

RIDA® UNITY EHEC/EPEC

REF UN2205



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

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



1. Paredzētais lietojums

Lietošanai *in vitro* diagnostikā. RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC tests, kas ir izpildāms RIDA[®]UNITY platformā, ir multipleksa reāllaika PQR tiešai kvalitatīvai EHEC, STEC, EPEC un EIEC/*Shigella* spp. virulences faktoru DNS noteikšanai neapstrādātos cilvēka fēču paraugos no cilvēkiem ar akūta gastroenterīta pazīmēm un simptomiem. RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC tests palīdz veikt *E. coli* infekciju (EHEC, EPEC, STEC un EIEC/*Shigella* spp.) diferenciāldiagnostiku pacientiem ar gastroenterīta simptomiem kopā ar citām klīniskām un laboratoriskām atradēm.

Negatīvi rezultāti neizslēdz inficēšanos ar *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC vai EIEC/*Shigella* spp.) un nav izmantojami kā vienīgais pamats diagnozes noteikšanai.

Izstrādājums paredzēts profesionālai lietošanai.

2. Kopsavilkums un skaidrojums par testu

Caurejas slimības ir būtiska veselības problēma, kas skar aptuveni 1,7 miljardus bērnu gadā visā pasaulē⁽¹⁾. Saskaņā ar Pasaules Veselības organizācijas (PVO) datiem šīs slimības ir otrais biežākais nāves cēlonis bērniem vecumā līdz 5 gadiem, jo īpaši jaunattīstības valstīs, un nāves gadījumu skaits gadā ir aptuveni 525 000⁽¹⁾. Viens no biežākajiem caurejas slimības baktēriju patogēniem ir *Escherichia coli*.⁽²⁾ *E. coli* ir gramnegatīva, laktozi fermentējoša, kustīga baktērija, kas pieder *Enterobacteriaceae* dzimtai. Šī baktērija parasti dzīvo kuņģa-zarnu traktā, taču tā var arī izraisīt caurejas slimības ar augstu saslimstību un mirstību bērniem, jo īpaši jaunattīstības valstīs. Pamatojoties uz baktērijas virulences īpašībām, epidemioloģiju un klīniskajām izpausmēm, tika noteiktas šādas caureju izraisošās *E. coli* klases: enteropatogēnā *E. coli* (EPEC), enterotoksigēnā *E. coli* (ETEC), enterohemorāģiskā *E. coli* (EHEC), enteroinvazīvā *E. coli* (EIEC) un enteroagregatīvā *E. coli* (EAEC). Visus šos *E. coli* caurejas patotipus var pārnest ar fēcēm vai orāli.⁽³⁾

Salīdzinot ar pārējām zarnu patogēnajām *E. coli*, būtiskākā ir enterohemorāģiskā *E. coli* (EHEC). Šī ir Šiga toksīnu un verotoksīnu producējošo *E. coli* (STEC vai VTEC attiecīgi) apakšgrupa. STEC patogenitāti var izsekot līdz tās spējai kolonizēt zarnas, pielīpot zarnu epitēlija šūnām. Pēc kolonizācijas baktērijas spēj producēt divus citotoksīnus: verotoksīnu 1 un verotoksīnu 2. Tā kā verotoksīni ir līdzīgi *Shigella dysenteriae* Šiga toksīnam, VTEC dēvē arī par STEC. Citi svarīgi diagnostiskie EHEC patogenitātes faktori ir ne tikai *stx1/stx2* (Šiga toksīna gēni), bet arī *eae* gēns (*E. coli* piesaistes un izdalīšanās gēns), kas kodē intimīnu - membrānas proteīnu. Šis membrānas proteīns ir atbildīgs par patogēna piesaistīšanu zarnu epitēlija šūnām.⁽⁴⁾ Klīniskie simptomi, ko EHEC/STEC var izraisīt cilvēkiem, svārstās no asiņainas caurejas līdz hemolītiski urēmiskajam sindromam (HUS).^(2, 5) Infekcijas avoti galvenokārt ir piesārņota pārtika, un EHEC/STEC infekcijas izraisīšanai pietiek ar mazāk nekā 1000 baktēriju. Līdz šim brīdim nopietnākais ar pārtiku saistītais STEC uzliesmojums Vācijā notika 2011. gadā. Šī uzliesmojuma laikā identificēja 3816 STEC infekcijas gadījumus un 54 nāves gadījumus, no kuriem 32 bija saistīti ar HUS.⁽⁵⁾

Enteropatogēnās *E. coli* (EPEC) ir zināmas kā bērnu caurejas slimību cēlonis, jo īpaši jaunattīstības valstīs.⁽³⁾ EPEC var atšķirt no EHEC pēc Šiga toksīnu neesamības.⁽³⁾ Biežākie simptomi, kas saistīti ar EPEC infekciju, ir ūdeņaina caureja, sāpes vēderā, slikta dūša, vemšana un drudzis, bet infekcijas deva veselīgiem pieaugušajiem ir aptuveni 10^8 organismu.⁽⁵⁾

