuo

atveju nebūtina aptikti **Internal Control**, nes didelė amplikono koncentracija gali sukelti silpną **Internal Control** signalą arba jo nebuvimą.

Mėginys yra neigiamas, jei mėginio DNR nerodo amplifikacijos signalo, bet **Internal Control** amplifikacijos signalas yra matomas aptikimo sistemoje. PGR reakcijos slopinimą ir pirminį išskyrimą galima atmesti aptikus **Internal Control**.

Mėginys yra netinkamas, jei mėginio DNR ir **Internal Control** nerodo amplifikacijos signalo aptikimo sistemoje. Mėginyje yra inhibitorių arba išskyrimo proceso metu įvyko klaida.

## 12. Metodo apribojimai

1. RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC tyrimas aptinka EHEC, STEC, EPEC ir EIEC/*Shigella* spp. virulentiškumo veiksnių DNR neapdorotuose žmogaus išmatų ir kultūros mėginiuose. Ryšio tarp nustatytos Ct vertės lygio ir sunkių klinikinių simptomų atsiradimo iš to išvesti negalima. Gautus rezultatus visada reikia interpretuoti kartu su visais klinikiniais simptomais.
2. Diagnozė neturėtų būti grindžiama vien molekulinės biologinės analizės rezultatais, visada turėtų būti atsižvelgiama į paciento ligos istoriją ir simptomus.
3. Šis tyrimas patvirtintas tik automatiškai apdoroti naudojant RIDA<sup>®</sup>UNITY sistemą.
4. Šis tyrimas patvirtintas tik išmatų ir kultūros mėginiams.
5. Jei naudojama kultūros matrica, neperkelkite agarą terpės į PGR reakciją, nes tai gali sukelti interferenciją.
6. Netinkamai paimant, transportuojant, laikant ir tvarkant mėginius arba esant mažesniai nei tyrimo analitinis jautrumas patogenų kiekiui, galima gauti klaidingai neigiamus rezultatus.
7. PGR inhibitorių buvimas gali lemti klaidingai neigiamus arba netinkamus rezultatus.
8. Kaip ir atliekant visus PGR pagrįstus *in vitro* diagnostinius tyrimus, galima aptikti itin mažas tikslinių sekų, kurios yra žemiau aptikimo ribos (95 % LoD), koncentracijas. Gauti rezultatai ne visada atkartojami.
9. Mutacijos arba polimorfizmai pradmens arba mėginio prijungimo vietose gali trukdyti aptikti naujus arba nežinomus variantus ir lemti klaidingai neigiamus rezultatus naudojant RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC.
10. Teigiamas tyrimo rezultatas nebūtinai rodo gyvybingų organizmų buvimą. Teigiamas rezultatas rodo, kad yra tikslinių genų (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae* ir EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*).
11. Šis tyrimas turi būti atliekamas laikantis geros laboratorinės praktikos (GLP) taisyklių. Atlikdami tyrimą naudotojai turi tiksliai laikytis gamintojo nurodymų.



### 13. Veiksmingumo charakteristikos

#### 13.1 Klinikinio veiksmingumo charakteristikos

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR tyrimas buvo palygintas išorinėje laboratorijoje su CE ženklu pažymėtu etaloniniu tyrimu, naudojant 276 išmatų mėginius, paimtus iš pacientų, kuriems pasireiškė virškinimo trakto infekcijos simptomų.

Rezultatai rodo labai didelį jautrumą ir specifiškumą aptinkant EHEC, STEC, EPEC ir EIEC/*Shigella* spp. virulentiškumo veiksnius, kai naudojamas RIDA®UNITY EHEC/EPEC rinkinys.

**12 lent.** *stx1/2* aptikimas - išmatų mėginiai

		Etaloninė PGR		Iš viso
		Teigiamas	Neigiamas	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Teigiamas	122	0	122
	Neigiamas	5	149	154
	Iš viso	127	149	276

Santykinis jautrumas (95 % PI)	96,1 % (91,1 % - 98,7 %)
Santykinis specifiškumas (95 % PI)	100 % (97,6 % - 100 %)

**13 lent.** *ipaH* aptikimas - išmatų mėginiai

		Etaloninė PGR		Iš viso
		Teigiamas	Neigiamas	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Teigiamas	65	0	65
	Neigiamas	0	211	211
	Iš viso	65	211	276

Santykinis jautrumas (95 % PI)	100 % (94,5 % - 100 %)
Santykinis specifiškumas (95 % PI)	100 % (98,3 % - 100 %)

**14 lent.** eae aptikimas - išmatų mėginiai

		Etaloninė PGR		Iš viso
		Teigiamas	Neigiamas	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - eae	Teigiamas	179	0	179
	Neigiamas	4	93	97
	Iš viso	183	93	276

Santykinis jautrumas (95 % PI)	97,8 % (94,5 % - 100 %)
Santykinis specifiškumas (95 % PI)	100 % (96,1 % - 100 %)

