

RIDA® UNITY EHEC/EPEC

REF UN2205



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

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



1. Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*. Test RIDA®UNITY EHEC/EPEC, ktorý sa vykonáva na platforme RIDA®UNITY, je multiplexný test PCR v reálnom čase na priamu kvalitatívnu detekciu DNA faktorov virulencie druhov EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. z neliečených vzoriek ľudskej stolice a vzoriek kultúr od osôb s príznakmi a symptómami akútnej gastroenteritídy.

Test RIDA®UNITY EHEC/EPEC je určený na podporu diferenciálnej diagnostiky infekcií druhmi *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC a EIEC/*Shigella* spp.) u pacientov so symptómami gastroenteritídy v spojení s ďalšími klinickými a laboratórnymi nálezmi. Negatívne výsledky nevylučujú infekciu druhmi *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC alebo EIEC/*Shigella* spp.) a nemajú sa používať ako jediný základ diagnostiky.

Produkt je určený na profesionálne použitie.

2. Zhrnutie a vysvetlenie testu

Hnačkové ochorenia sú významným zdravotným problémom, ktorý spôsobuje približne 1,7 miliardy prípadov ročne u detí na celom svete.⁽¹⁾ Podľa Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) predstavujú tieto ochorenia druhú najčastejšiu príčinu úmrtí u detí mladších ako 5 rokov s približne 525 000 úmrtiami ročne, najmä v rozvojových krajinách.⁽¹⁾ Jedným z najbežnejších bakteriálnych patogénov hnačkovitých ochorení je *Escherichia coli*.⁽²⁾

E. coli je gramnegatívna, laktózu fermentujúca, pohyblivá baktéria, ktorá patrí do čeľade *Enterobacteriaceae*. Nachádza sa bežne v gastrointestinálnom trakte, ale môže spôsobovať aj hnačkové ochorenia s vysokou chorobnosťou a úmrtnosťou u detí, najmä v rozvojových krajinách. Na základe charakteristík virulencie, epidemiológie a klinických prejavov baktérií boli identifikované tieto triedy hnačkovitých *E. coli*: enteropatogénna *E. coli* (EPEC), enterotoxická *E. coli* (ETEC), enterohemoragická *E. coli* (EHEC), enteroinvazívna *E. coli* (EIEC) a enteroagregatívna *E. coli* (EAEC). Všetky tieto hnačkovité patogény *E. coli* sa môžu prenášať fekálno-orálnou cestou.⁽³⁾

Medzi črevnými patogénnymi *E. coli* získali osobitný význam enterohemoragické *E. coli* (EHEC). Sú podskupinou druhov *E. coli* produkujúcich toxín shiga a verotoxín (resp. STEC a VTEC). Patogenitu druhu STEC možno vysledovať k ich schopnosti kolonizovať črevo priľnutím k bunkám črevného epitelu. Po kolonizácii sú baktérie schopné produkovať dva cytotoxíny, verotoxín 1 a 2. Vzhľadom na podobnosť verotoxínov s toxínom shiga druhu *Shigella dysenteriae* sa VTEC nazýva aj STEC. Ďalšími dôležitými diagnostickými faktormi patogenity druhu EHEC nie sú len gény *stx1/stx2* (gény pre toxín shiga), ale aj gén *eae* (gén pre pripojenie a vypudenie *E. coli*), ktorý kóduje membránový proteín intimín. Tento membránový proteín je zodpovedný za priľnutie patogénu k črevným epitelovým bunkám.⁽⁴⁾ Klinické symptómy, ktoré môže druh EHEC/STEC u ľudí spôsobiť, sa pohybujú v rozsahu od krvavej hnačky až po hemolyticko-uremický syndróm (HUS).^(2, 5) Zdrojom infekcie sú predovšetkým kontaminované potraviny, pričom na vyvolanie infekcie druhom

EHEC/STEC stačí menej ako 1 000 baktérií. Doteraz najhoršia epidémia súvisiaca s potravinami spôsobená druhom STEC v Nemecku sa vyskytla v roku 2011. Táto epidémia viedla k 3 816 identifikovaným infekciám spôsobeným druhom STEC a 54 úmrtiam, z ktorých 32 bolo spojených so syndrómom HUS.⁽⁵⁾

Enteropatogénne *E. coli* (EPEC) sú známe najmä v rozvojových krajinách ako príčina detských hnačkových ochorení.⁽³⁾ Druh EPEC je možné odlišiť od druhu EHEC prostredníctvom chýbajúcich toxínov shiga.⁽³⁾ Najbežnejšími symptómami spojenými s infekciou druhom EPEC sú vodnatá hnačka, bolesti brucha, nevoľnosť, vracanie a horúčka, pričom infekčná dávka u zdravých dospelých je približne 10^8 organizmov.⁽⁵⁾

