

ProSpecT

Campylobacter

Microplate Assay

REF	R2476096	96 tests
------------	----------------	----------

DA

1. TILSIGTET ANVENDELSE

ProSpecT™ Campylobacter Microplate Assay er en IN VITRO mikropfade enzymimmunoassay (EIA) til kvalitativ påvisning af specifikt antigen for *campylobacter* i fæcesprøver og bouillonberigede fæceskulturer. ProSpecT Campylobacter Microplate Assay er beregnet til brug som en hjælp til diagnosticering af *campylobacter*-infektioner.

2. SAMMENDRAG

Den enteropatogene bakterie *campylobacter* jejuni er kendt som en af de væsentligste ætiologiske organismer bag akut diarré hos mennesker^{1,2,3}. Den er den hyppigste årsag til bakteriel diarré i USA og overgår både *salmonella* og *shigella* tilsammen^{4,5}. Skønt lidelsen er udbredt over hele verden, er den særlig alvorlig i ulande. *Campylobacter jejuni*-infektioner forårsager diarré, som kan være vandig og kan indeholde blod, almindeligvis okkult, og fækale leukocytter⁶. Andre symptomer omfatter feber, mavesmerter, kvalme, hovedpine og muskelsmerter. Sygdommen bryder ud 2-5 dage efter indtagelse af forurenede føde eller vand og kan vare 7-10 dage. De fleste infektioner er selvbeholdende, og der kræves ikke behandling med antibiotika⁹. Komplikationer forekommer sjældent, dog er det rapporteret, at infektioner kan forekomme samtidig med reaktiv arthritis, hæmolytisk uræmisk syndrom, meningitis, tilbagevendende colitis, akut cholecystitis og Guillain-Barre syndrom⁴. Børn under 5 år og unge voksne (15-29) angribes hyppigere af *campylobacter jejuni*-infektioner end andre aldersgrupper.

Diagnosticering af campylobacteriosis-infektioner bygger i øjeblikket på isolering og dyrkning af organismen i beriget bouillon og selektive medier, der indeholder en række forskellige supplerende antibiotika i en mikro-aerofil atmosfære med 5% ilt og 10% kuldioxid. Isolering kan tage fra 2 dage til en uge.

Specifikt antigen for campylobacter (Campylobacter Specific Antigen - SA) er et *campylobacter*-overfladeantigen. Western-blotanalyse afslører 2 bånd med molekylvægt på ca. 15 Kd og 66 Kd. Krydsreaktivitetsstudier indikerer, at dette er et antigen, der er fælles for *campylobacter jejuni* og *campylobacter coli*.

3. TESTPRINCIP

ProSpecT Campylobacter Microplate Assay er et fastfase immunoassay til detektion af specifikt antigen for campylobacter. Fortyndede afføringsprøver anbringes i aftagelige mikrobåndene, i hvilke der er bundet et kanin-polyklont anti-*campylobacter*-antistof. Hvis der findes specifikt antigen for *campylobacter*, 'indfanges' det af det bundne antistof. Mikrobåndene inkuberes og vaskes for at fjerne ubundet materiale. Der tilsættes enzymkonjugat (polyklont kanin anti-specifikt *campylobacter*-antigen mærket med peberrodsperoxidasenzym). Mikrobåndene inkuberes og vaskes derefter for at fjerne ubundet enzymkonjugat. I en positiv reaktion binder bundet specifikt antigen for *campylobacter* enzymkonjugatet til mikrobånden.

Substratet for enzymet, 3,3',5,5'-tetrametylbenzidin (TMB) tilsættes. I en positiv reaktion konverterer det enzym, der er bundet til mikrobånden af *specifikt antigen for campylobacter*, substratet til et farvet reaktionsprodukt. Farvningen kan aflæses visuelt eller med spektrofotometri. I en negativ reaktion er der intet specifikt antigen for *campylobacter*, eller der er et utilstrækkeligt niveau af antigen til at binde konjugatet, og der udvikles ikke noget farvet reaktionsprodukt.