### 13.2 Analitinio veiksmingumo charakteristikos

#### 13.2.1 Aptikimo riba (LoD 95 %)

Teigiamas kontrolinis mėginys (neigiami išmatų mėginiai, papildyti, kultūros mėginiai) buvo matuojamas penkiais skiedimo žingsniais (0,25 log žingsniais) kiekvieno taikinio atveju su 20 kartotinių mėginių iš vienos partijos kiekviename etape, siekiant nustatyti LoD. Tuomet buvo atlikta probito analizė. Tada apskaičiuota LoD buvo patvirtinta naudojant 20 kartotinių mėginių kiekvieno taikinio atveju pagal apskaičiuotą skiedimo žingsnį / koncentraciją.

Tyrimui atlikti buvo naudojamos toliau nurodytos padermės.

- *stx1/stx2: Escherichia coli* D3509 (*stx2* LoD buvo nustatyta, nes *stx2* siejama su hemoliziniu ureminiu sindromu.)
- *ipaH: Escherichia coli* Fr1368
- *eae: Escherichia coli* DSM8695

Siekiant aptikti EHEC, STEC, EPEC ir EIEC/*Shigella* spp. DNR naudojant RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimą UNITY sistemoje, nustatytos toliau nurodytos aptikimo ribos (LoD).

Šių matavimų rezultatai pateikti 15 lentelėje.

**15 lent.** RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimo aptikimo ribos rezultatai, susiję su *stx1/2*, *ipaH* ir *eae* taikiniais.

	Matrica	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Išmatos	476 000 CFU/mL	5300 CFU/mL	125 000 CFU/mL
	Kultūra	2130 CFU/mL	798 CFU/mL	2890 CFU/mL

\*CFU: Colony Forming Units

*stx1/2* LoD išmatų mėginiuose buvo nustatyta esant 476 000 CFU/mL.

*ipaH* LoD išmatų mėginiuose buvo nustatyta esant 5300 CFU/mL.

*eae* LoD išmatų mėginiuose buvo nustatyta esant 125 000 CFU/mL.

*stx1/2* LoD kultūros mėginiuose buvo nustatyta esant 2130 CFU/mL.

*ipaH* LoD kultūros mėginiuose buvo nustatyta esant 798 CFU/mL.

*eae* LoD kultūros mėginiuose buvo nustatyta esant 2890 CFU/mL.

Taikant išplėstinę darbo eigą naudojant CFX96™ Dx, šios LoD vertės buvo patvirtintos darant prielaidą, kad išliekama dvigubame trigubame LoD intervale.

### 13.2.2 Analitinis specifiškumas

#### Trukdančios medžiagos

PGR inhibitorių ir trukdančių medžiagų buvimas gali lemti klaidingai neigiamus arba negaliojančius rezultatus. Todėl buvo tiriamas įvairių medžiagų, kurios gali egzistuoti dėl jų plataus naudojimo virškinimo trakto infekcijoms gydyti arba paplitimo atitinkamuose mėginiuose, poveikis.

Medžiagos, galinčios daryti reikšmingą įtaką tyrimo rezultatams, iš pradžių buvo tiriamos trukdžių ekrane esant didelei koncentracijai (tris kartus didesnei už paros dozę arba imituojant blogiausią atvejį).

Nebuvo nustatyta jokių trukdžių 16 lentelėje išvardytoms medžiagoms.

#### 16 lent. Potencialiai trukdančios medžiagos

Potencialiai trukdanti medžiaga	Koncentracija
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg plėvele dengtos tabletės (azitromicinas)	0,75 % (m/V)
Bario sulfatas	18,5 % (V/V)
Cologran® skystasis saldiklis (sacharinas + ciklamatas)	1,3 % (m/V)
Žmogaus kraujas	5 % (V/V)
Anglies tabletės, 250 mg (anglis)	6 % (m/V)
Loperamid-ratiopharm® akut (loperamidas)	0,02 % (V/V)
Mucinai	5 % (m/V)
Stearino / palmitino rūgštis	40 % (m/V)

## Kryžminės reakcijos

Buvo tiriami įvairūs organizmai (bakterijos, parazitai, grybai, ir virusai), kurie gali būti įprastai randami išmatų matricoje. Mikroorganizmai, kuriuos reikia ištirti dėl šio tyrimo, buvo pasirinkti dėl to, kad jie natūraliai aptinkami išmatų mėginiuose arba sukelia atitinkamus simptomus kaip virškinimo trakto patogenai. Analizėms buvo naudojamos bakterijų (nuo 10<sup>6</sup> iki 10<sup>9</sup> CFU/mL), grybų ar virusų kultūros, virusų kultūrų supernatantai, izoliatai ir atitinkamų mikroorganizmų LGC standartai.