Enteroinvazívne druhy *E. coli* (EIEC) a *Shigella* tak isto spôsobujú hnačkové ochorenia na celom svete, najmä v rozvojových krajinách. V oboch prípadoch ide o gramnegatívne baktérie, ktoré sú si biochemicky a geneticky blízke.⁽⁶⁾ Patogenita druhu EIEC a druhov rodu *Shigella* spp. je založená na plazmidom sprostredkovanej invázii črevných epiteliálnych buniek a ich deštrukcii. Za tento proces sú zodpovedné produkty génu pre antigén H invázneho plazmidu (*ipaH*). Tento gén je dôležitý pre detekciu druhov EIEC/*Shigella* spp., čo umožňuje odlišiť tento patotyp od druhu EHEC. Prepuknutia infekcií druhom EIEC/*Shigella* spp. sú pravdepodobne spôsobené najmä potravinami a prejavujú sa hnačkou, bolesťami brucha, nevoľnosťou a horúčkou.⁽⁶⁾

3. Princíp testu

Test RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC je multiplexné PCR testovanie v reálnom čase na priamu kvalitatívnu detekciu a diferenciáciu génov pre faktory virulencie druhov EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. vo vzorkách ľudskej stolice alebo kultúr. Spracovanie je plne automatizované v systéme RIDA[®]UNITY. Najprv dochádza k extrakcii nukleových kyselín pomocou súpravy RIDA[®]UNITY Universal Extraction Kit a súpravy Internal Control Kit.

Cieľová sekvencia sa vždy deteguje v jednokrokovom formáte RT-PCR v reálnom čase (aj pri analýzach DNA), čo znamená, že reverzná transkripcia (RT) a následné PCR prebiehajú v jednej reakčnej liekovke. V tomto procese sa izolovaná RNA (ak je prítomná) prepisuje pomocou reverznej transkriptázy do cDNA. Špecifické fragmenty génov faktorov virulencie *stx1/stx2*, *eae* a *ipaH* sa potom amplifikujú pomocou testovania PCR v reálnom čase.

Amplifikované cieľové sekvencie sa detegujú pomocou hydrolyzačných sond, ktoré sú označené zhášadlom na jednom konci a fluorescenčným reportérovým farbivom (fluorofórom) na druhom konci. Sondy hybridizujú s amplikómom v prítomnosti cieľovej sekvencie. Počas predlžovania oddeľuje Taq polymeráza reportér od zhášadla. Reportér vysiela fluorescenčný signál, ktorý je detegovaný optickou jednotkou prístroja PCR v reálnom čase. Fluorescenčný signál narastá s množstvom vytvorených amplikónov. Súpravu RIDA[®]UNITY Internal Control Kit je potrebné použiť v rovnakom čase, aby bolo možné kontrolovať prípravu vzorky a/alebo potenciálnu inhibíciu PCR.

4. Dodané činidlá

Činidlá v súprave postačujú na 96 stanovení.*

Tab. 1: Dodané činidlá

REF	Činidlo	Množstvo		Farba veka
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1 935 µL	žltá, pripravené na použitie
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	červená, pripravené na použitie
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 µL	modrá, pripravené na použitie
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 µL	biela, pripravené na použitie

* Pri opakovanom používaní a v menších sériách môže byť počet reakcií nižší.

5. Pokyny na skladovanie

- Postupujte podľa pokynov na manipuláciu v tabuľke 2 a súpravu uskladnite priamo po použití podľa uvedených informácií.
- Všetky činidlá sa musia uchovávať mimo dosahu svetla pri teplote -16 °C až -28 °C a ak nie sú otvorené, môžu sa používať do dátumu expirácie vytlačeného na štítku. Záruka kvality prestáva platiť po uplynutí dátumu expirácie.
- Všetky činidlá sa musia pred použitím opatrne rozmraziť (napr. v chladničke pri teplote 2 - 8 °C).
- Opakované zmrazovanie a rozmrazovanie až 8-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Tab. 2: Podmienky skladovania a informácie

	Teplota skladovania	Maximálna doba skladovania
neotvorené	-16 °C až -28 °C	Možno použiť do vytlačeného dátumu expirácie
otvorené	-16 °C až -28 °C	8 cyklov zmrazenia a rozmrazenia

6. Činidlá, ktoré sa vyžadujú, ale nie sú súčasťou dodávky

Multiplex real-time RT-PCR test RIDA®UNITY EHEC/EPEC je určený výlučne na použitie so systémom RIDA®UNITY. Na správne používanie sú bezpodmienečne potrebné nasledujúce produkty:

6.1 Činidlá

Na vykonanie testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC sú potrebné nasledujúce činidlá:

Činidlá	Číslo položky
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Laboratórne vybavenie

Na vykonanie testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC je potrebné nasledujúce vybavenie:

Vybavenie
Systém RIDA®UNITY, číslo položky: ZUNITY (R-Biopharm AG)
Spotrebný materiál RIDA®UNITY (špičky, doštičky, reakčné liekovky, filmy). Informácie o objednávaní spotrebného materiálu nájdete v návode na použitie systému RIDA®UNITY.
Vortex
Stolná centrifúga
Jednorazové rukavice bez prášku
Externý cyklér (možné vylepšenie systému)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

Súpravu RIDA®UNITY EHEC/EPEC možno používať v kombinácii s ďalšími kompatibilnými cyklérmi. Alternatívne prístroje na PCR v reálnom čase musí overiť/potvrdiť používateľ. Na overenie kompatibility kontaktujte spoločnosť R-Biopharm AG na e-mailovej adrese pcr@r-biopharm.de.