Enteroinvazīvās *E. coli* (EIEC) un *Shigella* spp. līdzīgi izraisa caurejas slimības visā pasaulē, jo īpaši jaunattīstības valstīs. Abas šīs baktērijas ir gramnegatīvas un ir bioķīmiski un ģenētiski cieši saistītas viena ar otru.⁽⁶⁾ EIEC un *Shigella* spp. patogenitātes pamatā ir plazmīdu pastarpinātā invāzija zarnu epitēlija šūnās un to iznīcināšana. Par šo procesu atbild invāzijas plazmīdu antigēna H gēna (*ipaH*) produkti. Šis gēns ir būtisks EIEC/*Shigella* spp. noteikšanai, un tāpēc šo patotipu var atšķirt no EHEC. Uzskata, ka EIEC/*Shigella* spp. infekciju uzliesmojumus galvenokārt izraisa uzturs, un tie izpaužas kā caureja, sāpes vēderā, slikta dūša un drudzis.⁽⁶⁾

3. Testa princips

RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC ir multiplexa reāllaika PĶR tiešai kvalitatīvai EHEC, STEC, EPEC un EIEC/*Shigella* spp. virulences faktoru gēnu noteikšanai un diferencēšanai cilvēka fēču vai kultūras paraugos.

Apstrāde RIDA[®]UNITY sistēmā ir pilnībā automatizēta. Vispirms nukleīnskābes tiek ekstrahētas, izmantojot RIDA[®]UNITY Universal Extraction Kit un Internal Control Kit. Mērķa sekvenču vienmēr tiek noteikta viensoļa reāllaika RT-PĶR formātā (pat DNS analīzēs), proti, vienā reakcijas flakonā tiek veikta reversā transkripcija (RT) un sekojošā PĶR. Šajā procesā izolētā RNS (ja klātesoša) tiek transkribēta komplementārajā DNS ar reversās transkriptāzes palīdzību. Virulences faktoru *stx1/stx2*, *eae* un *ipaH* specifiskie gēnu fragmenti pēc tam tiek pastiprināti ar reāllaika PĶR.

Pastiprinātās mērķa sekvenču tiek noteiktas, izmantojot hidrolīzes zondes, kas vienā galā ir marķētas ar nomācēju, bet otrā - ar fluorescējošu ziņojošo krāsvielu (fluoroforu). Mērķa sekvenču klātbūtnē zondes hibridizējas ar amplikonu.

Pagarināšanas laikā

Taq polymerase atdala ziņotāju no nomācēja. Ziņojošā krāsviela izstaro fluorescējošu signālu, ko uztver reāllaika PĶR instrumenta optiskā iekārta.

Fluorescējošais signāls pastiprinās līdz ar izveidoto amplikonu daudzumu.

RIDA[®]UNITY Internal Control Kit jāizmanto vienlaicīgi, lai varētu pārbaudīt paraugu sagatavošanu un/vai iespējamo PĶR inhibīciju.

4. Nodrošinātie reaģenti

Ar komplektā esošajiem reaģentiem pietiek 96 noteikšanas reizēm*.

1. tabula. Nodrošinātie reaģenti

ATSAUCE	Reaģents	Apjoms		Vāka krāsa
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	dzeltens, gatavs lietošanai
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	sarkans, gatavs lietošanai
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 µL	zils, gatavs lietošanai
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 µL	balts, gatavs lietošanai

* Atkārtotas lietošanas gadījumā un mazākās sērijās reakciju skaits var būt mazāks.

5. Norādījumi par glabāšanu

- Lūdzu, ievērojiet 2. tabulā sniegtos norādījumus. Novietojiet komplektu glabāšanai uzreiz pēc lietošanas saskaņā ar sniegtajiem norādījumiem.
- Visi reaģenti jāuzglabā no -16 °C līdz -28 °C temperatūrā, sargājot no gaismas, un, ja tie nav atvērti, tos var lietot līdz derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetes. Pēc derīguma termiņa beigām kvalitātes garantija vairs nav spēkā.
- Visi reaģenti pirms lietošanas uzmanīgi jāatkausē (piemēram, ledusskapī 2 - 8 °C temperatūrā).
- Testa veikspēja netiek ietekmēta līdz 8 atkārtotas sasaldēšanas un atkausēšanas reizēm.

2. tabula. Glabāšanas nosacījumi un informācija

	Glabāšanas temperatūra	Maksimālais glabāšanas laiks
neatvērts	no -16 °C līdz -28 °C	Drīkst izmantot līdz norādītajam derīguma termiņa beigu datumam.
atvērts	no -16 °C līdz -28 °C	8 sasaldēšanas un atkausēšanas cikli

6. Nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie reaģenti

RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR tests ir paredzēts lietošanai tikai RIDA[®]UNITY sistēmā. Pareizai lietošanai absolūti nepieciešami tālāk norādītie izstrādājumi.

6.1. Reaģenti

Lai veiktu RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC testu, ir nepieciešami tālāk norādītie reaģenti.

Reaģenti	Preces numurs
RIDA [®] UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA [®] UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2. Laboratorijas aprīkojums

Lai veiktu RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC testu, ir nepieciešams tālāk norādītais aprīkojums.

Aprīkojums
RIDA [®] UNITY sistēma, preces numurs: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA [®] UNITY palīgmateriāli (uzgaļi, plates, reakcijas flakoni, plēves). Informāciju par palīgmateriālu pasūtīšanu skatiet RIDA [®] UNITY sistēmas lietošanas instrukcijā.
Virpuļmaisītājs
Galda centrifūga
Vienreiz lietojamie cimdi bez pulvera

Ārējais amplifikators (iespējams sistēmas uzlabojums)
CFX96 [™] Dx (Bio-Rad)

RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC komplektu var izmantot kopā ar citiem saderīgiem amplifikatoriem. Citiem reāllaika PĶR instrumentiem nepieciešama lietotāja verifikācija/validācija. Lai pārbaudītu saderību, lūdzu, sazinieties ar R-Biopharm AG pa e-pastu pcr@r-biopharm.de.

