

RIDA® UNITY EHEC/EPEC

REF UN2205



1. Przeznaczenie

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*. Test RIDA®UNITY EHEC/EPEC, wykonywany na platformie RIDA®UNITY, jest multipleksowym testem PCR w czasie rzeczywistym służącym do bezpośredniego jakościowego wykrywania DNA czynników wirulencji EHEC, STEC, EPEC i EIEC/*Shigella* spp. w nieprzygotowanych próbkach kału i próbkach posiewów pochodzących od osób z objawami ostrego zapalenia przewodu pokarmowego.

Test RIDA®UNITY EHEC/EPEC jest przeznaczony do wspomagania diagnostyki różnicowej zakażeń *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC i EIEC/*Shigella* spp.) u pacjentów z objawami zapalenia przewodu pokarmowego w połączeniu z innymi wynikami badań klinicznych i laboratoryjnych.

Wyniki ujemne nie wykluczają zakażenia *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC lub EIEC/*Shigella* spp.) i nie powinny być traktowane jako jedyna podstawa do postawienia rozpoznania.

Produkt ten jest przeznaczony do użytku profesjonalnego.

2. Podsumowanie i wyjaśnienie testu

Choroby przebiegające z biegunką są poważnym problemem zdrowotnym i powodują około 1,7 miliarda przypadków rocznie u dzieci na całym świecie⁽¹⁾. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) choroby te powodują ok. 525 000 zgonów rocznie i są drugą z najczęstszych przyczyn zgonów dzieci poniżej 5. roku życia, zwłaszcza w krajach rozwijających się⁽¹⁾. Jednym z najczęstszych patogenów bakteryjnych odpowiedzialnych za choroby przebiegające z biegunką jest *Escherichia coli*⁽²⁾.

E. coli jest Gram-ujemną, fermentującą laktozę, ruchliwą bakterią należącą do rodziny *Enterobacteriaceae*. Jej występowanie w przewodzie pokarmowym jest zjawiskiem prawidłowym, ale może ona również powodować choroby przebiegające z biegunką, które charakteryzują się wysoką zachorowalnością i umieralnością u dzieci, zwłaszcza w krajach rozwijających się. Następujące klasy powodujących biegunkę bakterii *E. coli* zostały zidentyfikowane na podstawie charakterystyki wirulencji bakterii, epidemiologii i objawów klinicznych: enteropatogenne *E. coli* (EPEC), enterotoksygenne *E. coli* (ETEC), enterokrwotoczne *E. coli* (EHEC), enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC) i enteroagregacyjne *E. coli* (EAEC). Wszystkie te powodujące biegunkę patotypy *E. coli* mogą być przenoszone drogą fekalno-oralną⁽³⁾.

Wśród patogenicznych jelitowych *E. coli* szczególne znaczenie zyskały enterokrwotoczne *E. coli* (EHEC). Stanowią one podgrupę *E. coli* wytwarzającą toksynę Shiga lub werotoksynę (odpowiednio STEC i VTEC). Patogeniczność STEC można przypisać ich zdolności do kolonizacji jelita poprzez przyleganie do komórek nabłonka jelitowego. Po kolonizacji bakterie są w stanie wytwarzać dwie cytotoksyny, werotoksynę 1 i 2. Ze względu na podobieństwo werotoksyn do toksyny Shiga wytwarzanej przez *Shigella dysenteriae*, VTEC nazywane są również STEC. Inne

ważne diagnostyczne czynniki patogeniczności EHEC to nie tylko *stx1/stx2* (geny toksyny Shiga), ale także gen *eae* (gen odpowiedzialny za wywoływanie zmian typu A/E (ang. attaching and effacing) przez *E. coli*), który koduje intyminę, białko błonowe. To białko błonowe jest odpowiedzialne za przyleganie patogenu do komórek nabłonka jelit⁽⁴⁾. Objawy kliniczne, które mogą być spowodowane przez EHEC/STEC u ludzi, obejmują krwawą biegunkę lub zespół hemolityczno-mocznicowy (ang. hemolytic uremic syndrome, HUS)^(2, 5). Źródłem zakażenia jest głównie skażona żywność, podczas gdy mniej niż 1000 bakterii wystarcza do wywołania infekcji EHEC/STEC. Do tej pory najgorsza epidemia związana z żywnością spowodowana przez STEC w Niemczech wystąpiła w 2011 r. Ta epidemia doprowadziła do 3816 zidentyfikowanych zakażeń STEC i 54 zgonów, z których 32 były związane z HUS⁽⁵⁾.

Enteropatogenne *E. coli* (EPEC) są znane jako przyczyna chorób biegunkowych u dzieci, zwłaszcza w krajach rozwijających się⁽³⁾. EPEC można odróżnić od EHEC na podstawie braku toksyn Shiga⁽³⁾. Najczęstsze objawy związane z zakażeniem EPEC to wodnista biegunka, ból brzucha, nudności, wymioty i gorączka, podczas gdy dawka zakaźna u zdrowych osób dorosłych wynosi około 10^8 komórek⁽⁵⁾.

Enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC) i *Shigella* spp. powodują również choroby biegunkowe na całym świecie, zwłaszcza w krajach rozwijających się. Obie są bakteriami Gram-ujemnymi, które są ze sobą blisko spokrewnione pod względem biochemicznym i genetycznym⁽⁶⁾. Patogeniczność EIEC i *Shigella* spp. opiera się na inwazji plazmidowej komórek nabłonka jelitowego i ich zniszczeniu. Za ten proces odpowiadają produkty genu antygeny H plazmidu inwazyjnego (*ipaH*). Gen ten jest istotny dla wykrywania EIEC/*Shigella* spp., umożliwiając odróżnienie tego patotypu od EHEC. Ogniska zakażeń EIEC/*Shigella* spp. uważa się za spowodowane głównie przez żywność. Objawiają się one biegunką, bólem brzucha, nudnościami i gorączką⁽⁶⁾.