7. Varovania a bezpečnostné opatrenia pre používateľov

Na diagnostické použitie *in vitro*.

Tento test smie vykonávať iba kvalifikovaný laboratórny personál. Musia sa dodržiavať usmernenia pre prácu v zdravotníckych laboratóriách.

Pri vykonávaní tohto testu vždy prísne dodržiavajte návod na obsluhu.

Nepipetujte vzorky ani činidlá ústami. Zabráňte kontaktu s porušenou pokožkou a sliznicami.

Pri manipulácii s činidlami a vzorkami noste osobné ochranné prostriedky (vhodné rukavice, laboratórny plášť, ochranné okuliare) a po dokončení testu si umyte ruky.

V priestoroch, kde sa manipuluje so vzorkami, nefajčite, nejedzte ani nepite.

Zabráňte kontaminácii vzoriek a súčastí súpravy mikróbmami a nukleázami (DNáza/RNáza).

Klinické vzorky sa musia považovať za potenciálne infekčné a musia sa náležite zlikvidovať, rovnako ako všetky činidlá a materiály, ktoré prichádzajú do kontaktu s potenciálne infekčnými vzorkami.

Nevymieňajte ani nezmiešavajte súčasti (Reaction Mix, Enzyme Mix,

Positive Control, Negative Control) jednej šarže súpravy so súčastami inej šarže.

Testovaciu súpravu je možné používať 8 týždňov po prvom otvorení (súpravu možno opätovne použiť až 6-krát). Nepoužívajte testovaciu súpravu po dátume expirácie.

Špecifikácie kontroluje aj systém RIDA®UNITY.

Používatelia sú zodpovední za správnu likvidáciu všetkých činidiel a materiálov po použití. Pri likvidácii dodržiavajte národné predpisy.

Ďalšie podrobnosti o karte bezpečnostných údajov (Safety Data Sheet, SDS) nájdete pod číslom položky na stránke <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Pre používateľov v Európskej únii: Všetky závažné nežiaduce udalosti spojené s produktom nahláste spoločnosti R-Biopharm AG a príslušným národným úradom.

Súhrn bezpečnosti a výkonu (SSP) pre tento produkt bude k dispozícii na webovej stránke <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> po spustení Európskej databázy zdravotníckych pomôcok (EUDAMED). V databáze vyhľadajte pomôcku pomocou identifikátora UDI-DI umiestneného na jej vonkajšom obale.

8. Odber a skladovanie vzoriek

Na dosiahnutie najlepšieho možného výkonu testu RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC sa odporúča používať čerstvé vzorky materiálu.

Vyhňte sa opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu vzorky.

Vzorky stolice neodoberajte do prepravných nádob, ktoré obsahujú transportné médiá s konzervačnými prostriedkami, zvieracie séra, kovové ióny, oxidačné činidlá alebo detergenty, pretože takéto látky môžu interferovať s testami RIDA[®]UNITY.

Na zabránenie opakovaného rozmrazovania a zmrazovania sa odporúča pripraviť alikvótne časti vzoriek. Zmrazené vzorky sa majú rozmraziť bezprostredne pred extrakciou, čím sa zabráni degradácii nukleových kyselín.

Postupujte podľa pokynov na skladovanie vzoriek v tabuľkách 3 až 6.

Tab. 3: Skladovanie vzoriek - detekcia druhu EHEC

Natívne vzorky - stolica		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dní	≤ 7 dní	≤ 6 mesiacov

Natívne vzorky - kultúra		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 deň	≤ 1 deň	-

V eluáte (zo stolice alebo kultúry)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 hodín	≤ 36 hodín	≤ 7 dní

Pri teplote skladovania -20 °C / -80 °C opakované zmrazovanie/rozmrazovanie vzorky stolice až 5-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Pri teplote skladovania -20 °C opakované zmrazovanie/rozmrazovanie eluátu (zo stolice alebo kultúry) až 3-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Nevytvárajte kultúry z predtým zmrazenej stolice, pretože zmrazenie závažne ovplyvňuje rastové vlastnosti patogénov, čo môže potenciálne spôsobiť falošne negatívne výsledky.

Tab. 4: Skladovanie vzoriek - detekcia druhu STEC

Natívne vzorky - stolica		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dní	≤ 7 dní	≤ 6 mesiacov

Natívne vzorky - kultúra		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 deň	≤ 1 deň	-

V eluáte (zo stolice alebo kultúry)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 hodín	≤ 36 hodín	≤ 7 dní

Pri teplote skladovania -20 °C / -80 °C opakované zmrazovanie/rozmrazovanie vzorky stolice až 5-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Pri teplote skladovania -20 °C opakované zmrazovanie/rozmrazovanie eluátu (zo stolice alebo kultúry) až 3-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Nevytvárajte kultúry z predtým zmrazenej stolice, pretože zmrazenie závažne ovplyvňuje rastové vlastnosti patogénov, čo môže potenciálne spôsobiť falošne negatívne výsledky.