4. SYMBOLFORKLARING

REF	Katalognummer
IVD	In vitro diagnostisk medicinsk udstyr
	Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests
	Se brugsanvisningen
	Opbevaringstemperatur
LOT	Batchnummer (partinummer)
	Anvendes senest (udløbsdato)
	Producent
DILUTED SAMPLE	Fortyndet prøve

5. KITTETS INDHOLD, KLARGØRING TIL BRUG SAMT OPBEVARING

ProSpecT Campylobacter Microplate Assay indeholder tilstrækkeligt med reagenter til udførelse af  96 tests.

Se også Forholdsregler, afsnit 6.

Udløbsdatoen for det enkelte kit er angivet på emballagens mærkat.

Opbevar alle dele ved 2 til 8 °C.

Inden brug skal alle reagenter bringes til stuetemperatur (20 - 25 °C) og blandes forsigtigt. Stil ubrugte reagenter tilbage i køleskab efter brug.

Alle reagenter med undtagelse af vaskebufferen leveres i brugskoncentration. Reagenter kan dispenseres direkte fra dråbeflaskerne eller hældes ud til brug sammen med multikanalspipetter. Hvis der er hældt for meget reagent op, skal det overskydende reagent kasseres. Overskydende reagent må ikke hældes tilbage i flasken.



Brugsanvisning

Overførselspipetter

Holder og låg til mikroladestrimler
Procedurekort

Mikroplade* (8 brønde/strimmel)

6 strimler (R2476048) eller 12 strimler (R2476096) belagt med kanin polyklont anti-*campylobacter*-antistof. Ubrugte mikroladestrimler skal opbevares i folieposen, som indeholder tørremiddel, for at undgå fugt.

Enzymkonjugat*

Én dråbeflaske med 12 ml (R2476048) eller 25 ml (R2476096) af peberrodsperoxidasemærket med kanin-polyklont campylobacter-antigen med antimikrobielle stoffer.

CONTROL +

CONTROL -

SAMPLE DILUENT

WASH BUFFER (x10)

SUBSTRATE TMB

STOP SOLUTION

***Bemærk:** Bland ikke reagenter fra kit med forskellige partinumre.
6. FORHOLDSREGLER

IVD

Reagenterne er kun til *in vitro* diagnostik.

Må kun anvendes af uddannet personale.

Se sikkerhedsdatabladet og produktmærkningen vedrørende oplysninger om potentielt farlige komponenter.

OPLYSNINGER OM SUNDHED OG SIKKERHED

- Reagenter er fremstillet af biologisk materiale og skal håndteres som potentielt smittefarligt materiale. Skal bortskaffes som smittefarligt materiale.
- Pipetter ikke materialer med munden. Brug engangshandsker og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og udførelse af assay. Vask hænderne grundigt, når arbejdet er færdigt.
- Prøver kan indeholde potentielt smittefarlige materialer og skal håndteres i overensstemmelse hermed (se f.eks. anbefalingerne vedrørende Biosafety Level 2 i CDC/NIH manualen "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 5th Edition.

Positiv kontrol

En dråbeflaske med 4 ml inaktiveret *campylobacter jejuni*-kultursupernatant opløst i en bufferopløsning med føtal bovins serum og antimikrobielle stoffer.

Negativ kontrol

Én dråbeflaske med 4 ml bufferopløsning med kanins serum, et rødt farvestof og antimikrobielle stoffer.

Bakteriel prøvediluent

Én flaske med 120 ml bufferopløsning med kanins serum, et rødt farvestof og antimikrobielle stoffer.

Vaskebuffer

Én flaske med 120 ml (x10) koncentreret bufferopløsning med antimikrobielle stoffer. Fortynd (x10) vaskebufferkoncentrat til (x1) ved at tilsætte 1 del koncentrat til 9 dele destilleret eller deioniseret vand. Fortyndet vaskebuffer er stabilt i op til 1 måned, når det opbevares ved 2 - 8 °C.