3. Zasada testu

RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC to multiplexowy test PCR w czasie rzeczywistym służący do bezpośredniego jakościowego wykrywania i różnicowania genów czynników wirulencji EHEC, STEC, EPEC i EIEC/*Shigella* spp. w próbkach kału lub posiewu pochodzących od ludzi.

Przetwarzanie jest w pełni zautomatyzowane dzięki systemowi RIDA[®]UNITY.

Najpierw kwasy nukleinowe są ekstrahowane przy użyciu RIDA[®]UNITY Universal Extraction Kit i zestawu kontroli wewnętrznej.

Sekwencja docelowa jest zawsze wykrywana w jednoetapowym formacie RT-PCR w czasie rzeczywistym (nawet w przypadku testów DNA), co oznacza, że najpierw odbywa się odwrotna transkrypcja (RT), a następnie PCR, które są przeprowadzane w jednej fiołce reakcyjnej. W tym procesie wyizolowany RNA (jesli występuje) jest transkrybowany do cDNA za pomocą odwrotnej transkryptazy. Specyficzne fragmenty genów czynników wirulencji *stx1/stx2*, *eae* oraz *ipaH* są następnie amplifikowane przy użyciu PCR w czasie rzeczywistym.

Amplifikowane sekwencje docelowe są wykrywane przy użyciu sond hydrolizujących, które są znakowane wygaszaczem na jednym końcu i fluorescencyjnym barwnikiem reporterowym (fluoroforem) na drugim. W obecności sekwencji docelowej sondy hybrydują z amplikonem. Podczas elongacji

Taq Polymerase oddziela reporter od wygaszacza. Reporter emituje sygnał fluorescencyjny, który jest wykrywany przez jednostkę optyczną aparatu do PCR w czasie rzeczywistym. Natężenie sygnału fluorescencyjnego wzrasta wraz z ilością powstających amplikonów. RIDA[®]UNITY Internal Control Kit musi być używany w tym samym czasie, aby móc sprawdzić przygotowanie próbki i/lub potencjalną inhibicję PCR.

4. Dostarczane odczynniki

Odczynniki w zestawie wystarczają na 96 oznaczeń*.

Tabela 1: Dostarczane odczynniki

NR KAT.	Odczynnik	Ilość		Kolor pokrywki
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	żółty, gotowy do użycia
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	czerwony, gotowy do użycia
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 µL	niebieski, gotowy do użycia
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 µL	biały, gotowy do użycia

* Przy wielokrotnym użyciu i w mniejszych seriach liczba reakcji może ulec zmniejszeniu.

5. Instrukcje dotyczące przechowywania

- Należy postępować zgodnie z wytycznymi dotyczącymi postępowania przedstawionymi w Tabeli 2 i przechowywać zestaw bezpośrednio po użyciu zgodnie z podanymi informacjami.
- Wszystkie odczynniki należy przechowywać z dala od światła w temperaturze od -16°C do -28°C. Nieotwarte odczynniki można zużyć do terminu ważności wydrukowanego na etykiecie. Po upływie terminu ważności nie można zagwarantować jakości.
- Wszystkie odczynniki należy ostrożnie rozmrozić przed użyciem (np. w lodówce w temperaturze 2–8°C).
- Wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie do 8 razy nie wpływa na właściwości testu.

Tabela 2: Warunki przechowywania i informacje

	Temperatura przechowywania	Maksymalny czas przechowywania
nieotwarte	od -16°C do -28°C	Można zużyć do wydrukowanego terminu ważności
po otwarciu	od -16°C do -28°C	8 cykli zamrażania-rozmrażania

6. Odczynniki wymagane, ale niedostarczane

Test RIDA® UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR w czasie rzeczywistym i jest przeznaczony wyłącznie do użytku z systemem RIDA®UNITY. Do prawidłowego stosowania bezwzględnie wymagane są następujące produkty:

6.1 Odczynniki

Do wykonania testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC test:potrzebne są następujące odczynniki:

Odczynniki	Nr kat.
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Sprzęt laboratoryjny

Do wykonania testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC potrzebny jest następujący sprzęt:

Sprzęt
System RIDA®UNITY; nr kat.: ZUNITY (R-Biopharm AG)
Materiały eksploatacyjne RIDA®UNITY (końcówki, płytki, fiolki reakcyjne, folie). Informacje dotyczące zamawiania materiałów eksploatacyjnych, patrz instrukcja obsługi RIDA®UNITY.
Worteks
Wirówka stołowa
Jednorazowe rękawiczki bezpudrowe
Cyklar zewnętrzny (możliwe rozszerzenie systemu)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

Zestaw RIDA®UNITY EHEC/EPEC może być używany w połączeniu z innymi kompatybilnymi cyklerami. Alternatywne instrumenty do PCR w czasie rzeczywistym muszą zostać zweryfikowane/zwalidowane przez użytkownika. Aby sprawdzić zgodność, należy skontaktować się z firmą R-Biopharm AG pod adresem pcr@r-biopharm.de.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności dla użytkowników

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Ten test może być wykonywany wyłącznie przez wykwalifikowany personel laboratoryjny. Należy przestrzegać wytycznych dotyczących pracy w laboratoriach medycznych.

Podczas wykonywania tego testu należy zawsze ściśle przestrzegać instrukcji użycia. Nie pipetować próbek ani odczynników ustami. Unikać kontaktu z uszkodzoną skórą i błonami śluzowymi.

