

RIDA® UNITY EHEC/EPEC

REF UN2205



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

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



1. Kullanım amacı

In vitro tanı amaçlı kullanım içindir. RIDA®UNITY platformu üzerinde gerçekleştirilen RIDA®UNITY EHEC/EPEC testi, akut gastroenterit belirtileri ve işaretleri bulunan insanlardan alınan işlenmemiş insan gaita örneklerinde ve kültür örneklerinde EHEC, STEC, EPEC ve EIEC/*Shigella* spp.'nin virülans faktörleri için DNA'nın doğrudan kalitatif olarak saptamasına yönelik bir multiplex real-time PCR testidir.

RIDA®UNITY EHEC/EPEC testi, gastroenterit belirtileri olan hastalarda *E. coli* enfeksiyonlarının (EHEC, EPEC, STEC ve EIEC/*Shigella* spp.) ayırıcı tanısını diğer klinik ve laboratuvar bulgularıyla bağlantılı olarak desteklemeye yöneliktir.

Negatif sonuçlar *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC veya EIEC/*Shigella* spp.) enfeksiyonu olasılığını ortadan kaldırmaz ve tanının tek temeli olarak kullanılmamalıdır.

Ürün, profesyonel kullanıma yöneliktir.

2. Testin özeti ve açıklaması

Diyare hastalıkları önemli bir sağlık sorunudur ve tüm dünyada çocuklarda yılda yaklaşık 1,7 milyar vakaya neden olmaktadır.⁽¹⁾ Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre bu hastalıklar, yılda ortalama 525.000 ölümlle, özellikle gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşın altındaki çocuklarda ikinci önde gelen ölüm nedenidir.⁽¹⁾ Diyare hastalığının en yaygın bakteriyel patojenlerinden biri *Escherichia coli*'dir.⁽²⁾

E. coli, bir Gram negatif, laktoz fermente eden, motil bakteridir ve *Enterobacteriaceae* ailesine aittir. Bu bakteri mide gastrointestinal yolların normal bir sakinidir, fakat özellikle gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda yüksek morbidite ve mortaliteyle birlikte hastalıklara da neden olabilmektedir. Aşağıdaki diyare yapıcı *E. coli* sınıfları, bakterinin virülans özelliklerine, epidemiyolojiye ve klinik belirtilere dayanarak belirlenmiştir: enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve enteroaggregatif *E. coli* (EAEC). Bütün bu diyare yapıcı *E. coli* patotipleri, fekal-oral yoldan bulaşabilir.⁽³⁾

Bağırsak patojenik *E. coli* arasında enterohemorajik *E. coli* (EHEC) özel önem kazanmıştır. Bunlar, Shiga toksini veya verotoksin üreten *E. coli*'nin (sırasıyla STEC veya VTEC) bir alt grubudur. STEC patojenliği, intestinal epitelyal hücrelere yapışarak bağırsağı kolonize etme yeteneklerine dayandırılabilir. Kolonizasyon sonrasında bakteri iki sitotoksin üretebilmektedir: verotoksin 1 ve 2. Verotoksinlerin *Shigella dysenteriae*'nin Shiga toksinine benzemeleri nedeniyle VTEC'e STEC de denmektedir. Diğer önemli tanısal EHEC patojenlik faktörleri, yalnızca *stx1/stx2* (Shiga toksini genleri) değil, fakat aynı zamanda membran proteini olan intimin'i kodlayan *eae* genidir (*E. coli* yapışma ve silme geni). Bu membran proteini, patojenin bağırsak epitelyal hücrelerine yapışmasından sorumludur.⁽⁴⁾ EHEC/STEC'nin insanlarda neden olabileceği klinik belirtiler kanlı diyareden hemolitik üremik sendroma (HUS) kadar değişmektedir.^(2, 5) Enfeksiyon kaynakları esas olarak kontamine yiyecekler olup bir EHEC/STEC enfeksiyonuna neden olmak için 1000 bakteriden azı yeterlidir. Almanya'da STEC'in şimdiye kadar neden olduğu

yiyeceklerle ilişkili en kötü salgın 2011 yılındaydı. Bu salgında, 3816 STEC enfeksiyonu belirlenmiş, 54 ölüm yaşanmış ve bunların 32'si HUS'la ilişkili olmuştur.⁽⁵⁾

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), özellikle gelişmekte olan ülkelerde bir pediyatrik diyare hastalıkları nedeni olarak bilinmektedir.⁽³⁾ EPEC, Shiga toksinlerinin yokluğu bakımından EHEC'ten ayırt edilebilir.⁽³⁾ Bir EPEC enfeksiyonuyla en yaygın olarak ilişkili olan belirtiler sulu diyare, karın ağrısı, mide bulantısı, kusma ve ateş olup sağlıklı bireylerde enfeksiyöz doz 10^8 organizmadır.⁽⁵⁾