Farvestof

Én dråbeflaske med 12 ml (R2476048) eller 25 ml (R2476096) 3,3',5,5'-tetrametylbenzidin (TMB) i buffer.

Farvestoffet bør opbevares i og anvendes fra den lysbeskyttende flaske, som det leveres i. Hvis en afmålt portion fjernes fra den oprindelige flaske af en eller anden grund, må ubenyttet farvestof ikke hældes tilbage i den oprindelige flaske.

Stopopløsning

Én dråbeflaske med 12 ml 0,46 mol/l svovlsyre.

6.4. Vaskebuffer indeholder potentielt hudirriterende stof (< 1% v/v). Undgå kontakt med huden. Brug engangshandsker af vinyl eller nitril.

6.5. Bortskaf brugt vaskebuffer i passende beholdere til hospitalsaffald.

ANALYTISKE FORHOLDSREGLER

6.6. Alle anvisninger i nærværende brugsanvisning skal læses og følges omhyggeligt.

6.7. Reagenter leveres i den nødvendige brugskoncentration med undtagelse af vaskebufferkoncentratet. Undlad at fortynde reagenter undtagen i tilfælde, hvor instruktionerne angiver fortynding.

6.8. Reagenter må ikke anvendes efter udløbsdatoen. Udløbsdatoen er angivet på etiketten på den enkelte reagent. Det kan påvirke resultaternes nøjagtighed, hvis reagenter bruges efter udløbsdatoen

6.9. Følgende almindelige reagenter kan bruges sammen med hele ProSpecT produktserien: vaskebuffer, farvestof og stopopløsning.

6.10. Mikrobiel kontaminering af reagenter kan give nedsat assay-nøjagtighed. Undgå mikrobiel kontaminering af reagenter ved at bruge sterile engangspipetter, når afmålte portioner tages fra flasker med reagent.

6.11. Reagenter og prøver skal bringes til stuetemperatur (20 - 25 °C) inden brug.

6.12. Mikroladestrimler skal opbevares i den genlukkelige foliepose med tørremiddel, så de beskyttes mod fugt.

6.13. Afføringsprøver skal blandes grundigt før behandling af prøven for at sikre, at prøven er repræsentativ for materialet. UNDLAD AT KONCENTRERE PRØVER FØR TESTNING.

6.14. Farvestoffet er lysfølsomt. Hvis reagenten udsættes for lys og udvikler farvning, skal det kasseres.

6.15. Personer, der er farveblinde eller har nedsat syn, kan muligvis ikke aflæse testresultatet visuelt og bør derfor benytte spektrofotometriske målinger ved tolkning af resultater.

6.16. Reagenterne skal tilsættes til testbrøndene i samme rækkefølge under hele proceduren. For at undgå kontaminering må flaskens spids ikke komme i berøring med væsken i brøndene.

6.17. Der skal tages omhyggelig tid på hver inkubation. Start tidtagningen, når der er tilsat reagent til den sidste brønd på hver mikropfade, der testes. For at opnå nøjagtig tidtagning må der ikke arbejdes med mere end tre 96-brøndsplader ad gangen. Manglende overholdelse af den fastlagte procedure kan ændre assay-kvaliteten.

6.18. Det er vigtigt at holde dråbeflaskerne lodret, og at dråben dannes ved dysens spids. Hvis dysen bliver våd, vil der blive dannet en dråbe med forkert volumen omkring enden og ikke ved spidsen. Hvis dette sker, skal dysen tørres, før arbejdet fortsættes.

7. INDSAMLING AF FÆCESPRØVER

Der opnås optimale resultater ved direkte analyse af fæcesprøver, hvis prøverne analyseres straks efter modtagelsen i laboratoriet. Når det gælder bouillonberiget analyse, bør afføringsprøven tilsættes til den berigede bouillon, umiddelbart efter at prøven modtages i laboratoriet.

FRISK Ukonserverede afføringsprøver kan opbevares ved 2 - 8 °C og testes inden for 72 timer.

Prøver kan fortyndes 1:3 i bakteriel prøvediluent og opbevares nedkølet ved 2 - 8 °C i op til 72 timer, før de analyseres.