Podczas pracy z odczynnikami i próbkami należy nosić osobiste wyposażenie ochronne (odpowiednie rękawiczki, fartuch laboratoryjny, okulary ochronne), a po wykonaniu testu - umyć ręce.

W miejscu, w którym przetwarzane są próbki nie wolno palić, jeść ani pić.

Należy unikać zanieczyszczenia próbek i składników zestawu drobnoustrojami i nukleazami (DNaza/RNaza).

Próbki kliniczne należy traktować jako potencjalnie zakaźne i odpowiednio je zutylizować, podobnie jak wszystkie odczynniki i materiały, które mają kontakt z potencjalnie zakaźnymi próbkami.

Nie należy wymieniać ani mieszać odczynników (Reaction Mix, Enzyme Mix, Internal Control RNA, Positive Control, ujemny Control) z danej partii zestawu z inną partią.

Zestaw testowy może być używany przez 8 tygodni od pierwszego otwarcia (zestaw można ładować do 6 razy). Nie używać zestawu testu po upływie terminu ważności. Specyfikacje te są również sprawdzane przez system RIDA[®]UNITY.

Użytkownicy ponoszą odpowiedzialność za prawidłową utylizację wszystkich odczynników i materiałów po użyciu. W przypadku utylizacji należy przestrzegać przepisów krajowych.

Dalsze szczegóły dotyczące karty charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS) można znaleźć pod numerem pozycji na stronie <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Dotyczy użytkowników w Unii Europejskiej: Wszystkie poważne zdarzenia niepożądane związane z produktem należy zgłaszać firmie R-Biopharm AG oraz odpowiednim organom krajowym.

Podsumowanie bezpieczeństwa i działania (SSP) dla tego produktu będzie dostępne pod adresem <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> po uruchomieniu Europejskiej Bazy Danych o Wyrobach Medycznych (EUDAMED). W bazie danych należy wyszukać wyrób za pomocą kodu UDI-DI znajdującego się na zewnętrznym opakowaniu wyrobu.

8. Pobieranie i przechowywanie próbek

Zaleca się użycie świeżego materiału próbki, aby uzyskać najlepszą możliwą skuteczność testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC.

Należy unikać wielokrotnego zamrażania/rozmróżania próbki.

Nie należy pobierać próbek kału do pojemników transportowych zawierających pożywkę transportową ze środkami konserwującymi, surowicą zwierzęcą, jonami metali, środkami utleniającymi lub detergentami, ponieważ takie substancje mogą zakłócać test RIDA®UNITY.

Zaleca się przygotowanie porcji próbek, aby uniknąć wielokrotnego rozmrażania i zamrażania. Zamrożone próbki należy rozmrozić bezpośrednio przed ekstrakcją, aby zapobiec rozkładowi kwasu nukleinowego.

Należy postępować zgodnie z instrukcjami dotyczącymi przechowywania próbek, podanymi w Tabelach od 3 do 6.

Tabela 3: Przechowywanie próbek - wykrywanie EHEC

Próbki natywne - kał		
20–25°C	2–8°C	-20°C/-80°C
≤ 7 dni	≤ 7 dni	≤ 6 miesięcy

Próbki natywne - posiew		
20–25°C	2–8°C	-20°C/-80°C
≤ 1 dzień	≤ 1 dzień	-

W eluacie (z kału lub posiewu)		
30°C	2–8°C	-20°C
≤ 24 godzin	≤ 36 godzin	≤ 7 dni

W temperaturze przechowywania -20°C/-80°C wielokrotne zamrażanie/rozmróżanie próbki kału do 5 razy nie wpływa na właściwości testu.

Przy przechowywaniu w temperaturze -20°C wielokrotne zamrażanie/rozmróżanie eluatu (z kału lub posiewu) do 3 razy nie wpływa na właściwości testu.

Nie należy prowadzić hodowli z wcześniej zamrożonych próbek kału, ponieważ zamrażanie poważnie wpływa na charakterystykę wzrostu patogenów, a to może potencjalnie doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych.

Tabela 4: Przechowywanie próbek - wykrywanie STEC

Próbki natywne - kał		
20–25°C	2–8°C	-20°C/-80°C
≤ 7 dni	≤ 7 dni	≤ 6 miesięcy

Próbki natywne - posiew		
20–25°C	2°C - 8°C	-20°C/-80°C
≤ 1 dzień	≤ 1 dzień	-

W eluacie (z kału lub posiewu)		
30°C	2–8°C	-20°C
≤ 24 godzin	≤ 36 godzin	≤ 7 dni

W temperaturze przechowywania -20°C/-80°C wielokrotne zamrażanie/rozmrzanie próbki kału do 5 razy nie wpływa na właściwości testu.

Przy przechowywaniu w temperaturze -20°C wielokrotne zamrażanie/rozmrzanie eluatu (z kału lub posiewu) do 3 razy nie wpływa na właściwości testu.

Nie należy prowadzić hodowli z wcześniej zamrożonych próbek kału, ponieważ zamrażanie poważnie wpływa na charakterystykę wzrostu patogenów, a to może potencjalnie doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych.

Tabela 5: Przechowywanie próbek - wykrywanie EPEC

Próbki natywne - kał		
20–25°C	2–8°C	-20°C/-80°C
≤ 7 dni	≤ 7 dni	≤ 6 miesięcy

Próbki natywne - posiew		
20–25°C	2–8°C	-20°C/-80°C
≤ 1 dzień	≤ 1 dzień	-

W eluacie (z kału lub posiewu)		
30°C	2–8°C	-20°C
≤ 24 godzin	≤ 36 godzin	≤ 7 dni

W temperaturze przechowywania -20°C/-80°C wielokrotne zamrażanie/rozmrzanie próbki kału do 5 razy nie wpływa na właściwości testu.