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve *Shigella* spp. benzer şekilde dünya çapında, özellikle gelişmekte olan ülkelere diyare hastalıklarına neden olur. Her ikisi de biyokimyasal ve genetik olarak birbirleriyle yakından ilişkili olan Gram negatif bakterilerdir.⁽⁶⁾ EIEC ve *Shigella* spp. bakterilerinin patojenliği, intestinal epitelyal hücreleri plazmid aracılı istilaya/ bu hücrelerin yıkımına dayanmaktadır. Plazmid istilacı antijen H geninin (*ipaH*) ürünleri, bu süreçten sorumludur. Bu gen, EIEC/*Shigella* spp. saptaması için önemlidir ve bu nedenle, bu patotipi EHEC'ten ayırt etmek olanaklıdır. EIEC/*Shigella* spp. enfeksiyonu salgınlarının asıl olarak yiyeceklerin neden olduğu düşünülmekte ve enfeksiyonlar diyare, karın ağrısı, mide bulantısı ve ateşle seyretmektedir.⁽⁶⁾

3. Test prensibi

RIDA®UNITY EHEC/EPEC, insan gaita veya kültür örneklerinde EHEC, STEC, EPEC ve EIEC/*Shigella* spp.'nin virülans faktörleri için genlerin doğrudan kalitatif olarak saptamasına ve ayrıştırılmasına yönelik bir multiplex real-time PCR testidir.

RIDA®UNITY sisteminde işleme tam otomatiktir. Önce, RIDA®UNITY Universal Extraction Kit ve Internal Control Kit kullanılarak nükleik asitler ekstrakte edilir.

Hedef sekans, her zaman tek adımlı bir real-time RT-PCR biçiminde saptanır (DNA tahlillerinde bile), yani tersine transkripsiyon (RT) ve ardından PCR, tek bir reaksiyon flakonunda gerçekleştirilir. Bu işlemde, izole edilen RNA (varsa), ters transkriptaz yardımıyla cDNA'ya çevrilir. Ardından, virülans faktörleri *stx1/stx2*, *eae* ve *ipaH*'ya özgü gen parçacıkları real-time PCR kullanılarak çoğaltılır.

Çoğaltılan hedef sekanslar, bir ucunda bir söndürücü ve diğer ucunda bir floresan haberci boyayla (florofor) etiketlenmiş hidroliz problemleri kullanılarak saptanmaktadır.

Problemler, bir hedef sekansın varlığında amplikonu hibridize etmektedir. Uzama sırasında,

Taq polimerase haberciyi söndürücüden ayırmaktadır. Haberci, bir gerçek zamanlı PCR aletinin optik ünitesi tarafından saptanan bir floresan sinyal yaymaktadır.

Floresan sinyal, oluşan amplikonların miktarını artırmaktadır. RIDA®UNITY Internal Control Kit, örnek hazırlığını ve/veya potansiyel PCR inhibisyonunu hususların kontrol edebilmek için aynı anda kullanılmalıdır.

4. Sağlanan reaktifler

Kitte sağlanan reaktifler 96 belirleme için yeterlidir*.

Tab. 1: Sağlanan reaktifler

REF	Reaktif	Miktar		Kapak rengi
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	sarı, kullanıma hazır
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	kırmızı, kullanıma hazır
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 µL	mavi, kullanıma hazır
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 µL	beyaz, kullanıma hazır

* Tekrarlı kullanımla ve küçük serilerde, reaksiyon sayısı azalabilir.

5. Saklama talimatları

- Lütfen Tablo 2'deki kullanma ilkelerini izleyin ve kiti kullandıktan hemen sonra belirtilen bilgilere göre saklayın.
- Tüm reaktifler güneş ışığından uzakta, -16 °C ila 28 °C'de saklanmalıdırlar ve açılmamış halde, etikette basılı son kullanma tarihine kadar kullanılabilirler. Kalite garantisi, son kullanma tarihinden sonra artık geçerli değildir.
- Tüm reaktifler kullanılmadan önce dikkatle çözülmelidir (örneğin, bir buzdolabında 2 - 8 °C'de).
- 8 defaya kadar tekrarlanan dondurmanın ve çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

Tab. 2: Saklama koşulları ve bilgileri

	Saklama sıcaklığı	Maksimum saklama süresi
açılmamış	-16 °C ila -28 °C	Basılı son kullanma tarihine kadar kullanılabilir
açılmış	-16 °C ila -28 °C	8 dondurma-çözme döngüsü

6. Gerekli olan ama sağlanmayan reaktifler

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR testi, yalnızca RIDA®UNITY sistemiyle birlikte kullanılmaya yöneliktir. Aşağıdaki ürünler doğru kullanım için kesinlikle gereklidir:

6.1 Reaktifler

Aşağıdaki reaktifler RIDA®UNITY EHEC/EPEC testini gerçekleştirmek için gereklidir:

Reaktifler	Madde numarası
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Laboratuvar ekipmanları

RIDA®UNITY EHEC/EPEC testini gerçekleştirmek için aşağıdaki ekipmanlar gereklidir:

Ekipman
RIDA®UNITY sistemi, öge numarası: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY sarf malzemeleri (uçlar, plakalar, reaksiyon flaklonları, filmler). Sarf malzemelerinin sipariş bilgileri için, RIDA®UNITY sisteminin kullanım talimatlarına bakın.
Vorteks cihazı
Tezgahüstü santrifüj
Tek kullanımlık pudrasız eldivenler

Harici döngüleyici (olası sistem güçlendirmesi)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

RIDA®UNITY EHEC/EPEC kiti, başka uyumlu döngüleyici cihazlarla birlikte kullanılabilir. Alternatif gerçek Zamanlı PCR aletleri, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır/onaylanmalıdır. Uyumluluğu kontrol etmek için, lütfen R-Biopharm AG'yi pcr@r-biopharm.de adresinden arayın.