7. Brīdinājumi un piesardzības pasākumi lietotājiem

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Šo testu drīkst veikt tikai kvalificēti laboratorijas darbinieki. Ievērojiet vadlīnijas darbam medicīnas laboratorijās.

Veicot šo testu, vienmēr ievērojiet lietošanas rokasgrāmatā sniegto informāciju. Paraugus vai reaģentus nedrīkst iepilināt no pipetes, pūšot ar muti. Izvairieties no saskares ar bojātu ādu un gļotādu.

Rīkojoties ar reaģentiem un paraugiem, izmantojiet individuālos aizsarglīdzekļus (atbilstošus cimds, laboratorijas halātu, aizsargbrilles) un pēc testa nomazgājiet rokas.

Nesmēķējiet, neēdiet un nedzeriet vietās, kur tiek apstrādāti paraugi.

Nepieļaujiet paraugu un komplekta komponentu piesārņošanu ar mikrobiem un nukleāzēm (DNase/RNase).

Klīniskie paraugi jāuzskata par potenciāli infekcioziem un atbilstoši jāutilizē, tāpat kā visi reaģenti un materiāli, kas nonāk saskarē ar potenciāli infekcioziem paraugiem.

Nemainiet un nejauciet viena komplekta komponentus (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) no vienas komplekta partijas ar citas partijas komponentiem.

Testa komplektu var izmantot 8 nedēļas pēc pirmās atvēršanas (komplektu var atkārtoti ielādēt līdz 6 reizēm). Nelietojiet komplektu pēc derīguma termiņa beigū datuma. Šīs specifikācijas pārbauda arī RIDA[®]UNITY sistēma.

Lietotājiem ir pienākums nodrošināt visu reaģentu un materiālu pareizu utilizāciju pēc to lietošanas. Utilizācija jāveic saskaņā ar attiecīgajā valstī spēkā esošajiem noteikumiem.

Detalizēta informācija par drošības datu lapu (Safety Data Sheet, SDS) ir atrodama ar preces numuru vietnē <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Lietotājiem Eiropas Savienībā: ziņot R-Biopharm AG un attiecīgajām valsts iestādēm par visām nopietnajām nevēlamajām blakusparādībām, kas saistītas ar šo izstrādājumu.

Šī produkta drošuma un veiktspējas kopsavilkums (SSP) būs pieejams vietnē <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>, tiklīdz tiks izveidota Eiropas Medicīnisko ierīču datubāze (EUDAMED). Datu bāzē meklējiet ierīci, izmantojot UDI-DI, kas atrodas uz ierīces ārējā iepakojuma.

8. Paraugu ņemšana un glabāšana

Ieteicams izmantot svaigu paraugu materiālu, lai nodrošinātu labāko iespējamo RIDA®UNITY EHEC/EPEC analīzes veikspēju.

Izvairieties no atkārtotas parauga sasaldēšanas un atkausēšanas.

Fēču paraugus nedrīkst ievietot transportēšanas konteineros, kas satur transportēšanas barotnes ar konservantiem, dzīvnieku serumus, metāla jonus, oksidētājus vai mazgāšanas līdzekļus, jo šādas vielas var traucēt RIDA®UNITY testu darbību.

Lai izvairītos no atkārtotas atkausēšanas un sasaldēšanas, ieteicams sagatavot paraugu alikvotās daļas. Sasaldētie paraugi ir jāatkausē tieši pirms ekstrakcijas, lai nepieļautu nukleīnskābju noārdīšanos.

Ievērojiet 3.-6. tabulā sniegtos paraugu glabāšanas norādījumus.

3. tabula. Paraugu glabāšana. EHEC noteikšana

Sākotnējie paraugi - fēces		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C/-80 °C
≤ 7 dienas	≤ 7 dienas	≤ 6 mēneši

Sākotnējie paraugi - kultūra		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C/-80 °C
≤ 1 diena	≤ 1 diena	-

Eluātā (no fēcēm vai kultūras)		
30 °C	2–8 °C	-20 °C
≤ 24 stundas	≤ 36 stundas	≤ 7 dienas

Uzglabājot -20 °C/-80 °C temperatūrā, atkārtota fēču parauga sasaldēšana/atkausēšana līdz 5 reizēm neietekmē testa īpašības.

Uzglabājot -20 °C temperatūrā, eluāta (no fēcēm vai kultūras) atkārtota sasaldēšana/atkausēšana līdz 3 reizēm neietekmē testa īpašības.

Neaudzējiet kultūras no iepriekš sasaldētām fēcēm, jo sasaldēšana būtiski ietekmē patogēnu augšanas īpašības, un tas var izraisīt kļūdaini negatīvus rezultātus.

4. tabula. Paraugu glabāšana. STEC noteikšana

Sākotnējie paraugi - fēces		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C/-80 °C
≤ 7 dienas	≤ 7 dienas	≤ 6 mēneši

Sākotnējie paraugi - kultūra		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C/-80 °C
≤ 1 diena	≤ 1 diena	-

Eluātā (no fēcēm vai kultūras)		
30 °C	2–8 °C	-20 °C
≤ 24 stundas	≤ 36 stundas	≤ 7 dienas

Uzglabājot -20 °C/-80 °C temperatūrā, atkārtota fēču parauga sasaldēšana/atkausēšana līdz 5 reizēm neietekmē testa īpašības.