Przy przechowywaniu w temperaturze -20°C wielokrotne zamrażanie/rozmrzanie eluatu (z kału lub posiewu) do 3 razy nie wpływa na właściwości testu.

Nie należy prowadzić hodowli z wcześniej zamrożonych próbek kału, ponieważ zamrażanie poważnie wpływa na charakterystykę wzrostu patogenów, a to może

potencjalnie doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych.

Tabela 6: Przechowywanie próbek - wykrywanie EIEC/*Shigella* spp.

Próbki natywne - kał		
20–25°C	2–8°C	-20°C/-80°C
≤ 1 dzień	≤ 7 dni	≤ 6 miesięcy

Próbka natywna - posiew		
20–25°C	2–8°C	-20°C/-80°C
-	≤ 1 dzień	-

W eluacie (z kału lub posiewu)		
30°C	2–8°C	-20°C
≤ 24 godzin	≤ 36 godzin	≤ 7 dni

W temperaturze przechowywania -20°C/-80°C wielokrotne zamrażanie/rozmarzanie próbki kału do 5 razy nie wpływa na właściwości testu.

Przy przechowywaniu w temperaturze -20°C wielokrotne zamrażanie/rozmarzanie eluatu (z kału lub posiewu) do 3 razy nie wpływa na właściwości testu.

Nie należy prowadzić hodowli z wcześniej zamrożonych próbek kału, ponieważ zamrażanie poważnie wpływa na charakterystykę wzrostu patogenów, a to może potencjalnie doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych.

8.1 Przygotowanie DNA z próbek kału i posiewu

Aby wyizolować DNA z próbek kału i posiewu, należy użyć RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Postępować zgodnie z prawidłowymi procedurami zawartymi w instrukcji obsługi RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (punkt: Przygotowanie kwasów nukleinowych z próbek kału; punkt Przygotowanie kwasów nukleinowych z próbek posiewu).

9. Procedura testu

Umieścić zarówno próbki, jak i odczynniki zestawu RIDA®UNITY EHEC/EPEC w systemie RIDA®UNITY na początku stosowania.

Wcześniej należy odpowiednio wymieszać [Reaction Mix], [Negative Control] i [Positive Control] za pomocą wortexu. Nie należy wortexować [Enzyme Mix].

Następnie krótko odwirować wszystkie składniki.

Probówki do PCR na badane próbki muszą zostać wcześniej umieszczone w zintegrowanym cyklerze PCR.

Dostępne są nośniki do prawidłowego ładowania systemu odczynnikiem i materiałami eksploatacyjnymi. Podczas procesu ładowania należy postępować zgodnie z instrukcjami systemu RIDA®UNITY. Należy zapoznać się z odpowiednimi punktami w podręczniku systemu RIDA®UNITY (punkt: Wykonywanie cyklu).

Test RIDA®UNITY EHEC/EPEC może być używany tylko w połączeniu z RIDA®UNITY Internal Control Kit. Pozwala to na wczesne rozpoznanie potencjalnej inhibicji PCR, weryfikację integralności odczynnika i potwierdzenie pomyślnej ekstrakcji kwasu nukleinowego. Procedura jest opisana w instrukcji obsługi RIDA®UNITY Internal Control Kit (punkt: Procedura testu).

Automatyczne przetwarzanie jest opisane w podręczniku systemu RIDA®UNITY (punkt: Wykonywanie cyklu).

9.1 Ustawienia urządzenia

9.1.1 Uniwersalny profil PCR w czasie rzeczywistym

Aby zharmonizować testy RIDA[®]UNITY, test RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC został zweryfikowany w profilu uniwersalnym. Umożliwia to łączenie testów DNA i RNA. Ogólnie rzecz biorąc, dlatego odwrotna transkrypcja działa jako pierwsza w profilu uniwersalnym.

Tabela 7: Uniwersalny profil PCR w czasie rzeczywistym dla RIDA[®]UNITY

<u>Odwrotna transkrypcja</u>	10 min, 58°C
Wstępna denaturacja	1 min, 95°C
Cykle	45 cykli
<u>PCR</u> Denaturacja	10 s, 95°C
Annealing/ekstensja	15 s, 60°C
Szybkość zmiany temperatury/ szybkość narastania	Maks.

Uwaga: Annealing i elongacja odbywają się na tym samym etapie.

Tabela 8: Uniwersalny profil PCR w czasie rzeczywistym w przypadku aparatu CFX96[™] Dx

<u>Odwrotna transkrypcja</u>	10 min, 58°C
Wstępna denaturacja	1 min, 95°C
Cykle	45 cykli
<u>PCR</u> Denaturacja	15 s, 95°C
Annealing/ekstensja	30 s, 60°C
Szybkość zmiany temperatury/ szybkość narastania	Maksymalny

Uwaga: Annealing i ekstensja odbywają się na tym samym etapie.

9.2 Ustawienie kanału wykrywania

Tabela 9: Dobór odpowiednich kanałów wykrywania

Aparat do PCR w czasie rzeczywistym	Wykrywanie	Kanał wykrywania	Uwaga
R-Biopharm RIDA®UNITY	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK, kanał stx
	Kontrola wewnętrzna	HEX	SEEK, kanał ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK, kanał ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK, kanał eae
Bio-Rad CFX96™ Dx	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK, kanał stx
	Kontrola wewnętrzna	VIC	SEEK, kanał ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK, kanał ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK, kanał eae

10. Kontrola jakości - wskazanie niestabilności lub upływu terminu ważności odczynników

Próbki są oceniane przy użyciu oprogramowania analitycznego RIDA®SEEK systemu RIDA®UNITY. **Negative Control** i **Positive Control** muszą dać prawidłowe wyniki (patrz Tabela 9).