FROSSEN Opbevar afføringsprøver ved -20 °C eller koldere, hvis analysen vil blive udført efter mere end 72 timer. Undgå gentagen optøning og nedfrysning.

CARY BLAIR Afføringsprøver, der er indsamlet i Cary Blair transportmedium bør nedkøles til 2 - 8 °C og analyseres inden for en uge efter indsamlingen.

8. TESTPROCEDURE
MEDFØLGENDE NØDVENDIGE MATERIALER
Se Kittets indhold, afsnit 5
NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER

Beholdere til indsamling af afføringsprøver
Stopur, der måler i minutter
Vaskeflaske til vaskebuffer
Destilleret eller deioniseret vand

VALGRI MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER
Mikropladelæser, der kan aflæse 450 nm eller 450/620 til 650 nm Applikatorpinde med bomulds- eller rayonspids Mikropipette til afgivelse af volumener op til 200 µl Engangstestør i plast eller glas Hvirvelmikser med pladeadapter eller pladeryster

PROCEDURE

- 8.1. **Klargøring af prøve:** Prøver i Cary Blair transportmedie kan tilsættes direkte i mikrobrøndene til tests (se Trin 8.4 herunder). Sørg for at blande prøverne i transportmedie, før de overføres til mikrobrøndene.
- Friske afføringsprøver og bouillonberigede kulturer må ikke fortyndes (se Boks **A** eller **B** herunder).

A	Direkte afføringsanalyse ved friske ukonserverede prøver
1	Tilsæt 0,6 ml bakteriel prøvediluent til et rent engangsrør af plast eller glas.
2	Bland afføringen så grundigt som muligt.
3	For flydende, halvfast afføring skal der benyttes en overførselspipette til at tilsætte cirka 0,3 ml (tredje mærke fra pipettens spids). Udtøm prøven i bakteriel prøvediluent, og bland ved at trække op og ned én gang. Lad overførselspipetten blive i røret.
4	For prøver i fast form skal der benyttes en applikatorpind til at tilsætte 0,3 g (~6 mm diameter). Anvend applikatorpinden til at emulgere afføringen i den bakterielle prøvediluent. Indfør en overførselspipette i røret, og bland rørets indhold ved at trække op og ned én gang. Lad overførselspipetten blive i røret.
5	 GÅ TIL TRIN 8.2

B	Bouillonmetode for bouillonberigede prøver
1	Pod 150 µl eller 3 dråber afføring i 5 ml GN Broth, Hajna.
2	Inkuber ved 35 ± 2 °C i normal atmosfærisk luft i 18 - 24 timer.
3	Tilsæt 0,6 ml bakteriel prøvediluent til et rent 12 x 75 mm rør.

4	Overfør 0,3 ml bouillonkultur til 0,6 ml bakteriel prøvediluent ved hjælp af en overførselspipette. Lad overførselspipetten blive i røret.
5	 GÅ TIL TRIN 8.2