Tab. 5: Skladovanie vzoriek - detekcia druhu EPEC

Natívne vzorky - stolica		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dní	≤ 7 dní	≤ 6 mesiacov

Natívne vzorky - kultúra		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 deň	≤ 1 deň	-

V eluáte (zo stolice alebo kultúry)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 hodín	≤ 36 hodín	≤ 7 dní

Pri teplote skladovania -20 °C / -80 °C opakované zmrazovanie/rozmrazovanie vzorky stolice až 5-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Pri teplote skladovania -20 °C opakované zmrazovanie/rozmrazovanie eluátu (zo stolice alebo kultúry) až 3-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Nevytvárajte kultúry z predtým zmrazenej stolice, pretože zmrazenie závažne ovplyvňuje rastové vlastnosti patogénov, čo môže potenciálne spôsobiť falošne negatívne výsledky.

Tab. 6: Skladovanie vzorky - detekcia druhov EIEC/*Shigella* spp.

Natívne vzorky - stolica		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 deň	≤ 7 dní	≤ 6 mesiacov

Natívne vzorky - kultúra		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 1 deň	-

V eluáte (zo stolice alebo kultúry)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 hodín	≤ 36 hodín	≤ 7 dní

Pri teplote skladovania -20 °C / -80 °C opakované zmrazovanie/rozmrazovanie vzorky stolice až 5-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Pri teplote skladovania -20 °C opakované zmrazovanie/rozmrazovanie eluátu (zo stolice alebo kultúry) až 3-krát nemá vplyv na vlastnosti testu.

Nevytvárajte kultúry z predtým zmrazenej stolice, pretože zmrazenie závažne ovplyvňuje rastové vlastnosti patogénov, čo môže potenciálne spôsobiť falošne negatívne výsledky.

8.1 Príprava DNA zo vzoriek stolice a kultúry

Na izoláciu DNA zo vzoriek stolice a kultúry použite súpravu RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Postupujte podľa správnych postupov uvedených v návode na použitie súpravy RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (časť: Príprava nukleových kyselín zo vzoriek stolice, časť: Príprava nukleových kyselín zo vzoriek kultúry).

9. Postup testovania

Na začiatku používania umiestnite vzorky aj činidlá súpravy RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC do systému RIDA[®]UNITY.

Pred použitím dostatočne premiešajte činidlá **Reaction Mix**, **Negative Control** a **Positive Control** na vortexe. Enzymovú zmes **Enzyme Mix** nepremiešavajte na vortexe. Potom všetky súčasti krátko centrifugujte.

Skúmavky na PCR so skúmanými vzorkami sa musia vopred umiestniť do integrovaného PCR cykléra.

Na správne vloženie činidiel a spotrebného materiálu do systému sú k dispozícii nosiče. Počas vkladania postupujte podľa pokynov systému RIDA[®]UNITY.

Dodržiavajte príslušné časti príručky k systému RIDA[®]UNITY (časť: Vykonanie cyklu).

Test RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC možno používať iba v kombinácii so súpravou RIDA[®]UNITY Internal Control Kit. To umožňuje včasné rozpoznanie potenciálnej inhibície PCR, overenie integrity činidla a potvrdenie úspešnej extrakcie nukleových kyselín. Postup je opísaný v návode na použitie súpravy RIDA[®]UNITY Internal Control Kit (časť: Postup testovania).

Automatizované spracovanie je opísané v príručke k systému RIDA[®]UNITY (časť: Vykonanie cyklu).

9.1 Nastavenia zariadenia

9.1.1 Univerzálny profil PCR v reálnom čase

S cieľom zjednotiť testy RIDA®UNITY bol test RIDA®UNITY EHEC/EPEC overený výlučne v univerzálnom profile. To umožňuje navzájom kombinovať testy DNA a RNA. Vo všeobecnosti je preto reverzná transkripcia v univerzálnom profile na prvom mieste.

Tab. 7: Univerzálny profil PCR v reálnom čase pre systém RIDA®UNITY

<u>Reverzná transkripcia</u>	10 min, 58 °C
Úvodná denaturácia	1 min, 95 °C
Cykly	45 cyklov
<u>PCR</u> Denaturácia	10 s, 95 °C
Žíhanie/predlžovanie	15 s, 60 °C
Rýchlosť prechodu teploty/ rýchlosť teplotného nábehu	Maximálna

Poznámka: Žíhanie a predlžovanie prebieha v rovnakom kroku.