7. Kullanıcılar için uyarılar ve önlemler

In vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Bu test, sadece yetkili laboratuvar personeli tarafından gerçekleştirilmelidir. Tıbbi laboratuvarlarda çalışma yönergelerine uyulmalıdır.

Bu testi gerçekleştirirken çalıştırma kılavuzuna her zaman kesinlikle uyun.

Örnekleri veya reaktifleri ağızınızı kullanarak pipetlemeyin. Yaralı ciltle veya mukoz membranlarla temasını önleyin.

Reaktifleri ve örnekleri kullanırken kişisel koruyucu ekipmanlar (uygun eldivenler, laboratuvar önlüğü, güvenlik gözlükleri) kullanın ve testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın.

Örneklerin kullanılmakta olduğu alanlarda sigara içmeyin, bir şey yemeyin veya içmeyin.

Örnekleri ve kit bileşenlerini mikroplarla ve nükleazlarla (DNase/RNase) kontamine etmekten kaçınin.

Klinik örnekler, potansiyel olarak enfeksiyöz kabul edilmeli ve potansiyel olarak enfeksiyöz örneklerle temas eden tüm reaktifler ve malzemeler gibi uygun şekilde bertaraf edilmelidir.

Bir kit lotunun bileşenlerini (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) başka bir lotun bileşenleriyle değiştirmeyin veya karışık olarak kullanmayın.

Test kiti, ilk kez açıldıktan sonra 8 hafta boyunca kullanılabilir (kit, 6 defaya kadar yeniden doldurulabilir). Test kitini, son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Bu spesifikasyonlar, RIDA®UNITY sistemi tarafından da kontrol edilir.

Kullanıcılar, kullanıldıktan sonra tüm reaktiflerin ve materyallerin uygun şekilde bertarafından sorumludur. Bertaraf için, lütfen ulusal yönetmeliklere uyun.

Güvenlik Veri Formlarına (Safety Data Sheet, SDS) ilişkin daha fazla ayrıntı, <https://clinical.r-biopharm.com/search/> adresindeki öge numarasında bulunmaktadır.

Avrupa Birliği'ndeki kullanıcılar için: Ürünle ilişkili tüm ciddi advers olayları R-Biopharm AG ve uygun ulusal makamlara bildirin.

Bu ürün için güvenlik ve performans özeti (SSP), Tıbbi Cihazlara İlişkin Avrupa Veritabanı (EUDAMED) faaliyete geçtiğinde <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> adresinde mevcut olacaktır. Bu veritabanında, cihazın dış ambalajında bulunan UDI-DI'yi kullanarak cihazı arayın.

8. Örnekleri toplama ve saklama

RIDA®UNITY EHEC/EPEC tahlilinin olası en iyi performansını sağlamak için taze örnek materyali kullanılması önerilir.

Örneği tekrar tekrar dondurmaktan ve çözmekten kaçının.

Gaita örneklerini, koruyuculu nakil ortam maddesi, hayvan serası, metal iyonları, oksitleyici ajanlar veya deterjanlar içeren nakil kaplarında toplamayın, çünkü bu maddeler RIDA®UNITY testleriyle etkileşime girebilirler.

Tekrarlanan çözme ve dondurmaya önlemek için örneklerin alikotlarının oluşturulması önerilir. Dondurulmuş örnekler, nükleik asitlerin bozulmasını önlemek için ekstraksiyondan hemen önce çözülmelidir.

Tablo 3 ile 6'daki örnek saklama talimatlarını izleyin.

Tab. 3: Örnek saklama - EHEC saptaması

Doğal örnekler - gaita		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 gün	≤ 7 gün	≤ 6 ay

Doğal örnekler - Kültür		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 gün	≤ 1 gün	-

Eluatta (gaitadan veya kültürden)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 saat	≤ 36 saat	≤ 7 gün

-20 °C / -80 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, gaita örneğini 5 defaya kadar tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

-20 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, eluatı (gaitadan veya kültürden) 3 defaya tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

Daha önce dondurulmuş gaitadan kültür büyütme, çünkü donma, patojenlerin büyüme özelliklerini büyük ölçüde etkiler ve bu da, potansiyel olarak yalancı negatif sonuçlara neden olabilir.