Odczynnik **Positive Control** jest dostępny w stężeniu 10^3 kopii/ μ L. Jest on używany w ilości łącznej 5×10^3 kopii w każdym cyklu PCR.

Negative Control zawiera już kontrolę wewnętrzną RIDA®UNITY. Ponieważ kontrole nie zawierają matrycy, nie należy oczekiwać żadnych sygnałów w kanałach docelowych. Niezbędne są dodatnie sygnały w kanale IC, za pomocą którego wykrywana jest kontrola wewnętrzna (patrz Tabela 10).

Tab. 10: Prawidłowy przebieg reakcji PCR musi spełniać następujące warunki:

Próbka	Wynik	IC Ct	Ct genu docelowego
Kontrola dodatnia	+	Nie dotyczy*	Patrz: Certificate of Analysis
Kontrola ujemna	-	Ct > 20	0

* W pewnych okolicznościach kanał IC może mieć sygnał dodatni w kontroli dodatniej i dlatego nie powinien być oceniany.

Jeżeli kontrola dodatnia nie mieści się w określonym zakresie Ct, ale kontrola ujemna jest ważna, należy ponownie przeanalizować w PCR wszystkie reakcje, w tym kontrole.

Jeśli kontrola ujemna nie jest ujemna, ale kontrola dodatnia jest ważna, wszystkie reakcje, w tym kontrole muszą zostać ponownie przeanalizowane za pomocą PCR.

Jeśli określone wartości nie zostaną osiągnięte, przed powtórzeniem testu należy sprawdzić następujące elementy:

- Termin ważności użytych odczynników;
- Funkcjonalność używanego sprzętu
- Prawidłowość procedury testu;

Jeśli po powtórzeniu testu warunki nadal nie są spełnione, należy skonsultować się z producentem lub lokalnym dystrybutorem firmy R-Biopharm.

11. Ocena i interpretacja

Oceny i interpretacji próbek dokonuje się przy użyciu oprogramowania analitycznego systemu RIDA®UNITY, RIDA®SEEK.

Nie istnieje obecnie międzynarodowo uznana metoda referencyjna ani materiał referencyjny do standaryzacji. Materiały kontrolne można metrologicznie powiązać z wewnętrznymi wzorcami firmy R-Biopharm AG w oparciu o określone amplikony DNA.

Aby uzyskać więcej informacji na temat identyfikowalności metrologicznej, należy skontaktować się z firmą R-Biopharm AG.

Podane wartości, zakresy i dalsze szczegółowe informacje można znaleźć w certyfikacie analizy (Certificate of Analysis, CoA).

Tab. 11: Interpretacja wyników*

Wykrywanie				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Wynik
+	-	-	+/-	Wykrywalny STEC (EHEC)
-	+	-	+/-	Wykrywalny EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
-	-	+	+/-	Wykrywalny EPEC
+	+	-	+/-	Wykrywalny STEC (EHEC) i EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
+	-	+	+/-	Wykrywalny EHEC
-	+	+	+/-	Wykrywalny EIEC/ <i>Shigella</i> spp. i EPEC
+	+	+	+/-	Wykrywalny EHEC i EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
-	-	-	+	Geny docelowe niewykrywalne
-	-	-	-	Nieważny

* + = dodatni

- = ujemny

W ustawie o ochronie przed infekcjami (IfSG) opisano EHEC jako *E. coli* wytwarzające toksynę Shiga (STEC), które są ludzkimi patogenami. Ponieważ nie można obecnie ustalić dokładnej definicji STEC patogenicznego dla człowieka, **każdy** STEC jest uważany za potencjalny EHEC⁽⁵⁾.

Próbka jest oceniana jako dodatnia, jeśli DNA w próbce i Internal Control wykazują sygnał amplifikacji w systemie wykrywania.

Próbka jest również dodatnia, jeśli próbka DNA wykazuje sygnał amplifikacji, ale nie widać sygnału wzmocnienia dla Internal Control w systemie wykrywania.

Wykrywanie Internal Control jest w tym przypadku konieczne, ponieważ wysokie

stężenia ampliconu mogą powodować słaby sygnał albo brak sygnału Internal Control.

Próbka jest oceniana jako ujemna, jeśli DNA w próbce nie wykazuje sygnału amplifikacji, ale w systemie wykrywania można znaleźć sygnał amplifikacji dla Internal Control. Inhibicję reakcji PCR i wcześniejszej ekstrakcji można wykluczyć na podstawie wykrycia Internal Control.

Próbka jest nieważna, jeśli DNA w próbce i Internal Control nie wykazują sygnału amplifikacji w systemie wykrywania. W próbce występują inhibitory albo wystąpił błąd podczas procesu ekstrakcji.