Tab. 8: Univerzálny profil PCR v reálnom čase pre systém CFX96™ Dx

<u>Reverzná transkripcia</u>	10 min, 58 °C
Úvodná denaturácia	1 min, 95 °C
Cykly	45 cyklov
<u>PCR</u> Denaturácia	15 s, 95 °C
Žíhanie/predlžovanie	30 s, 60 °C
Rýchlosť prechodu teploty/ rýchlosť teplotného nábehu	Maximálna

Poznámka: Žíhanie a predlžovanie prebieha v rovnakom kroku.

9.2 Nastavenie detekčného kanála

Tab. 9: Výber vhodných detekčných kanálov

Prístroj PCR v reálnom čase	Detekcia	Detekčný kanál	Poznámka
R-Biopharm RIDA®UNITY	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanál stx
	Vnútoraná kontrola	HEX	SEEK kanál ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanál ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanál eae
Bio-Rad CFX96™ Dx	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanál stx
	Vnútoraná kontrola	VIC	SEEK kanál ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanál ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanál eae

10. Kontrola kvality - Indikácie nestability alebo exspirácie činidiel

Vzorky sa vyhodnocujú pomocou analytického softvéru RIDA®SEEK systému RIDA®UNITY. Kontroly **Negative Control** a **Positive Control** musia vykazovať správne výsledky (pozrite si tabuľku 9).

Kontrola **Positive Control** je k dispozícii v koncentrácii 10^3 kópií/ μ L. Používa sa v celkovom množstve 5×10^3 kópií v každom spracovaní PCR.

Negatívna kontrola **Negative Control** už obsahuje vnútornú kontrolu RIDA®UNITY Internal Control. Keďže kontroly neobsahujú šablónu, v cieľových kanáloch sa neočakávajú žiadne signály. Pozitívne signály v kanáli IC, v ktorom je detegovaná vnútorná kontrola, sú kľúčové (pozrite si tabuľku 10).

Tabuľka 10: Platné spracovanie PCR musí spĺňať nasledujúce podmienky:

Vzorka	Výsledok	IC Ct	Cieľový gén Ct
Pozitívna kontrola	+	Nedostupné*	Pozrite si Certificate of Analysis
Negatívna kontrola	-	Ct > 20	0

* Za určitých okolností môže mať kanál IC pozitívny signál v pozitívnej kontrole a preto sa nesmie vyhodnocovať.

Ak pozitívna kontrola nie je v rámci špecifikovaného rozsahu Ct, ale negatívna kontrola je platná, je potrebné znova analyzovať v PCR všetky reakcie vrátane kontrol.

Ak negatívna kontrola nie je negatívna, ale pozitívna kontrola je platná, je potrebné znova analyzovať v PCR všetky reakcie vrátane kontrol.

Ak nie sú splnené špecifikované hodnoty, pred opakovaním testu skontrolujte nasledujúce položky:

- Dátum exspirácie použitých činidiel
- Funkčnosť používaného vybavenia
- Správny postup testovania

Ak podmienky nie sú splnené ani po opakovaní testu, obráťte sa na výrobcu alebo miestneho distribútora spoločnosti R-Biopharm.

11. Hodnotenie a interpretácia

Hodnotenie a interpretácia vzoriek sa vykonávajú pomocou analytického softvéru systému RIDA®UNITY - RIDA®SEEK.

V súčasnosti neexistuje medzinárodne uznávaná referenčná metóda alebo referenčný materiál na štandardizáciu. Kontrolný materiál možno metrologicky vysledovať k interným štandardom spoločnosti R-Biopharm AG na základe špecifických amplikónov DNA.

Ak potrebujete ďalšie informácie o metrologickej sledovateľnosti, obráťte sa na spoločnosť R-Biopharm AG.

Špecifikované hodnoty, rozsahy a ďalšie podrobnosti nájdete v certifikáte analýzy (Certificate of Analysis, CoA).

Tabuľka 11: Interpretácia výsledkov*

Detekcia druhu				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Výsledok
+	-	-	+/-	Detegovateľný druh STEC (EHEC)
-	+	-	+/-	Detegovateľné druhy EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
-	-	+	+/-	Detegovateľný druh EPEC
+	+	-	+/-	Detegovateľné druhy STEC (EHEC) a EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
+	-	+	+/-	Detegovateľný druh EHEC
-	+	+	+/-	Detegovateľné druhy EIEC/ <i>Shigella</i> spp. a EPEC
+	+	+	+/-	Detegovateľné druhy EHEC a EIEC/ <i>Shigella</i> spp.
-	-	-	+	Cieľové gény sa nedajú zistiť
-	-	-	-	Neplatný

*+= pozitívny
- = negatívny

Zákon o ochrane pred infekciami (IfSG) opisuje druh EHEC ako *E. coli* produkujúci toxín shiga (STEC), ktoré sú ľudskými patogénmi. Keďže v súčasnosti nie je možné stanoviť presnú definíciu ľudského patogénneho druhu STEC, **každý** STEC sa považuje za potenciálny EHEC.⁽⁵⁾

Vzorka je pozitívna, ak DNA vzorky a kontrola Internal Control vykazujú amplifikačný signál v detekčnom systéme.