Uzglabājot -20 °C temperatūrā, eluāta (no fēcēm vai kultūras) atkārtota sasaldēšana/atkausēšana līdz 3 reizēm neietekmē testa īpašības.

Neaudzējiet kultūras no iepriekš sasaldētām fēcēm, jo sasaldēšana būtiski ietekmē patogēnu augšanas īpašības, un tas var izraisīt kļūdaini negatīvus rezultātus.

5. tabula. Paraugu glabāšana. EPEC noteikšana

Sākotnējie paraugi - fēces		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C/-80 °C
≤ 7 dienas	≤ 7 dienas	≤ 6 mēneši

Sākotnējie paraugi - kultūra		
20–25 °C	2–8 °C	-20 °C/-80 °C
≤ 1 diena	≤ 1 diena	-

Eluātā (no fēcēm vai kultūras)		
30 °C	2–8 °C	-20 °C
≤ 24 stundas	≤ 36 stundas	≤ 7 dienas

Uzglabājot -20 °C/-80 °C temperatūrā, atkārtota fēču parauga sasaldēšana/atkausēšana līdz 5 reizēm neietekmē testa īpašības.

Uzglabājot -20 °C temperatūrā, eluāta (no fēcēm vai kultūras) atkārtota sasaldēšana/atkausēšana līdz 3 reizēm neietekmē testa īpašības.

Neaudzējiet kultūras no iepriekš sasaldētām fēcēm, jo sasaldēšana būtiski ietekmē patogēnu augšanas īpašības, un tas var izraisīt kļūdaini negatīvus rezultātus.

6. tabula. Paraugu glabāšana. EIEC/*Shigella* spp. noteikšana

Sākotnējie paraugi - fēces

20–25 °C	2–8 °C	-20 °C/-80 °C
≤ 1 diena	≤ 7 dienas	≤ 6 mēneši

Sākotnējais paraugs - kultūra

20–25 °C	2–8 °C	-20 °C/-80 °C
-	≤ 1 diena	-

Eluātā (no fēcēm vai kultūras)

30 °C	2–8 °C	-20 °C
≤ 24 stundas	≤ 36 stundas	≤ 7 dienas

Uzglabājot -20 °C/-80 °C temperatūrā, atkārtota fēču parauga sasaldēšana/atkausēšana līdz 5 reizēm neietekmē testa īpašības.

Uzglabājot -20 °C temperatūrā, eluāta (no fēcēm vai kultūras) atkārtota sasaldēšana/atkausēšana līdz 3 reizēm neietekmē testa īpašības.

Neaudzējiet kultūras no iepriekš sasaldētām fēcēm, jo sasaldēšana būtiski ietekmē patogēnu augšanas īpašības, un tas var izraisīt kļūdaini negatīvus rezultātus.

8.1. DNS sagatavošana no fēču un kultūras paraugiem

Lai izolētu DNS no fēču un kultūras paraugiem, izmantojiet RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Ievērojiet pareizās procedūras, kas aprakstītas RIDA®UNITY Universal Extraction Kit lietošanas instrukcijā (sadaļa “Nukleīnskābju sagatavošana no fēču paraugiem”, sadaļa “Nukleīnskābju sagatavošana no kultūras paraugiem”).

9. Testa procedūra

Lietošanas sākumā ievietojiet RIDA®UNITY EHEC/EPEC paraugus un reaģentus RIDA®UNITY sistēmā.

Pirms tam atbilstoši sajauciet **Reaction Mix**, **Negative Control** un **Positive Control**, izmantojot virpuļmaisītāju. Nemaisiet **Enzyme Mix** virpuļmaisītājā.

Pēc tam īsi centrifugējiet visus komponentus.

Pārbaudāmo paraugu PĶR stobriņi iepriekš jānovieto iebūvētajā PĶR amplifikatorā.

Pareizai reaģentu un palīgmateriālu ievietošanai sistēmā ir pieejami turētāji.

Informāciju par ievietošanas procesu skatiet RIDA®UNITY sistēmas instrukcijās.

Ievērojiet attiecīgos RIDA®UNITY sistēmas rokasgrāmatas punktus (sadaļa: Cikla veikšana).

RIDA®UNITY EHEC/EPEC testu var izmantot tikai kopā ar RIDA®UNITY Internal Control Kit. Tas ļauj agrīni atpazīt iespējamo PĶR inhibīciju, pārbaudīt reaģentu integritāti un apstiprināt veiksmīgu nukleīnskābju ekstrakciju. Šī procedūra ir aprakstīta RIDA®UNITY Internal Control Kit lietošanas instrukcijā (sadaļa: Testa procedūra).

Automatizētā apstrāde ir aprakstīta RIDA®UNITY sistēmas rokasgrāmatā (sadaļa: Cikla veikšana).

9.1. Ierīces iestatījumi

9.1.1. Universālais reāllaika PQR profils

Lai saskaņotu RIDA®UNITY analīzes, RIDA®UNITY EHEC/EPEC analīze tika pārbaudīta universālajā profilā. Tas ļauj savstarpēji apvienot DNS un RNS analīzes. Tāpēc kopumā universālajā profilā reversā transkriptāze ir pirmā.