RIDA<sup>®</sup>UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR yra specifinė EHEC, STEC, EPEC ir EIEC/*Shigella* spp. Kryžminių reakcijų su toliau nurodytomis rūšimis nenustatyta (žr. 17 lentelę).

**17 lent.** Potencialiai kryžmiškai reaguojantys mikroorganizmai.

Mikroorganizmas	Tyrimo rezultatas*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
40 tipo adenovirusas	-	-	-
41 tipo adenovirusas, žmogaus, Tak padermė	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
2 tipo astrovirusas	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-
<i>Campylobacter fetus</i> porūš. <i>fetus</i>	-	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	-
<i>Campylobacter lari</i> porūš. <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>	-	-	-
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>	-	-	-

\* - = neigiamas

\*\* *Giardia intestinalis* ir *Giardia lamblia* yra tas pats organizmas.

### 13.2.3 Glaudumas

RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR tyrimo glaudumas buvo nustatytas toliau nurodytiems rūpimiams lygiams.

*Tyrimo* glaudumas: 5 kontrolinių mėginių nustatymas naudojant po 20 jų kartotinių mėginių su RIDA® UNITY identiškėmis sąlygomis.

Glaudumas *tarp* tyrimų: 5 kontrolinių mėginių nustatymas skirtingiems technikams atkuriamomis sąlygomis tiriant pakartotinius mėginius 20 kartų per 10 darbo dienų (2 tyrimai per dieną).

*Tyrimo glaudumas* ir *glaudumas tarp tyrimų* buvo tiriamas naudojant tris skirtingas partijas.

Kiekvieno matavimo variacijos koeficientai, gauti atliekant RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR tyrimą su RIDA®UNITY ir CFX96™ Dx, buvo 4,29 %.

**18 lent.** RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimo glaudumo rezultatai, aptinkant *stx1/2* išmatų mėginiuose (RIDA®UNITY sistema).

Ct vidutinė vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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 (%)	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	2,15 %	2,23 %	2,26 %	2,28 %
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	CV (%)	2,34 %	2,05 %	2,13	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma

**19 lent.** RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimo glaudumo rezultatai, aptinkant *stx1/2* išmatų mėginiuose (CFX96™ Dx).

Ct vidutinė vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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 (%)	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	2,96 %	2,90 %	2,76 %	3,04 %
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	CV (%)	1,52 %	1,59 %	3,43 %	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma

**20 lent.** RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimo glaudumo rezultatai, aptinkant *ipaH* išmatų mėginiuose (RIDA®UNITY sistema).

Ct vidutinė vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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 (%)	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	1,44 %	1,34 %	1,45 %	1,42 %
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	CV (%)	0,88 %	0,77 %	0,69 %	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma



**21 lent.** RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimo glaudumo rezultatai, aptinkant *ipaH* išmatų mėginiuose (CFX96™ Dx).

Ct vidutinė vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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 (%)	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	1,27 %	1,45 %	1,36 %	1,36 %
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	CV (%)	0,89 %	0,53 %	0,70 %	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma

**22 lent.** RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimo glaudumo rezultatai, aptinkant eae išmatų mėginiuose (RIDA®UNITY sistema).

Ct vidutinė vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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 (%)	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	1,81 %	1,78 %	1,81 %	1,80 %
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	CV (%)	1,24 %	0,78 %	1,18 %	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma

**23 lent.** RIDA®UNITY EHEC/EPEC tyrimo glaudumo rezultatai, aptinkant eae išmatų mėginiuose (CFX96™ Dx).

Ct vidutinė vertė / CV		Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų
		Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos
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 (%)	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	1,32 %	1,58 %	1,48 %	1,47 %
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	CV (%)	0,73 %	0,55 %	0,68 %	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma	Netaikoma

### 13.2.4 Analitinis reaktyvumas

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR tyrimo reaktyvumas buvo tirtas naudojant apibrėžtą *E. coli* ir *Shigella* padermių grupę (žr. 24 lentelę).

**24 lent.** Analitinio reaktyvumo tyrimas

Padermė	Rezultatas*		
	<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>	-	+	-

\* + = teigiamas (bent 2 iš 3 kartotinių mėginių teigiami)










- = neigiamas

## 14. Versijų istorija





Versijos numeris	Skyrius ir pavadinimas
2022-06-14	Leidimo versija

## 15. Simbolių paaiškinimas

### Bendrieji simboliai

	Skirta naudoti <i>in vitro</i> diagnostikai
	Vadovaukitės naudojimo instrukcijomis
	Partijos numeris
	Naudoti iki
	Laikymo temperatūra
	Gaminio numeris
	Tyrimų skaičius
	Pagaminimo data
	Gamintojas

### Su tyrimu susiję simboliai

	Reakcijos mišinys
	Fermentų mišinys
	Neigiama kontrolinė medžiaga
	Teigiama kontrolinė medžiaga

## 16. Nuorodos

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).