Vzorka sa považuje za pozitívnu aj vtedy, ak DNA vzorky vykazuje amplifikačný signál, ale v detekčnom systéme nie je možné vidieť žiadny amplifikačný signál pre

kontrolu **Internal Control**. V tomto prípade sa nevyžaduje detekcia kontroly **Internal Control**, keďže vysoké koncentrácie amplikónov môžu spôsobiť slabý alebo chýbajúci signál kontroly **Internal Control**.

Vzorka je negatívna, ak DNA vzorky nevykazuje amplifikačný signál, ale v detekčnom systéme je viditeľný amplifikačný signál pre kontrolu **Internal Control**. Inhibíciu reakcie PCR a predchádzajúcu extrakciu možno vylúčiť prostredníctvom detekcie kontroly **Internal Control**.

Vzorka je neplatná, ak DNA vzorky a kontrola **Internal Control** nevykazujú amplifikačný signál v detekčnom systéme. Vo vzorke sa nachádzajú inhibítory alebo sa počas extrakčného procesu vyskytla chyba.

12. Limitácie metódy

1. Test RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC deteguje DNA faktorov virulencie druhov EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. v neliečených vzorkách ľudskej stolice a vzorkách kultúr. Z toho nemožno odvodiť súvislosť medzi úrovňou stanovenej hodnoty Ct a výskytom závažných klinických príznakov. Získané výsledky sa musia vždy interpretovať v kombinácii s celkovými klinickými príznakmi.
2. Diagnóza nemá byť založená len na výsledku molekulárnej biologickej analýzy, ale má vždy brať do úvahy anamnézu pacienta a príznaky.
3. Tento test je schválený na automatizované spracovanie pomocou systému RIDA[®]UNITY.
4. Tento test je overený len pre vzorky stolice a kultúr.
5. Pri použití kultivačnej matrice neprenášajte agarové médium do reakcie PCR, pretože to môže viesť k potenciálnej interferencii.
6. Nesprávne odoberanie vzoriek, preprava, skladovanie a manipulácia alebo patogénna nálož pod analytickou citlivosťou testu môžu viesť k falošne negatívnym výsledkom.
7. Prítomnosť inhibítorov PCR môže viesť k falošne negatívnym alebo neplatným výsledkom.
8. Ako pri všetkých diagnostických testoch *in vitro* založených na PCR možno zistiť extrémne nízke koncentrácie cieľových sekvencií, ktoré sú pod limitom detekcie (LoD 95 %). Získané výsledky nie sú vždy reprodukovateľné.
9. Mutácie alebo polymorfizmy vo väzbových miestach priméru alebo sondy môžu interferovať s detekciou nových alebo neznámych variantov a môžu viesť k falošne negatívnym výsledkom pri použití testu RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC.
10. Pozitívny výsledok testu nemusí nevyhnutne znamenať prítomnosť životaschopných organizmov. Pozitívny výsledok naznačuje prítomnosť cieľových génov (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae* a EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*).
11. Táto analýza sa má vykonať v súlade s nariadením o správnej laboratórnej praxi (SLP). Používatelia musia pri vykonávaní testu dôsledne dodržiavať pokyny výrobcu.

13. Charakteristiky výkonu

13.1 Klinické charakteristiky výkonu

Multiplex real-time RT-PCR test RIDA®UNITY EHEC/EPEC bol v externom laboratóriu porovnaný s referenčným testom s označením CE na základe 276 vzoriek stolice od pacientov so symptómami gastrointestinálnej infekcie.

Výsledky ukazujú veľmi vysokú citlivosť a špecifickosť pri detekcii faktorov virulencie druhov EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. pri použití súpravy RIDA®UNITY EHEC/EPEC.

Tab. 12: Detekcia génov *stx1/2* - vzorky stolice

		Referenčné PCR		Spolu
		Pozitívne	Negatívne	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Pozitívne	122	0	122
	Negatívne	5	149	154
	Spolu	127	149	276

Relatívna senzitivita (95 % IS)	96,1 % (91,1 % - 98,7 %)
Relatívna špecificita (95 % IS)	100 % (97,6 % - 100 %)

Tab. 13: Detekcia génov *ipaH* - vzorky stolice

		Referenčné PCR		Spolu
		Pozitívne	Negatívne	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Pozitívne	65	0	65
	Negatívne	0	211	211
	Spolu	65	211	276

Relatívna senzitivita (95 % IS)	100 % (94,5 % - 100 %)
Relatívna špecificita (95 % IS)	100 % (98,3 % - 100 %)

Tab. 14: Detekcia génov *eae* - vzorky stolice

		Referenčné PCR		Spolu
		Pozitívne	Negatívne	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>eae</i>	Pozitívne	179	0	179
	Negatívne	4	93	97
	Spolu	183	93	276

Relatívna senzitivita (95 % IS)	97,8 % (94,5 % - 100 %)
Relatívna špecificita (95 % IS)	100 % (96,1 % - 100 %)

13.2 Charakteristiky analytického výkonu

13.2.1 Detekčný limit (LoD 95 %)

Na stanovenie LoD sa vzorka pozitívnej kontroly (negatívne vzorky stolice, obohatené alebo s použitím vzorky kultúry) merala v piatich krokoch riedenia (v krokoch s prírastkami po 0,25) pre každý cieľ s 20 replikátmi na krok v jednej šarži. Potom nasledovala probitová analýza. Ďalej sa vypočítaná LoD potvrdila s 20 replikátmi na cieľ pre vypočítaný krok riedenia/koncentráciu.