Tab. 4: Örnek saklama - STEC saptaması

Doğal örnekler - gaita		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 gün	≤ 7 gün	≤ 6 ay

Doğal örnekler - Kültür		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 gün	≤ 1 gün	-

Eluatta (gaitadan veya kültürden)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 saat	≤ 36 saat	≤ 7 gün

-20 °C / -80 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, gaita örneğini 5 defaya kadar tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

-20 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, eluatı (gaitadan veya kültürden) 3 defaya tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

Daha önce dondurulmuş gaitadan kültür büyütmenin, çünkü donma, patojenlerin büyüme özelliklerini büyük ölçüde etkiler ve bu da, potansiyel olarak yalancı negatif sonuçlara neden olabilir.

Tab. 5: Örnek saklama - EPEC saptaması

Doğal örnekler - gaita		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 gün	≤ 7 gün	≤ 6 ay

Doğal örnekler - Kültür		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 gün	≤ 1 gün	-

Eluatta (gaitadan veya kültürden)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 saat	≤ 36 saat	≤ 7 gün

-20 °C / -80 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, gaita örneğini 5 defaya kadar tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

-20 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, eluatı (gaitadan veya kültürden) 3 defaya tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

Daha önce dondurulmuş gaitadan kültür büyütme, çünkü donma, patojenlerin büyüme özelliklerini büyük ölçüde etkiler ve bu da, potansiyel olarak yalancı negatif sonuçlara neden olabilir.

Tab. 6: Örnek saklama - *EIEC/Shigella* spp. saptaması

Doğal örnekler - gaita		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 gün	≤ 7 gün	≤ 6 ay

Doğal örnek - kültür		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 1 gün	-

Eluatta (gaitadan veya kültürden)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 saat	≤ 36 saat	≤ 7 gün

-20 °C / -80 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, gaita örneğini 5 defaya kadar tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

-20 °C şeklindeki bir saklama sıcaklığında, eluatu (gaitadan veya kültürden) 3 defaya tekrarlanan dondurma/çözmenin test özelliklerine bir etkisi yoktur.

Daha önce dondurulmuş gaitadan kültür büyütme, çünkü donma, patojenlerin büyüme özelliklerini büyük ölçüde etkiler ve bu da, potansiyel olarak yalancı negatif sonuçlara neden olabilir.

8.1 Gaita ve kültür örneklerinden DNA hazırlama

Gaita ve kültür örneklerinden DNA'yı izole etmek için, RIDA®UNITY Universal Extraction Kit kullanın. RIDA®UNITY Universal Extraction Kit için kullanım talimatlarındaki doğru prosedürleri (Kısım: Gaita örneklerinden nükleik asit hazırlama. Kısım: Kültür örneklerinden nükleik asit hazırlama) izleyin.

9. Test prosedürü

RIDA®UNITY EHEC/EPEC için hem örnekleri ve hem de reaktifleri kullanımın başlangıcında RIDA®UNITY sistemine yerleştirin Öncesinde, **Reaction Mix**, **Negative Control** ve **Positive Control** ürünlerini bir vorteksleyici kullanarak yeterince karıştırın. **Enzyme Mix** ürününü vortekslemeyin. Bundan sonra, tüm bileşenleri kısa süreyle santrifüjleyin.

İncelenecek örnekler için PCR tüpleri, entegre PCR döngüleyici cihazına önceden yerleştirilmelidir.

Sistemi reaktiflerle ve sarf malzemeleriyle doğru bir şekilde yüklemek için taşıyıcılar mevcuttur. Yükleme işlemi için, RIDA®UNITY sistemin talimatlarını izleyin.

RIDA®UNITY sisteminin kılavuzundaki ilgili kısımları (Kısım: Bir çalışma gerçekleştirme) açıklanmaktadır.

RIDA®UNITY EHEC/EPEC testi, yalnızca RIDA®UNITY Internal Control Kit ile birlikte kullanılabilir. Bu, potansiyel PCR inhibisyonunun erkenden tanınmasını, reaktiflerin bütünlüğünü doğrulamayı ve başarılı nükleik asit ekstraksiyonunu doğrulamayı sağlar. Prosedür, RIDA®UNITY Internal Control Kit için kullanım talimatlarında (Kısım: Test prosedürü) açıklanmaktadır.

Otomatik işlemi, RIDA®UNITY sistem kılavuzunda (Kısım: Bir çalışma gerçekleştirme) açıklanmaktadır.

9.1 Cihaz ayarları

9.1.1 Evrensel real-time PCR profili

RIDA®UNITY tahlillerini uyumlaştırmak için, RIDA®UNITY EHEC/EPEC tahlili yalnızca evrensel profile doğrulanmıştır. Bu, DNA ve RNA tahlillerini birbirleriyle birleştirmeyi olanaklı kılmaktadır. Genel olarak söylemek gerekirse, bu nedenle tersine transkripsiyon evrensel profile önce gelmektedir.

Tab. 7: RIDA®UNITY için evrensel gerçek zamanlı PCR profili

<u>Tersine transkripsiyon</u>	10 dak, 58 °C
İlk denatürasyon	1 dak, 95 °C
Döngüler	45 döngü
<u>PCR</u> Denatürasyon	10 san, 95 °C
Tavlama/uzama	15 san, 60 °C
Sıcaklık geçiş hızı/rampa hızı	Maksimum

Not: Tavlama ve uzama aynı adımda gerçekleşir.