12. Ograniczenia metody

1. Test RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC wykrywa DNA dla czynników wirulencji EHEC, STEC, EPEC i EIEC/ *Shigella* spp. w nieprzygotowanych próbkach kału i posiewu pochodzących od ludzi. Na tej podstawie nie można wyciągać wniosków na temat związku pomiędzy poziomem wyznaczonej wartości Ct a występowaniem ciężkich objawów klinicznych. Uzyskane wyniki należy zawsze interpretować z uwzględnieniem pełnego obrazu klinicznego.
2. Rozpoznanie nie powinno opierać się wyłącznie na wyniku analizy metodami biologii molekularnej, ale zawsze powinna uwzględniać historię choroby pacjenta i objawy.
3. Ten test jest zatwierdzony tylko do automatycznego przetwarzania przy użyciu systemu RIDA[®]UNITY.
4. Ten test został zweryfikowany tylko dla próbek kału i posiewu.
5. W przypadku korzystania z matrycy hodowlanej nie należy przenosić podłoża agarowego do reakcji PCR, ponieważ może to prowadzić do potencjalnych zakłóceń.
6. Nieprawidłowe pobieranie, transport i przechowywanie próbek oraz postępowanie z próbkami lub miano patogenu poniżej czułości analitycznej testu może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych.
7. Obecność inhibitorów PCR może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych lub nieważnych.
8. Podobnie jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych *in vitro* opartych na PCR, możliwe jest wykrycie skrajnie niskich stężeń sekwencji docelowych, mieszczących się poniżej granicy wykrywalności (LoD 95%). Uzyskane wyniki nie zawsze są powtarzalne.
9. Mutacje lub polimorfizmy w regionie startera lub miejscu wiązania sondy mogą zakłócać wykrywanie nowych lub nieznanych wariantów oraz doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych przy użyciu testu RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC.
10. Dodatni wynik testu nie musi wskazywać na obecność żywych drobnoustrojów. Wynik dodatni wskazuje, że obecne są geny docelowe (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae*; oraz EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*).
11. Test ten należy wykonać zgodnie z rozporządzeniem w sprawie dobrej praktyki laboratoryjnej (GLP). Podczas wykonywania testu użytkownicy muszą dokładnie przestrzegać instrukcji producenta.

13. Charakterystyka działania

13.1 Charakterystyka działania klinicznego

RIDA® UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR test został porównany w zewnętrznym laboratorium z testem referencyjnym posiadającym oznaczenie CE i opartym na 276 próbkach kału od pacjentów z objawami zakażenia przewodu pokarmowego.

Wyniki wykazują bardzo wysoką czułość i swoistość w wykrywaniu czynników wirulencji EHEC, STEC, EPEC oraz EIEC/*Shigella* spp. w przypadku użycia zestawu RIDA®UNITY EHEC/EPEC.

Tabela 12: Wykrywanie *stx1/2* - próbki kału

		Referencyjna PCR		Razem
		Wynik dodatni	Wynik ujemny	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Wynik dodatni	122	0	122
	Wynik ujemny	5	149	154
	Razem	127	149	276

Czułość względna (95% CI)	96,1% (91,1%–98,7%)
Swoistość względna (95% CI)	100% (97,6%–100%)

Tabela 13: Wykrywanie *ipaH* - próbki kału

		Referencyjna PCR		Razem
		Wynik dodatni	Wynik ujemny	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Wynik dodatni	65	0	65
	Wynik ujemny	0	211	211
	Razem	65	211	276

Czułość względna (95% CI)	100% (94,5%–100%)
Swoistość względna (95% CI)	100% (98,3%–100%)

Tabela 14: Wykrywanie *eae* - próbki kału

		Referencyjna PCR		Razem
		Wynik dodatni	Wynik ujemny	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>eae</i>	Wynik dodatni	179	0	179
	Wynik ujemny	4	93	97
	Razem	183	93	276

Czułość względna (95% CI)	97,8% (94,5%–100%)
Swoistość względna (95% CI)	100% (96,1%–100%)

13.2 Charakterystyka działania analitycznego

13.2.1 Granica wykrywalności (LoD 95%)

Dodatnią próbkę kontrolną (ujemne próbki kału, z dodatkiem patogenu lub z użyciem próbki posiewu) mierzono w pięciu etapach rozcieńczania (w krokach co 0,25 log) dla każdego celu z 20 powtórzeniami na etap w jednej partii w celu określenia LoD. Następnie przeprowadzono analizę probitową. Dalej obliczone LoD potwierdzono z 20 powtórzeniami na cel dla obliczonego kroku rozcieńczenia/stężenia.

Do testów użyto następujących szczepów:

- *stx1/stx2*: *Escherichia coli* D3509 (LoD dla *stx2* ustalono, ponieważ gen *stx2* jest związany z zespołem hemolityczno-mocznicowym.)
- *ipaH*: *Escherichia coli* Fr1368
- *eae*: *Escherichia coli* DSM8695

Dla wykrywania DNA EHEC, STEC, EPEC oraz EIEC/*Shigella* spp. z użyciem testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC w systemie UNITY ustalono następujące granice wykrywalności (LoD).

Wyniki tych pomiarów przedstawiono w Tabeli 15.

Tabela 15: Wyniki granicy wykrywalności testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC dla celów *stx1/2*, *ipaH*, oraz *eae*.

	Matryca	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Kał	476 000 CFU/mL	5300 CFU/mL	125 000 CFU/mL
	Posiew	2130 CFU/mL	798 CFU/mL	2890 CFU/mL

* CFU: Colony Forming Units

LoD dla parametru *stx1/2* w próbkach kału ustalono na 476 000 CFU/mL.

LoD dla parametru *ipaH* w próbkach kału ustalono na poziomie 5300 CFU/ml.

LoD dla parametru *eae* w próbkach kału ustalono na poziomie 125 000 CFU/ml.

LoD dla *stx1/2* w próbkach posiewu ustalono na 2130 CFU/mL.

LoD dla parametru *ipaH* w próbkach posiewu ustalono na poziomie 798 CFU/ml.

LoD dla parametru *eae* w próbkach posiewu ustalono na poziomie 2890 CFU/ml.