Na testovanie sa použili nasledujúce kmene:

- *stx1/stx2*: *Escherichia coli* D3509 (hodnota LoD pre *stx2* bola stanovená, pretože gén *stx2* je spojený s hemolyticko-uremickým syndrómom.)
- *ipaH*: *Escherichia coli* Fr1368
- *eae*: *Escherichia coli* DSM8695

Pre detekciu DNA druhov EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. pomocou testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC v systéme UNITY sa stanovili nasledujúce limity detekcie (LoD).

Výsledky týchto meraní sú uvedené v tabuľke 15.

Tab. 15: Výsledky limitu detekcie testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pre ciele *stx1/2*, *ipaH* a *eae*.

	Matrica	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Stolica	476 000 CFU/mL	5 300 CFU/mL	125 000 CFU/mL
	Kultúra	2 130 CFU/mL	798 CFU/mL	2 890 CFU/mL

* CFU: Colony Forming Units (Jednotky tvoriace kolóniu)

Hodnota LoD pre gén *stx1/2* vo vzorkách stolice bola stanovená na 476 000 CFU/mL.

Hodnota LoD pre gén *ipaH* vo vzorkách stolice bola stanovená na 5 300 CFU/mL.

Hodnota LoD pre gén *eae* vo vzorkách stolice bola stanovená na 125 000 CFU/mL.

Hodnota LoD pre gén *stx1/2* vo vzorkách kultúry bola stanovená na 2 130 CFU/mL.

Hodnota LoD pre gén *ipaH* vo vzorkách kultúry bola stanovená na 798 CFU/mL.

Hodnota LoD pre gén *eae* vo vzorkách kultúry bola stanovená na 2 890 CFU/mL.

Pre rozšírený pracovný postup pomocou systému CFX96™ Dx boli tieto hodnoty LoD potvrdené za predpokladu, že zostaneme v 2- až 3-násobnom rozsahu LoD.

13.2.2 Analytická špecificita

Rušivé látky

Prítomnosť inhibítorov PCR a rušivých látok môže viesť k falošne negatívnym alebo neplatným výsledkom. Preto sa skúmali účinky rôznych látok, ktoré môžu existovať, vzhľadom na ich rozšírené použitie pri gastrointestinálnych infekciách alebo rozšírený výskyt v zodpovedajúcich vzorkách.

Látky, ktoré by mohli potenciálne významne ovplyvniť výsledky testu, boli spočiatku skúmané vo vysokých koncentráciách (trojnásobok dennej dávky alebo simulácia najhoršieho prípadu) na interferenčnej obrazovke.

V prípade látok uvedených v tabuľke 16 sa nezistila žiadna interferencia.

Tab. 16: Potenciálne rušivé látky

Potenciálne rušivá látka	Koncentrácia
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg filmom obalené tablety (azitromycín)	0,75 % [w/v]
Síran bárnatý	18,5 % [v/v]
Tekuté sladidlo Cologran® (sacharín + cyklamát)	1,3 % [w/v]
Ľudská krv	5 % [v/v]
Tablety so živočíšnym uhlím 250 mg (živočíšne uhlie)	6 % [w/v]
Loperamid-ratiopharm® akut (loperamid)	0,02 % [v/v]
Mucíny	5 % [w/v]
Kyselina stearová/palmitová	40 % [w/v]

Skrížené reakcie

Boli skúmané rôzne organizmy (baktérie, parazity, huby a vírusy), ktoré môžu byť bežne nájdené v matrici stolice. Mikroorganizmy, ktoré sa majú skúmať v rámci tejto analýzy, boli vybrané buď preto, že sa prirodzene vyskytujú vo vzorkách stolice, alebo spôsobujú zodpovedajúce príznaky ako gastrointestinálne patogény. Na analýzy sa použili kultúry baktérií (medzi 10^6 a 10^9 CFU/mL), hubové alebo vírusové kultúry, supernatanty vírusových kultúr, izoláty a štandardy LGC daného organizmu.

Multiplex real-time RT-PCR test RIDA®UNITY EHEC/EPEC je špecifický pre druhy EHEC, STEC, EPEC a EIEC/*Shigella* spp. S nasledujúcimi druhmi neboli detegované žiadne skrížené reakcie (pozrite si tabuľku 17):

Tab. 17: Organizmy spôsobujúce potenciálne skríženú reaktivitu.