Tab. 8: CFX96™ Dx için evrensel real-time PCR profili

<u>Tersine transkripsiyon</u>	10 dak, 58 °C
İlk denatürasyon	1 dak, 95 °C
Döngüler	45 döngü
<u>PCR</u> Denatürasyon	15 san, 95 °C
Tavlama/uzama	30 san, 60 °C
Sıcaklık geçiş hızı/rampa hızı	Maksimum

Not: Tavlama ve uzama aynı adımda gerçekleşir.

9.2 Saptama kanalı ayarı

Tab. 9: Uygun saptama kanallarını seçme

Gerçek Zamanlı PCR aleti	Saptama	Saptama kanalı	Not
R-Biopharm RIDA®UNITY	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanalı stx
	Dahili Kontrol	HEX	SEEK kanalı ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanalı ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanalı eae
Bio-Rad CFX96™ Dx	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanalı stx
	Dahili Kontrol	VIC	SEEK kanalı ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanalı ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanalı eae

10. Kalite kontrol - Reaktif instabilitesi veya son kullanma tarihinin dolması göstergesi

Örnekler, RIDA®UNITY sisteminin RIDA®SEEK analitik yazılımı kullanılarak değerlendirilir. **Negative Control** ve **Positive Control** doğru sonuçları göstermelidir (bkz. Tab. 9).

Positive Control 10^3 kopya/ μ L konsantrasyonunda mevcuttur. Her PCR çalışmasında toplam 5×10^3 kopya miktarında kullanılır.

Negative Control, RIDA®UNITY Internal Control'ü zaten içerir. Kontrollerde bir şablon bulunmadığı için, hedef kanallarda hiçbir sinyal beklenmez. Dahili kontrol saptandığı IC kanalında pozitif sinyaller saptanması zorunludur (bkz. Tab. 10).

Tab.10: Geçerli bir PCR çalışması aşağıdaki koşulları karşılamalıdır:

Örnek	Sonuç	IC Ct	Hedef gen Ct
Pozitif kontrol	+	Yok*	Bkz. Certificate of Analysis
Negatif kontrol	-	Ct >20	0

*Belirli durumlarda, IC kanalında pozitif kontrolde bir pozitif sinyal olabilir ve bu nedenle, bu değerlendirilmemelidir.

Pozitif kontrol, belirtilen Ct aralığında değilse, fakat negatif kontrol geçerliyse, kontroller dahil tüm reaksiyonların yeniden PCR'de yeniden analiz edilmeleri gerekir.

Negatif kontrol negatif değilse, fakat pozitif kontrol geçerliyse, kontroller dahil tüm reaksiyonların PCR'de yeniden analiz edilmeleri gerekir.

Belirtilen değere ulaşamıyorsa, testi tekrarlamadan önce aşağıdaki hususları kontrol edin:

- Kullanılan reaktiflerin son kullanma tarihi
- Kullanılan ekipmanın fonksiyonelliği
- Doğru test prosedürü

Test tekrarlandıktan sonra koşullar yine karşılanmıyorsa, lütfen üreticiye veya yerel R-Biopharm distribütörünüze başvurun.

11. Değerlendirme ve yorumlama

Örnek değerlendirme ve yorumlama, RIDA®UNITY sistemi analiz yazılımı olan RIDA®SEEK kullanılarak yapılır.

Standartlaştırma için uluslararası olarak kabul edilmiş hiçbir güncel referans yöntem veya referans maddesi yoktur. Kontrol materyalleri, özgül DNA ampliconlarına dayanarak dahili R-Biopharm AG standartlarına metrolojik olarak izlenebilir.

Metrolojik izlenebilirliğe ilişkin daha fazla bilgi için, lütfen R-Biopharm AG'yi arayın.

Belirtilen değerler, aralıklar ve diğer ayrıntılar, Analiz Sertifikasında (Certificate of Analysis, CoA) bulunmaktadır.

Tab.11: Sonuç yorumlama*

Saptama				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Sonuç
+	-	-	+/-	STEC (EHEC) saptanabilir
-	+	-	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. saptanabilir
-	-	+	+/-	EPEC saptanabilir
+	+	-	+/-	STEC (EHEC) ve EIEC/ <i>Shigella</i> spp. saptanabilir
+	-	+	+/-	EHEC saptanabilir
-	+	+	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. ve EPEC saptanabilir
+	+	+	+/-	EHEC ve EIEC/ <i>Shigella</i> spp. saptanabilir
-	-	-	+	Hedef genler saptanabilir değil
-	-	-	-	Geçersiz

*+= pozitif

- = negatif

Enfeksiyon Korunma Yasası (Infection Protection Act - IfSG), EHEC'yi insan patojenleri olan Shiga toksini üreten *E. coli* (STEC) olarak açıklamaktadır. İnsan patojenik STEC'in kesin bir tanımı şu anda belirlenemediği için, her STEC potansiyel bir EHEC olarak görülür.⁽⁵⁾

Bir örnek, örnek DNA'sı ve **Internal Control** saptama sisteminde bir çoğalma sinyali gösterdiğinde pozitifdir.