7. tabula. Universāls reāllaika PQR profils instrumentam RIDA®UNITY

<u>Apgrieztā transkriptāze</u>	10 min, 58 °C
Sākotnējā denaturēšana	1 min, 95 °C
Cikli	45 cikli
<u>PQR</u> Denaturācija	10 sek., 95 °C
Renaturācija/pagarināšana	15 sek., 60 °C
Temperatūras pārejas ātrums/ palielinājuma ātrums	Maksimālais

Piezīme. Renaturācija un pagarināšana notiek viena posma laikā.

8. tabula. Universālais reāllaika PQR profils instrumentam CFX96™ Dx

<u>Reversā transkripcija</u>	10 min, 58 °C
Sākotnējā denaturēšana	1 min, 95 °C
Cikli	45 cikli
<u>PQR</u> Denaturācija	15 sek., 95 °C
Renaturācija/pagarināšana	30 sek., 60 °C
Temperatūras pārejas ātrums/ palielinājuma ātrums	Maksimālais

Piezīme. Renaturācija un pagarināšana notiek viena posma laikā.

9.2 Noteikšanas kanālu iestatījums

9. tabula. Piemērotu noteikšanas kanālu izvēle

Reāllaika PĶR instruments	Noteikšana	Noteikšanas kanāls	Piezīme
R-Biopharm RIDA®UNITY	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanāls stx
	Internal Control	HEX	SEEK kanāls ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanāls ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanāls eae
Bio-Rad CFX96™ Dx	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanāls stx
	Internal Control	VIC	SEEK kanāls ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanāls ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanāls eae

10. Kvalitātes kontrole - reaģentu nestabilitātes vai derīguma termiņa norāde

Paraugi tiek novērtēti, izmantojot RIDA®UNITY sistēmas analītisko programmatūru RIDA®SEEK. **Negative Control** un **Positive Control** jāuzrāda pareizie rezultāti (skatīt 9. tabulu).

Positive Control ir 10^3 eksemplāru/ μ L koncentrācijā. Tā tiek izmantota kopskaitā 5×10^3 eksemplāros katrā PQR ciklā.

Negative Control jau satur RIDA®UNITY Internal Control. Tā kā kontrolēs nav veidņu, mērķa kanālos nav paredzami nekādi signāli. Ir svarīgi pozitīvie signāli IC kanālā, ar kuru tiek noteikta iekšējā kontrole (skatīt 10. tabulu).

10. tabula. Derīgam PQR ciklam jāatbilst šiem nosacījumiem:

Paraugs	Rezultāts	IC Ct	Mērķa gēns Ct
Pozitīvā kontrole	+	N/A*	Skatīt Certificate of Analysis
Negatīvā kontrole	-	Ct > 20	0

* Noteiktos apstākļos IC kanālam var būt pozitīvs signāls pozitīvajā kontrolē, un tāpēc tas nav jānovērtē.

Ja pozitīvā kontrole nav norādītajā Ct diapazonā, bet negatīvā kontrole ir derīga, visas PQR reakcijas, tostarp kontroles, ir jāanalizē atkārtoti.

Ja negatīvā kontrole nav negatīva, bet pozitīvā kontrole ir derīga, visas PQR reakcijas, tostarp kontroles, ir jāanalizē atkārtoti.

Ja norādītās vērtības netiek iegūtas, pirms testa atkārtošānas pārbaudiet šādus elementus:

- Izmantoto reaģentu derīguma termiņš
- Izmantojamā aprīkojuma darbība
- Pareiza testa procedūra

Ja pēc testa atkārtošānas nosacījumi joprojām netiek izpildīti, lūdzu, konsultējieties ar ražotāju vai vietējo R-Biopharm izplatītāju.

11. Izvērtēšana un interpretācija

Paraugu novērtēšana un interpretēšana tiek veikta, izmantojot RIDA®UNITY sistēmas analītisko programmatūru RIDA®SEEK.

Šobrīd standartizācijai nav starptautiski atzītas atsauces metodes vai materiāla. Kontroles materiāli ir metroloģiski izsekojami līdz iekšējiem R-Biopharm AG standartiem, pamatojoties uz specifiskiem DNS amplikoniem.

Lai saņemtu plašāku informāciju par metroloģisko izsekojamību, lūdzu, sazinieties ar R-Biopharm AG.

Norādītās vērtības, diapazoni un sīkāka informācija ir atrodama pievienotajā analīzes sertifikātā (Certificate of Analysis, CoA).

11. tabula. Rezultātu interpretēšana*

Noteikšana				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Rezultāts
+	-	-	+/-	Nosakāma STEC (EHEC)
-	+	-	+/-	Nosakāma EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
-	-	+	+/-	Nosakāma EPEC
+	+	-	+/-	Nosakāma STEC (EHEC) un EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
+	-	+	+/-	Nosakāma EHEC
-	+	+	+/-	Nosakāma EIEC/ <i>Shigella</i> spp. un EPEC
+	+	+	+/-	Nosakāma EHEC un EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
-	-	-	+	Mērķa gēni nav nosakāmi
-	-	-	-	Nederīgs

* += pozitīvs

- = negatīvs

Likums par aizsardzību infekcijas gadījuma (IfSG) apraksta EHEC kā Šiga toksīnus producējošo *E. coli* (STEC), kas ir cilvēka patogēni. Tā kā šobrīd nav iespējams precīzi noteikt cilvēka patogēno STEC, **katru** STEC uzskata par iespējamu EHEC.⁽⁵⁾

Paraugs ir pozitīvs, ja parauga DNS un Internal Control uzrāda pastiprinājuma signālu noteikšanas sistēmā.

Paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu arī tad, ja parauga DNS uzrāda pastiprinājuma signālu, bet Internal Control pastiprinājuma signāls noteikšanas sistēmā nav redzams. Šajā gadījumā Internal Control noteikšana nav nepieciešama, jo

vāju **Internal Control** signālu vai tā neesamību var izraisīt augsta amplikonu koncentrācija.

Paraugš ir negatīvs, ja parauga DNS neuzrāda pastiprinājuma signālu, bet **Internal Control** pastiprinājuma signāls ir redzams noteikšanas sistēmā. PĶR reakcijas inhibīciju un iepriekšēju ekstrakciju var izslēgt, nosakot **Internal Control**.

Paraugš ir nederīgs, ja parauga DNS un **Internal Control** neuzrāda pastiprinājuma signālu noteikšanas sistēmā. Paraugā ir inhibitori, vai ekstrakcijas laikā radās kļūda.

12. Metodes ierobežojumi

1. RIDA®UNITY EHEC/EPEC tests nosaka EHEC, STEC, EPEC un EIEC/*Shigella* spp. virulences faktoru DNS neapstrādātos cilvēka fēču un kultūras paraugos. No tā nevar atvasināt saistību starp noteiktās Ct vērtības līmeni un smagu klīnisko simptomu rašanos. Iegūtie rezultāti vienmēr ir jāinterpretē kombinācijā ar visiem klīniskajiem simptomiem.
2. Diagnozi nedrīkst noteikt, pamatojoties tikai uz molekulārbioloģiskās analīzes rezultātiem, bet vienmēr ir jāņem vērā pacienta slimības vēsture un simptomi.
3. Šis tests ir apstiprināts tikai automatizētai apstrādei, izmantojot RIDA®UNITY sistēmu.
4. Šis tests ir verificēts tikai fēču un kultūras paraugiem.
5. Izmantojot kultūras matrici, nepārnēsiet agara barotni PĶR reakcijā, jo tas var izraisīt iespējamu interferenci.
6. Nepareiza paraugu ņemšana, transportēšana, uzglabāšana un apstrāde vai patogēnu slodze, kas nesasniedz testa analītisko jutīgumu, var izraisīt kļūdaini negatīvus rezultātus.
7. PĶR inhibitoru klātbūtne var izraisīt kļūdaini negatīvus vai nederīgus rezultātus.
8. Tāpat kā visiem uz PĶR balstītajiem *in vitro* diagnostikas testiem, ir iespējams noteikt ļoti zemas mērķa sekvenču koncentrācijas, kas ir zem noteikšanas robežas (LoD 95 %). Iegūtie rezultāti ne vienmēr ir reproducējami.
9. Izmantojot RIDA®UNITY EHEC/EPEC, mutācijas vai polimorfismi praimeru vai zonžu saistvietās var traucēt jaunu vai nezināmu variantu noteikšanu un izraisīt kļūdaini negatīvus rezultātus.
10. Pozitīvs testa rezultāts neliecina par dzīvotspējīgu organismu klātbūtni. Pozitīvs rezultāts norāda, ka ir mērķa gēni (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae*; EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*).
11. Šī analīze jāveic saskaņā ar labas laboratorijas prakses (LLP) noteikumiem. Veicot testu, lietotājiem precīzi jāievēro ražotāja norādījumi.

13. Veiktspējas raksturlielumi

13.1. Klīniskās veiktspējas raksturlielumi

RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR tika salīdzināta ārējā laboratorijā ar CE marķētu atsauces testu, pamatojoties uz 276 fēču paraugiem no pacientiem ar kuņģa-zarnu trakta infekcijas simptomiem.

Rezultāti uzrāda ļoti augstu jutību un specifiskumu EHEC, STEC, EPEC un EIEC/*Shigella* spp. virulences faktoru noteikšanā, izmantojot RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC komplektu.

12. tabula. *stx1/2* noteikšana - fēču paraugi

		Atsauces PQR		Kopā
		Pozitīvs	Negatīvs	
RIDA [®] UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Pozitīvs	122	0	122
	Negatīvs	5	149	154
	Kopā	127	149	276

Relatīvais jutīgums (95 % TI)	96,1 % (91,1 %–98,7 %)
Relatīvais specifiskums (95 % TI)	100 % (97,6 %–100 %)

13. tabula. *ipaH* noteikšana - fēču paraugi

		Atsauces PQR		Kopā
		Pozitīvs	Negatīvs	
RIDA [®] UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Pozitīvs	65	0	65
	Negatīvs	0	211	211
	Kopā	65	211	276

Relatīvais jutīgums (95 % TI)	100 % (94,5 %–100 %)
Relatīvais specifiskums (95 % TI)	100 % (98,3 %–100 %)

14. tabula. eae noteikšana - fēču paraugi

		Atsauces PQR		Kopā
		Pozitīvs	Negatīvs	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - eae	Pozitīvs	179	0	179
	Negatīvs	4	93	97
	Kopā	183	93	276

Relatīvais jutīgums (95 % TI)	97,8 % (94,5 %–100 %)
Relatīvais specifiskums (95 % TI)	100 % (96,1 %–100 %)

13.2. Analītiskās veikspējas raksturlielumi**13.2.1. Noteikšanas robeža (LoD 95 %)**

Lai noteiktu LoD, tika mērīts pozitīvs kontroles paraugs (negatīvi piesātināti fēču paraugi vai kultūras paraugs) piecos atšķaidīšanas posmos (0,25 log posmos) katram mērķim ar 20 atkārtojumiem katrā posmā vienā partijā. Pēc tam tika veikta varbūtības vienības analīze. Pēc tam aprēķinātā LoD tika apstiprināta ar 20 atkārtojumiem katram mērķim uz aprēķināto atšķaidīšanas posmu/koncentrāciju. Testēšanai tika izmantoti šādi celmi:

- *stx1/stx2: Escherichia coli* D3509 (*stx2* LoD vērtība tika noteikta, jo *stx2* ir saistīts ar hemolītiski urēmisko sindromu.)
- *ipaH: Escherichia coli* Fr1368
- *eae: Escherichia coli* DSM8695

Nosakot EHEC, STEC, EPEC un EIEC/*Shigella* spp. DNS ar RIDA®UNITY EHEC/EPEC analīzes palīdzību UNITY sistēmā, tika noteiktas tālāk minētās noteikšanas robežas (LoD).

Šo mērījumu rezultāti ir parādīti 15. tabulā.

15. tabula. RIDA®UNITY EHEC/EPEC testa noteikšanas robežas rezultāti mērķiem *stx1/2*, *ipaH* un *eae*.

	Matrica	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Fēces	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 vērtība fēču paraugos bija 476 000 CFU/mL.

ipaH LoD vērtība fēču paraugos bija 5300 CFU/mL.

eae LoD vērtība fēču paraugos bija 125 000 CFU/mL.

stx1/2 LoD vērtība kultūras paraugos bija 2130 CFU/mL.

ipaH LoD vērtība kultūras paraugos bija 798 CFU/mL.

eae LoD vērtība kultūras paraugos bija 2890 CFU/mL.

Uzlabotajai darbplūsmi, izmantojot CFX96™ Dx, šīs LoD vērtības tika apstiprinātas, pieņemot, ka joprojām tiek izmantots 2-3 reižu LoD diapazons.

13.2.2. Analītiskais specifiskums

Traucējošās vielas

PQR inhibitoru un traucējošo vielu klātbūtne var izraisīt kļūdaini negatīvus vai nederīgus rezultātus. Tādēļ tika pētīta dažādu vielu iespējamā ietekme, ņemot vērā to plašo lietojumu kuņģa un zarnu trakta infekciju gadījumos vai biežo sastopamību attiecīgajos paraugos.

Vielas, kas potenciāli varētu būtiski ietekmēt testa rezultātus, sākotnēji tika pārbaudītas lielā koncentrācijā (trīskārša dienas deva vai sliktākā gadījuma imitācija) interferences ekrānā.

Netika konstatēti 16. tabulā uzskaitīto vielu radīti traucējumi.

16. tabula. Potenciāli traucējošās vielas

Potenciāli traucējošā viela	Koncentrācija
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg apvalkotās tabletes (azitromicīns)	0,75 % [svars/tilpums]
Bārija sulfāts	18,5 % [tilpums/tilpums]
Cologran® šķidrās saldinātājs (saharīns + ciklamāts)	1,3 % [svars/tilpums]
Cilvēka asinis	5 % [tilpums/tilpums]
Ogles tabletes 250 mg (kokogle)	6 % [svars/tilpums]
Loperamid-ratiopharm® akut (loperamīds)	0,02 % [tilpums/tilpums]
Gļotas	5 % [svars/tilpums]
Stearīnskābe/palmitīnskābe	40 % [svars/tilpums]

Krusteniskās reakcijas

Tika pētīti dažādi organismi (baktērijas, parazīti, sēnītes un vīrusi), kas parasti ir atrodami fēču matricā. Šajā testā pētītie mikroorganismi tika izvēlēti, jo tie ir dabiski sastopami fēču paraugos vai arī izraisa atbilstošos simptomus kā kuņģa un zarnu trakta patogēni. Analīzei tika izmantotas baktēriju kultūras (no 10⁶ līdz 10⁹ CFU/mL), sēnīšu vai vīrusu kultūras, vīrusu kultūru centrifugāti, izolāti un konkrēto organismu LGC standarti.

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR ir specifiska EHEC, STEC, EPEC un EIEC/*Shigella* spp. Krusteniskās reakcijas starp šīm sugām netika konstatētas (skatīt 17. tabulu):

17. tabula. Potenciāli krusteniski reaģējošie organismi.

Organisms	Testa rezultāts*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenovirus 40	-	-	-
Adenovirus 41, cilvēka, Tak celms	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
Astrovirus 2	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-
<i>Campylobacter fetus</i> apakšs. <i>fetus</i>	-	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	-
<i>Campylobacter lari</i> apakšs. <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>	-	-	-

* - = negatīvs

** *Giardia intestinalis* un *Giardia lamblia* ir viens un tas pats organisms.

13.2.3. Precizitāte

RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR testa precizitāte tika noteikta tālāk norādītajiem apsvēršanas līmeņiem.

Precizitāte *vienas* analīzes ietvaros: 5 kontroles paraugu noteikšana identiskos apstākļos ar 20 atkārtojumiem katram, izmantojot RIDA®UNITY.

Inter Precizitāte starp vairākiem testiem: 5 kontroles paraugu noteikšana 20 izpildēs pa divām reizēm 10 darba dienas (2 izpildes dienā), ko veic dažādi tehniskie darbinieki reproducējamos apstākļos.

precizitātes testēšana *viena* testa *ietvaros* un starp vairākiem testiem tika veikta, izmantojot trīs dažādas partijas.

Variāciju koeficienti, kas iegūti katram mērījumam, izmantojot RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR testu RIDA®UNITY un CFX96™ Dx, bija 4,29 %.