Organizmus	Výsledok testu*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenovirus 40	-	-	-
Adenovirus 41, ľudský, kmeň Tak	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
Astrovirus 2	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-
<i>Campylobacter fetus</i> poddruh <i>fetus</i>	-	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	-
<i>Campylobacter lari</i> poddruh <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> (sérovar Enteritidis)	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (sérovar Typhimurium)	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-

* - = negatívny

** *Giardia intestinalis* a *Giardia lamblia* sú rovnaké organizmy.

13.2.3 Presnosť

Presnosť real-time RT-PCR testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC bola stanovená pre nasledujúce úrovne posudzovania.

Presnosť *v rámci* analýzy: Stanovenie 5 kontrolných vzoriek pomocou 20 replikátov každej vzorky v systéme RIDA®UNITY za identických podmienok.

Presnosť *medzi* analýzami: Určenie 5 kontrolných vzoriek v 20 cykloch duplicitne počas 10 pracovných dní (2 cykly za deň), ktoré vykonali rôzni technici za reprodukovateľných podmienok.

Testovanie presnosti *v rámci* analýzy a *medzi* analýzami sa uskutočnilo s použitím troch rôznych šarží.

Variačné koeficienty získané pre každé meranie pomocou real-time RT-PCR testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC v systémoch RIDA®UNITY a CFX96™ Dx boli 4,29 %.

Tab. 18: Výsledky presnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pre gén *stx1/2* zo vzoriek stolice (systém RIDA®UNITY).

Ct	Priemerná hodnota/ VK	V rámci analýzy			Medzi analýzami			Medzi šaržami
		Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarží 1 - 3
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 (%)	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	2,15 %	2,23 %	2,26 %	2,28 %
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	VK (%)	2,34 %	2,05 %	2,13	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné

Tab. 19: Výsledky presnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pre gén *stx1/2* zo vzoriek stolice (CFX96™ Dx).

Ct	Priemerná hodnota/ VK	V rámci analýzy			Medzi analýzami			Medzi šaržami
		Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarží 1 - 3
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 (%)	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	2,96 %	2,90 %	2,76 %	3,04 %
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	VK (%)	1,52 %	1,59 %	3,43 %	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné

Tab. 20: Výsledky presnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pre gén *ipaH* zo vzoriek stolice (systém RIDA®UNITY).

Ct	Priemerná hodnota/ VK	V rámci analýzy			Medzi analýzami			Medzi šaržami
		Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarží 1 - 3
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 (%)	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	1,44 %	1,34 %	1,45 %	1,42 %
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	VK (%)	0,88 %	0,77 %	0,69 %	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné

Tab. 21: Výsledky presnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pre gén *ipaH* zo vzoriek stolice (CFX96™ Dx).

Ct	Priemerná hodnota/ VK	V rámci analýzy			Medzi analýzami			Medzi šaržami
		Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarží 1 - 3
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 (%)	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	1,27 %	1,45 %	1,36 %	1,36 %
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	VK (%)	0,89 %	0,53 %	0,70 %	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné

Tab. 22: Výsledky presnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pre gén *eae* zo vzoriek stolice (systém RIDA®UNITY).

Ct	Priemerná hodnota/ VK	V rámci analýzy			Medzi analýzami			Medzi šaržami
		Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarží 1 - 3
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 (%)	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	1,81 %	1,78 %	1,81 %	1,80 %
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	VK (%)	1,24 %	0,78 %	1,18 %	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné

Tab. 23: Výsledky presnosti testu RIDA®UNITY EHEC/EPEC pre gén *eae* zo vzoriek stolice (CFX96™ Dx).

Ct	Priemerná hodnota/ VK	V rámci analýzy			Medzi analýzami			Medzi šaržami
		Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarže 1	Súprava šarže 2	Súprava šarže 3	Súprava šarží 1 - 3
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 (%)	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	1,32 %	1,58 %	1,48 %	1,47 %
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	VK (%)	0,73 %	0,55 %	0,68 %	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné	Nedostupné

13.2.4 Analytická reaktivita

Reaktivita multiplexného testu PCR v reálnom čase RIDA®UNITY EHEC/EPEC bola testovaná na definovanom paneli kmeňov *E. coli* a *Shigella* (pozrite si tabuľku 24).

Tab. 24: Testovanie analytickej reaktivity

Kmeň	Výsledok*		
	<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>	-	+	-

*+ = pozitívny (aspoň 2 z 3 replikátov pozitívne)










- = negatívny

14. História verzie





Číslo verzie	Časť a označenie
2022-06-14	Verzia vydania

15. Vysvetlenie symbolov

Všeobecné symboly

	Na diagnostické použitie <i>in vitro</i>
	Postupujte podľa návodu na použitie
	Číslo šarže
	Použite pred
	Teplota skladovania
	Číslo položky
	Počet testov
	Dátum výroby
	Výrobca

Symbole špecifické pre daný test

	Reakčná zmes
	Enzymová zmes
	Negatívna kontrola
	Pozitívna kontrola

16. Referencie

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).