Bir örnek, örnek DNA'sı bir çoğalma sinyali gösteriyorsa, fakat **Internal Control** için saptama sisteminde bir çoğalma sinyali görülemiyorsa yine pozitif şeklinde değerlendirilir. **Internal Control** saptama bu durumda gerekli değildir, çünkü yüksek

amplikon konsantrasyonları, **Internal Control** için sinyalin zayıf olmasına veya hiç olmamasına neden olabilir.

Bir örnek, örnek DNA'sı bir çoğalma sinyali göstermiyorsa, fakat **Internal Control** için saptama sisteminde bir çoğalma sinyali görülebiliyorsa, negatif şekilde değerlendirilir. PCR reaksiyonunun inhibisyonu ve önceki ekstraksiyon, **Internal Control** saptamasıyla dışarıda bırakılabilir.

Örnek, örnek DNA'sı ve **Internal Control** saptama sisteminde bir çoğalma sinyali göstermediğinde geçersizdir. Örnekte inhibitörler vardır veya ekstraksiyon işlemi sırasında bir hata oluşmuştur.

12. Yöntemin sınırlamaları

1. RIDA®UNITY EHEC/EPEC testi, işlenmemiş insan gaita veya kültür örneklerinde EHEC, STEC, EPEC ve EIEC/*Shigella* spp.'nin virülans faktörleri için DNA'yı doğrudan saptar. Bundan, belirlenmiş Ct değerinin düzeyi ve şiddetli klinik semptomların ortaya çıkışı arasında bir bağlantı çıkarılamaz. Elde edilen sonuçlar, her zaman tüm klinik semptomlarla birlikte yorumlanmalıdır.
2. Tanı, tek başına moleküler biyolojik analize dayandırılmamalı, fakat hastanın tıbbi öyküsünü ve semptomlarını da her zaman dikkate almalıdır.
3. Bu test, yalnızca RIDA®UNITY sisteminde otomatik işleme için onaylanmıştır.
4. Bu test, yalnızca gaita ve kültür örnekleri için doğrulanmıştır.
5. Kültür matrisini kullanırken, agar ortamını PCR reaksiyonuna taşımayın, çünkü bu, potansiyel etkileşime neden olabilir.
6. Uygun olmayan örnekleme, taşıma, saklama ve kullanma veya testin analitik hassasiyetinin altındaki bir patojen yükü, yalancı negatif sonuçlara neden olabilir.
7. PCR inhibitörlerinin varlığı, yalancı negatif veya geçersiz sonuçlara neden olabilir.
8. Tüm PCR tabanlı *in vitro* tanısal testlerde olduğu gibi, hedef sekansların saptama sınırının (LoD %95) altında olan son derece düşük konsantrasyonları saptanabilir. Elde edilen sonuçlar her zaman yeniden üretilebilir değildir.
9. Primer veya prob bağlanan bölgelerdeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen varyantların saptanmasıyla etkileşebilir ve RIDA®UNITY EHEC/EPEC kullanıldığında yalancı negatif sonuçlara neden olabilir.
10. Bir pozitif sonucu, yaşayabilir organizmaların varlığı olasılığını her zaman belirtmez. Bir pozitif sonuç, hedef genlerin (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae* ve EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*) var olduğunu belirtir.
11. Bu tahlil, iyi laboratuvar uygulamalarına (GLP) ilişkin yönetmeliğe uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Kullanıcılar, testi gerçekleştirirken üretici firmanın talimatlarına kesinlikle uymalıdır.

13. Performans özellikleri

13.1 Klinik performans özellikleri

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR testi, bir harici laboratuvarında, CE işaretli bir referans testle, gastrointestinal enfeksiyon belirtileri olan hastalardan alınan 276 gaita örneğine dayanarak karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar, EHEC, STEC, EPEC ve EIEC/*Shigella* spp.'nin virülans faktörlerinin saptanmasında, RIDA®UNITY EHEC/EPEC kiti kullanıldığında çok yüksek duyarlılık ve özgüllük bulunduğunu göstermiştir.

Tab. 12: *stx1/2* saptaması - gaita örnekleri

		Referans PCR		Toplam
		Pozitif	Negatif	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Pozitif	122	0	122
	Negatif	5	149	154
	Toplam	127	149	276

Görelî hassasiyet (%95 CI)	%96,1 (%91,1 - %98,7)
Görelî özgüllük (%95 CI)	%100 (%97,6 - %100)

Tab. 13: *ipaH* saptaması - gaita örnekleri

		Referans PCR		Toplam
		Pozitif	Negatif	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Pozitif	65	0	65
	Negatif	0	211	211
	Toplam	65	211	276

Görelî hassasiyet (%95 CI)	%100 (%94,5 - %100)
Görelî özgüllük (%95 CI)	%100 (%98,3 - %100)

Tab. 14: eae saptaması - gaita örnekleri

		Referans PCR		Toplam
		Pozitif	Negatif	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - eae	Pozitif	179	0	179
	Negatif	4	93	97
	Toplam	183	93	276

Görelî hassasiyet (%95 CI)	%97,8 (%94,5 - %100)
Görelî özgüllük (%95 CI)	%100 (%96,1 - %100)

13.2 Analitik performans özellikleri

13.2.1 Saptama sınırı (LoD %95)

Bir pozitif kontrol örneği (negatif gaita örnekleri, zenginleştirilmiş veya bir kültür örneği kullanılarak), LoD'u belirlemek amacıyla her bir hedef için beş seyreltme adımında (0,25-log adımlarla), tek bir lotta adım başına 20 replikatla ölçülmüştür. Bunun ardından bir probit analizi yapılmıştır. Daha sonra, hesaplanan LoD, hesaplanan seyreltme adımı/konsantrasyon için hedef başına 20 replikatla doğrulanmıştır.