W przypadku ulepszonego przepływu pracy przy użyciu aparatu CFX96™ Dx te wartości LoD zostały potwierdzone przy założeniu, że pozostaje się w 2-3-krotnym zakresie LoD.

13.2.2 Swoistość analityczna

Substancje zakłócające

Obecność inhibitorów PCR i substancji zakłócających może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych lub nieważnych. Dlatego zbadano wpływ różnych potencjalnie występujących substancji, biorąc pod uwagę ich powszechne stosowanie w leczeniu zakażeń przewodu pokarmowego lub powszechne występowanie w odpowiednich próbkach.

Substancje, które mogą potencjalnie znacząco wpłynąć na wyniki testu, badano początkowo w wysokich stężeniach (potrójna dawka dobową lub symulacja najgorszego przypadku) w badaniu przesiewowym w kierunku zakłóceń.

Nie stwierdzono zakłóceń dla substancji wymienionych w Tabeli 16.

Tabela 16: Substancje potencjalnie zakłócające

Substancja potencjalnie zakłócająca	Stężenie
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg tabletki powlekane (azytromycyna)	0,75% [w/v]
Siarczan baru	18,5% [v/v]
Słodzik w płynie Cologran® (sacharyna + cyklaminian)	1,3% [w/v]
Krew ludzka	5% [v/v]
Tabletki z węglem drzewnym 250 mg (węgiel drzewny)	6% [w/v]
Loperamide-ratiopharm® akut (loperamid)	0,02% [v/v]
Mucyny	5% [w/v]
Kwas stearynowy/palmitynowy	40% [w/v]

Reakcje krzyżowe

Zbadano różne organizmy (bakterie, pasożyty, grzyby i wirusy), które powszechnie występują w matrycy kału. Drobnoustroje do zbadania w tym teście zostały wybrane, ponieważ albo naturalnie występują w one próbkach kału albo powodują odpowiednie objawy jako patogeny przewodu pokarmowego. Do analiz zastosowano hodowle bakteryjne (od 10^6 do 10^9 CFU/mL), kultury grzybów lub wirusów, supernatanty z kultur wirusowych, izolaty i wzorce LGC odpowiedniego organizmu.

Test RIDA® UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR jest specyficzny dla EHEC, STEC, EPEC i EIEC/*Shigella* spp. Nie wykryto reakcji krzyżowych z następującymi gatunkami (patrz Tab. 17):

Tabela 17: Drobnoustroje potencjalnie reagujące krzyżowo.

Drobnoustrój	Wynik testu*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenovirus 40	-	-	-
Adenovirus 41, ludzki, szczep Tak	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
Astrovirus 2	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	-	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	-	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	-
<i>Clostridium bifementans</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> (serotyp Enteritidis)	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serotyp Typhimurium)	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-

* - = ujemny

** *Giardia intestinalis* i *Giardia lamblia* to ten sam drobnoustrój.

13.2.3 Precyzja

Precyzja testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR została określona dla następujących poziomów.

Precyzja w obrębie oznaczenia: Oznaczenie 5 próbek kontrolnych przy użyciu 20 powtórzeń każdej z nich w systemie RIDA®UNITY w identycznych warunkach.

Precyzja pomiędzy oznaczeniami: Oznaczenie 5 próbek kontrolnych w 20 analizach w dwóch powtórzeniach w ciągu 10 dni roboczych (2 analizy dziennie) przez różnych techników w odtwarzalnych warunkach.

Testowanie precyzji w obrębie oznaczenia i pomiędzy oznaczeniami przeprowadzono przy użyciu trzech różnych partii.

Współczynniki zmienności uzyskane dla każdego pomiaru przy użyciu testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR w systemie RIDA®UNITY i CFX96™ Dx wynosiły 4,29%.

Tabela 18: Wyniki precyzji testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC dla parametru *stx1/2* z próbek kału (system RIDA®UNITY).

Ct	Wartość średnia/CV	W obrębie oznaczenia			Pomiędzy oznaczeniami			Pomiędzy partiami
		Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partie zestawów 1-3
1	Ct	27,8	27,7	27,4	27,8	27,7	27,6	27,7
	CV (%)	1,02%	1,19%	1,11%	3,25%	3,19%	3,18%	3,21%
2	Ct	29,6	29,5	29,2	30,0	29,8	29,8	29,8
	CV (%)	1,07%	0,87%	0,85%	2,93%	2,66%	2,53%	2,71%
3	Ct	29,2	29,0	28,9	30,2	30,0	30,1	30,1
	CV (%)	1,72%	1,35%	1,46%	3,29%	2,85%	3,15%	3,10%
4	Ct	-	-	-	32,0	31,7	31,6	31,8
	CV (%)	Nd.	Nd.	Nd.	2,15%	2,23%	2,26%	2,28%
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	CV (%)	2,34%	2,05%	2,13	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.

Tabela 19: Wyniki precyzji testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC dla parametru *stx1/2* z próbek kału (CFX96™ Dx).

Ct	Wartość średnia/CV	W obrębie oznaczenia			Pomiędzy oznaczeniami			Pomiędzy partiami
		Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partie zestawów 1-3
1	Ct	27,2	27,1	26,9	26,1	26,0	26,0	26,0
	CV (%)	0,82%	1,04%	0,76%	3,12%	2,61%	2,64%	2,80%
2	Ct	27,6	27,2	27,1	28,1	27,5	27,5	27,7
	CV (%)	1,91%	0,95%	0,71%	4,03%	3,02%	2,86%	3,50%
3	Ct	27,7	27,2	27,2	28,1	27,7	27,6	27,8
	CV (%)	2,34%	0,74%	0,95%	4,29%	3,11%	2,91%	3,54%
4	Ct	-	-	-	29,2	28,7	28,6	28,9
	CV (%)	Nd.	Nd.	Nd.	2,96%	2,90%	2,76%	3,04%
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	CV (%)	1,52%	1,59%	3,43%	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.