18. tabula. RIDA®UNITY EHEC/EPEC testa *stx1/2* precizitātes rezultāti no fēču paraugiem (RIDA®UNITY sistēma).

Ct	Vidējā vērtība / CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām
		1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partija
1	Ct	27,8	27,7	27,4	27,8	27,7	27,6	27,7
	VK (%)	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
	VK (%)	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
	VK (%)	1,72 %	1,35 %	1,46 %	3,29 %	2,85 %	3,15 %	3,10 %
4	Ct	-	-	-	32,0	31,7	31,6	31,8
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	2,15 %	2,23 %	2,26 %	2,28 %
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	VK (%)	2,34 %	2,05 %	2,13	N/A	N/A	N/A	N/A

19. tabula. RIDA®UNITY EHEC/EPEC testa *stx1/2* precizitātes rezultāti no fēču paraugiem (CFX96™ Dx).

Ct	Vidējā vērtība / CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām
		1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partija
1	Ct	27,2	27,1	26,9	26,1	26,0	26,0	26,0
	VK (%)	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
	VK (%)	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
	VK (%)	2,34 %	0,74 %	0,95 %	4,29 %	3,11 %	2,91 %	3,54 %
4	Ct	-	-	-	29,2	28,7	28,6	28,9
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	2,96 %	2,90 %	2,76 %	3,04 %
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	VK (%)	1,52 %	1,59 %	3,43 %	N/A	N/A	N/A	N/A

20. tabula. RIDA®UNITY EHEC/EPEC testa *ipaH* precizitātes rezultāti no fēču paraugiem (RIDA®UNITY sistēma).

Ct	Vidējā vērtība / CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām
		1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partija
1	Ct	25,0	24,8	24,6	25,3	25,1	25,1	25,2
	VK (%)	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
	VK (%)	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
	VK (%)	0,96 %	0,99 %	0,87 %	1,72 %	1,57 %	1,53 %	1,61 %
4	Ct	-	-	-	27,1	27,0	27,0	27,0
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	1,44 %	1,34 %	1,45 %	1,42 %
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	VK (%)	0,88 %	0,77 %	0,69 %	N/A	N/A	N/A	N/A

21. tabula. RIDA®UNITY EHEC/EPEC testa *ipaH* precizitātes rezultāti no fēču paraugiem (CFX96™ Dx).

Ct	Vidējā vērtība / CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām
		1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partija
1	Ct	25,1	25,0	24,8	24,4	24,4	24,4	24,4
	VK (%)	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
	VK (%)	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
	VK (%)	1,04 %	1,09 %	1,14 %	1,29 %	1,46 %	1,53 %	1,43 %
4	Ct	-	-	-	26,2	26,1	26,1	26,2
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	1,27 %	1,45 %	1,36 %	1,36 %
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	VK (%)	0,89 %	0,53 %	0,70 %	N/A	N/A	N/A	N/A

22. tabula. RIDA®UNITY EHEC/EPEC testa eae precizitātes rezultāti no fēču paraugiem (RIDA®UNITY sistēma).

Ct Vidējā vērtība / CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām	
	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partija	
1	Ct	26,2	26,3	26,0	26,4	26,5	26,5	26,5
	VK (%)	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
	VK (%)	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
	VK (%)	1,05 %	0,86 %	0,99 %	2,03 %	1,84 %	1,80 %	1,89 %
4	Ct	-	-	-	28,9	29,1	29,1	29,0
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	1,81 %	1,78 %	1,81 %	1,80 %
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	VK (%)	1,24 %	0,78 %	1,18 %	N/A	N/A	N/A	N/A

23. tabula. RIDA®UNITY EHEC/EPEC testa eae precizitātes rezultāti no fēču paraugiem (CFX96™ Dx).

Ct	Vidējā vērtība / CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām
		1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partija
1	Ct	26,5	26,6	26,5	26,3	26,4	26,4	26,4
	VK (%)	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
	VK (%)	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
	VK (%)	0,88 %	0,74 %	0,79 %	1,66 %	1,78 %	1,85 %	1,77 %
4	Ct	-	-	-	28,5	28,7	28,6	28,6
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	1,32 %	1,58 %	1,48 %	1,47 %
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	VK (%)	0,73 %	0,55 %	0,68 %	N/A	N/A	N/A	N/A

13.2.4. Analītiskā reaktivitāte

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR testa reaktivitāte tika pārbaudīta noteiktā *E. coli* un *Shigella* celmu panelī (skatīt 24. tabulu).

24. tabula. Analītiskās reaktivitātes testēšana

Celms	Rezultāts*		
	<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>	-	+	-

* + = pozitīvs (vismaz 2 no 3 atkārtojumiem ir pozitīvi)










- = negatīvs

14. Pārskatīto versiju vēsture





Versijas numurs	Sadaļa un apzīmējums
2022-06-14	Laidiena versija

15. Simbolu skaidrojums

Vispārīgi simboli

	Lietošanai <i>in vitro</i> diagnostikā
	Ievērojiet lietošanas instrukcijas
	Sērijas numurs
	Izlietot pirms
	Glabāšanas temperatūra
	Preces numurs
	Testu skaits
	Izgatavošanas datums
	Ražotājs

Testa specifiskie simboli

	Reakcijas maisījums
	Enzīmu maisījums
	Negatīvā kontrole
	Pozitīvā kontrole

16. Atsauces

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).