Aşağıdaki suşlar test için kullanılmıştır:

- *stx1/stx2: Escherichia coli* D3509 (*stx2* için LoD belirlenmiştir, çünkü *stx2* hemolitik üremik sendromla ilişkilidir.)
- *ipaH: Escherichia coli* Fr1368
- *eae: Escherichia coli* DSM8695

RIDA®UNITY EHEC/EPEC tahlili UNITY sistemi üzerinde kullanılarak EHEC, STEC, EPEC ve EIEC/*Shigella* spp. DNA'sının saptanması için, aşağıdaki saptama sınırları (LoD) belirlenmiştir.

Bu ölçümlerin sonuçları Tablo 15'de gösterilmektedir.

Tab. 15: *stx1/2*, *ipaH* ve *eae* hedefleri için RIDA®UNITY EHEC/EPEC testin saptama sınırı sonuçları.

	Matris	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Gaita	476.000 CFU/mL	5300 CFU/mL	125.000 CFU/mL
	Kültür	2130 CFU/mL	798 CFU/mL	2890 CFU/mL

*CFU: Colony Forming Units

Gaita örneklerinde *stx1/2* için LoD, 476.000 CFU/mL'de belirlenmiştir.

Gaita örneklerinde *ipaH* için LoD, 5.300 CFU/mL'de belirlenmiştir.

Gaita örneklerinde *eae* için LoD, 125.000 CFU/mL'de belirlenmiştir.

Kültür örneklerinde *stx1/2* için LoD, 2.130 CFU/mL'de belirlenmiştir.

Kültür örneklerinde *ipaH* için LoD, 798 CFU/mL'de belirlenmiştir.

Kültür örneklerinde *eae* için LoD, 2.890 CFU/mL'de belirlenmiştir.

CFX96™ Dx kullanılan zenginleştirilmiş iş akışı için, bu LoD değerleri, 2-3-katlık bir LoD aralığında kaldığımız varsayımıyla doğrulanmıştır.

13.2.2 Analitik özgüllük

Etkileşen maddeler

PCR inhibitörlerinin ve etkileşen maddelerin varlığı, yalancı negatif veya geçersiz sonuçlara neden olabilir. Bu nedenle, gastrointestinal enfeksiyonlar için yaygın kullanımları nedeniyle çeşitli maddelerin var olabilecek etkileri veya ilgili örneklerde yaygın ortaya çıkışları araştırılmıştır.

Test sonuçlarını potansiyel olarak önemli ölçüde etkileyebilecek maddeler, bir etkileşim taramasında başlangıçta yüksek konsantrasyonlarda (günlük dozun üç katı veya en kötü durum simülasyonu) incelenmiştir.

Tablo 16'te listelenen maddeler için hiçbir etkileşim bulunamamıştır.

Tab. 16: Potansiyel olarak etkileşen maddeler

Potansiyel olarak etkileşen madde	Konsantrasyon
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg film kaplı tablet (azitromisin)	%0,75 [w/v]
Baryum sülfat	%18,5 [v/v]
Cologran® sıvı tatlandırıcı (sakkarin + siklamat)	%1,3 [w/v]
İnsan kanı	%5 [v/v]
Kömür tabletleri 250 mg (kömür)	%6 [w/v]
Loperamide-ratiopharm® akut (loperamid)	%0,02 [v/v]
Müsinler	%5 [w/v]
Stearik/palmitik asit	%40 [w/v]

Çapraz reaksiyonlar

Gaita matrisinde yaygın olarak bulunan çeşitli organizmalar (bakteriler, parazitler, mantarlar ve virüsler) araştırılmıştır. Bu tahlil için araştırılacak mikroorganizmalar, ya gaita örneklerinde doğal olarak ortaya çıkmaları ya da gastrointestinal patojenler olarak ilgili semptomlara neden olmaları nedeniyle seçilmiştir. Analizler için bakteri kültürleri (10^6 ve 10^9 CFU/mL arasında), mantar kültürleri, viral kültürlerin üst fazları, izolatlar ve verili organizmalar için LGC standartları kullanılmıştır.

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR, EHEC, STEC, EPEC ve EIEC/*Shigella* spp. için özgüldür. Aşağıdaki türlerle hiçbir çapraz reaksiyon saptanmamıştır (bkz. Tab. 17):

Tab. 17: Potansiyel olarak çapraz reaktiviteli organizmalar.