Tabela 20: Wyniki precyzji testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC dla parametru *ipaH* z próbek kału (system RIDA®UNITY).

Ct	Wartość średnia/CV	W obrębie oznaczenia			Pomiędzy oznaczeniami			Pomiędzy partiami
		Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partie zestawów 1-3
1	Ct	25,0	24,8	24,6	25,3	25,1	25,1	25,2
	CV (%)	1,02%	1,11%	1,09%	1,84%	1,73%	1,83	1,80%
2	Ct	26,2	26,1	26,0	26,3	26,1	26,2	26,2
	CV (%)	0,81%	0,89%	0,90%	1,49%	1,39%	1,37%	1,40%
3	Ct	25,5	25,3	25,4	26,2	26,1	26,1	26,1
	CV (%)	0,96%	0,99%	0,87%	1,72%	1,57%	1,53%	1,61%
4	Ct	-	-	-	27,1	27,0	27,0	27,0
	CV (%)	Nd.	Nd.	Nd.	1,44%	1,34%	1,45%	1,42%
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	CV (%)	0,88%	0,77%	0,69%	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.

Tabela 21: Wyniki precyzji testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC dla parametru *ipaH* z próbek kału (CFX96™ Dx).

Ct	Wartość średnia/CV	W obrębie oznaczenia			Pomiędzy oznaczeniami			Pomiędzy partiami
		Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partie zestawów 1-3
1	Ct	25,1	25,0	24,8	24,4	24,4	24,4	24,4
	CV (%)	1,15%	1,25%	1,06%	1,49%	1,79%	1,70%	1,67%
2	Ct	25,2	25,2	25,2	25,4	25,3	25,4	25,4
	CV (%)	0,85%	1,03%	1,01%	1,11%	1,21%	1,21%	1,17%
3	Ct	25,2	25,0	25,0	25,4	25,4	25,3	25,4
	CV (%)	1,04%	1,09%	1,14%	1,29%	1,46%	1,53%	1,43%
4	Ct	-	-	-	26,2	26,1	26,1	26,2
	CV (%)	Nd.	Nd.	Nd.	1,27%	1,45%	1,36%	1,36%
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	CV (%)	0,89%	0,53%	0,70%	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.

Tabela 22: Wyniki precyzji testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC dla parametru eae z próbek kału (system RIDA®UNITY).

Ct	Wartość średnia/CV	W obrębie oznaczenia			Pomiędzy oznaczeniami			Pomiędzy partiami
		Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partie zestawów 1-3
1	Ct	26,2	26,3	26,0	26,4	26,5	26,5	26,5
	CV (%)	0,93%	0,86%	0,85%	1,92%	1,95%	2,03%	1,97%
2	Ct	27,7	27,9	27,7	27,9	28,0	28,0	27,9
	CV (%)	0,86%	0,92%	0,77%	1,85%	1,76%	1,75%	1,78%
3	Ct	27,0	27,0	27,2	27,8	27,9	27,9	27,9
	CV (%)	1,05%	0,86%	0,99%	2,03%	1,84%	1,80%	1,89%
4	Ct	-	-	-	28,9	29,1	29,1	29,0
	CV (%)	Nd.	Nd.	Nd.	1,81%	1,78%	1,81%	1,80%
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	CV (%)	1,24%	0,78%	1,18%	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.

Tabela 23: Wyniki precyzji testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC dla parametru eae z próbek kału (CFX96™ Dx).

Ct	Wartość średnia/CV	W obrębie oznaczenia			Pomiędzy oznaczeniami			Pomiędzy partiami
		Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partia zestawu 1	Partia zestawu 2	Partia zestawu 3	Partie zestawów 1-3
1	Ct	26,5	26,6	26,5	26,3	26,4	26,4	26,4
	CV (%)	0,54%	0,69%	0,58%	1,76%	1,86%	1,88%	1,84%
2	Ct	27,3	27,5	27,5	27,6	27,7	27,8	27,7
	CV (%)	0,68%	0,68%	0,65%	1,49%	1,70%	1,51%	1,59%
3	Ct	27,3	27,4	27,4	27,6	27,8	27,8	27,7
	CV (%)	0,88%	0,74%	0,79%	1,66%	1,78%	1,85%	1,77%
4	Ct	-	-	-	28,5	28,7	28,6	28,6
	CV (%)	Nd.	Nd.	Nd.	1,32%	1,58%	1,48%	1,47%
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	CV (%)	0,73%	0,55%	0,68%	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.

13.2.4 Reaktywność analityczna

Reaktywność testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR została przetestowana na określonym panelu szczepów *E. coli* i *Shigella* (patrz Tab. 24).

Tabela 24: Testy reaktywności analitycznej

Szczep	Wynik*		
	<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>	-	+	-

* + = dodatni (co najmniej 2 z 3 powtórzeń dodatnie)










- = ujemny

14. Historia zmian

Numer wersji	Rozdział i oznaczenie
2022-06-14	Wydanie pierwsze

15. Objasnienia symboli

Symbole ogólne

	Do stosowania w diagnostyce <i>in vitro</i>
	Przestrzegać instrukcji użycia
	Numer partii
	Termin ważności
	Temperatura przechowywania
	Nr kat.
	Liczba testów
	Data produkcji
	Producent

Indywidualne symbole testów

	Mieszanka reakcyjna
	Mieszanka enzymów
	Kontrola ujemna
	Kontrola dodatnia

16. Piśmiennictwo

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).