Organizma	Test sonucu*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenovirus 40	-	-	-
Adenovirus 41, İnsan, Tak suşu	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
Astrovirus 2	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-
<i>Campylobacter fetus</i> alt türü <i>fetus</i>	-	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	-
<i>Campylobacter lari</i> alt türü <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 Klon 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>	-	-	-

* - = negatif

** *Giardia intestinalis* ve *Giardia lamblia* aynı organizmadır.

13.2.3 Kesinlik

RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR testinin kesinliği, aşağıdaki düzeyler için belirlenmiştir.

Tahlil *içi* kesinlik: RIDA®UNITY üzerinde aynı koşullarda her birinde 20 replikat olmak üzere 5 kontrol örneğinin belirlenmesi.

Tahlil *arası* kesinlik: Yeniden üretilebilir koşullarda, farklı teknisyenler tarafından, 10 iş gününde çift halinde 20 çalışmada (günde 2 çalışma) 5 kontrol örneğinin belirlenmesi.

Tahlil *arası* ve tahlil *içi* kesinlik testi, üç farklı lot kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR testi, RIDA®UNITY ve CFX96™ Dx üzerinde kullanılarak yapılan her bir ölçümden elde edilen varyasyon katsayısı %4,29 olmuştur.

Tab. 18: Gaita örneklerinden *stx1/2* için RIDA®UNITY EHEC/EPEC testinin kesinlik sonuçları (RIDA®UNITY sistemi).

Ct	Ortalama değer/CV	Tahlil <i>içi</i>			Tahlil <i>arası</i>			Lot <i>arası</i>
		Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotları 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 (%)	Yok	Yok	Yok	%2,15	%2,23	%2,26	%2,28
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	CV (%)	%2,34	%2,05	2,13	Yok	Yok	Yok	Yok

Tab. 19: Gaita örneklerinden *stx1/2* için RIDA®UNITY EHEC/EPEC testinin kesinlik sonuçları (CFX96™ Dx).

Ct	Ortalama değer/CV	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası
		Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotları 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 (%)	Yok	Yok	Yok	%2,96	%2,90	%2,76	%3,04
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	CV (%)	%1,52	%1,59	%3,43	Yok	Yok	Yok	Yok

Tab. 20: Gaita örneklerinden *ipaH* için RIDA®UNITY EHEC/EPEC testinin kesinlik sonuçları (RIDA®UNITY sistemi).

Ct	Ortalama değer/CV	Tahsil içi			Tahsil arası			Lot arası
		Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotları 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 (%)	Yok	Yok	Yok	%1,44	%1,34	%1,45	%1,42
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	CV (%)	%0,88	%0,77	%0,69	Yok	Yok	Yok	Yok

Tab. 21: Gaita örneklerinden *ipaH* için RIDA®UNITY EHEC/EPEC testinin kesinlik sonuçları (CFX96™ Dx).

Ct	Ortalama değer/CV	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası
		Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotları 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 (%)	Yok	Yok	Yok	%1,27	%1,45	%1,36	%1,36
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	CV (%)	%0,89	%0,53	%0,70	Yok	Yok	Yok	Yok

Tab. 22: Gaita örneklerinden eae için RIDA®UNITY EHEC/EPEC testinin kesinlik sonuçları (RIDA®UNITY sistemi).

Ct	Ortalama değer/CV	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası
		Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotları 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 (%)	Yok	Yok	Yok	%1,81	%1,78	%1,81	%1,80
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	CV (%)	%1,24	%0,78	%1,18	Yok	Yok	Yok	Yok

Tab. 23: Gaita örneklerinden *eae* için RIDA®UNITY EHEC/EPEC testinin kesinlik sonuçları (CFX96™ Dx).

Ct	Ortalama değer/CV	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası
		Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotu 1	Kit lotu 2	Kit lotu 3	Kit lotları 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 (%)	Yok	Yok	Yok	%1,32	%1,58	%1,48	%1,47
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	CV (%)	%0,73	%0,55	%0,68	Yok	Yok	Yok	Yok

13.2.4 Analitik reaktivite

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR testinin reaktivitesi, tanımlanmış bir *E. coli* ve *Shigella* şuşları paneli üzerinde test edilmiştir (bkz. Tab. 24).

Tab. 24: Analitik reaktivite testi

Suş	Sonuç*		
	<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>	-	+	-










* + = pozitif (en az 3 replikattan 2'si pozitif)
- = negatif

14. Sürüm geçmişi

Sürüm numarası	Bölüm ve adlandırma
2022-06-14	Yayın sürümü

15. Simgelerin açıklamaları

Genel simgeler

	<i>In vitro</i> tanı amaçlı kullanım içindir
	Kullanma talimatlarını izleyin
	Parti numarası
	Son kullanma tarihi
	Saklama sıcaklığı
	Madde numarası
	Test sayısı
	Üretim tarihi
	Üretici firma

Teste özel simgeler

	Reaksiyon Karışımı
	Enzim Karışımı
	Negatif kontrol
	Pozitif kontrol

16. Referanslar

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).