- 8.2. Åbn folieposen, tag det ønskede antal strimler ud, og sæt dem i en holder til mikropladestrimler. Brug én brønd til den negative kontrol og én til den positive kontrol. Hvis der anvendes mindre end 8 brønde, skal det nødvendige antal brønde brækkes af en strimmel. Læg de ubrugte brønde tilbage i folieposen med tørremiddel. LUK POSEN OMHYGGELIGT FOR AT HINDRE FUGT, OG LÆG DEN TILBAGE I KØLESKABET.
- 8.3. Tilsæt **4 dråber** (200 µl) negativ kontrol til brønd A1. Tilsæt **4 dråber** (200 µl) positiv kontrol til brønd B1.
- 8.4. Brug en overførselspipette til at tilsætte **4 dråber** fortyndet prøve eller beriget bouillonkultur eller **4 dråber** prøve i transportmedium til hver brønd. Bemærk: Anbring overførselspipettens åbning et lille stykke inde i brønden for at undgå at stænke i tilstødende brønde.
- 8.5. **Tildæk** mikropladen, og inkuber ved stuetemperatur (20 - 25 °C) i **60 minutter**. Start tidtagningen efter tilsætning af sidste prøve.
- 8.6. Ryst eller aspirer indholdet ud af brøndene. Vask brøndene ved at fylde hver brønd med **fortyndet** vaskebuffer (~350-400 µl/brønd). Ryst eller aspirer al væske ud af brøndene efter hver vask. Brøndene skal vaskes i alt **3 gange**. Efter den sidste vask fjernes indholdet, og pladen aspireres eller bankes på rene papirhåndklæder. Fjern så meget vaskebuffer som muligt, men lad ikke brøndene tørre ud på noget tidspunkt.
- 8.7. Tilsæt **4 dråber** (200 µl) enzymkonjugat til hver brønd.
- 8.8. **Tildæk** mikropladen, og inkuber ved stuetemperatur (20 - 25 °C) i **30 minutter**.
- 8.9. Ryst eller aspirer og vask hver brønd **5 gange** som i Trin 8.6.
- 8.10. Tilsæt **4 dråber** (200 µl) farve stof til hver brønd.
- 8.11. **Tildæk** mikropladen, og inkuber ved stuetemperatur (20 - 25 °C) i **10 minutter**.
- 8.12. Tilsæt **1 dråbe** (50 µl) stopopløsning til hver brønd. Knips forsigtigt på brøndene, eller brug en hvirvelmikser, indtil den gule farve er ensartet. Aflæs reaktionerne inden for **10 minutter** efter tilsætning af stopopløsningen.
- 8.13. Aflæs visuelt eller med spektrofotometri ved 450 nm (én bølgelængde) eller 450/620 til 650 nm (to bølgelængder).

9. KVALITETSKONTROL
Positiv og negativ kontrol skal gennemføres, hver gang testen udføres. De positive og negative kontroller fungerer som både reagent- og procedurekontroller. Kontrollerne har til hensigt at monitorere for væsentlige reagentfejl. Den positive kontrol vil ikke sikre nøjagtighed ved assay-cut-off.

Den optiske densitet (O.D.) af den negative kontrol skal være < 0,100 ved 450 nm eller < 0,070 ved 450/620 til 650 nm. Den negative kontrol skal være farveløs ved visuel aflæsning. Hvis der i den negative kontrol er gul farve svarende til 1+ eller mere på procedurekortet, skal testen gentages med stor omhyggelighed ved vaskeproceduren.

Den positive kontrols O.D. skal være > 0,500 ved 450 nm eller 450/620 til 650 nm. Visuelt skal farveintensiteten i den

positive kontrol være lig med eller større end 2+ reaktionen på procedurekortet. Hvis der er mindre farve, så tilkald teknisk assistance.

10. RESULTATER
Se vedlagte procedurekort vedrørende fortolkning af farver.
VISUEL

- 10.1. Aflæs testresultaterne ved at sammenligne med reaktionsfarverne på procedurekortet.
Positiv: gul farve med mindst 1+ intensitet
Negativ: farveløs
Ubestemmelig: svag gul farve, mindre end 1+ reaktionen.
- 10.2. Tolkning af visuelle resultater:
Positiv: Hvis der udvikles gul farve med mindst 1+ intensitet i prøvebrønden, indeholder prøven *specifikt antigen for campylobacter*, og testen er positiv.
Negativ: En farveløs reaktion er et negativt resultat og indikerer, at der ikke er *specifikt antigen for campylobacter* i den testede prøve, eller at niveauet af *specifikt antigen for campylobacter* i prøven er for lavt til at kunne detekteres.
Ubestemmelig: Hvis der udvikles en svag gul farve, der er mindre end 1+ reaktionen, er prøven ubestemmelig. Ved ubestemmeligt resultat skal analysen gentages. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen er positivt, er prøven positiv. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen er negativt, er prøven negativ. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen stadig er ubestemmeligt, skal der skaffes og analyseres endnu en prøve.

SPEKTROFOTOMETRI		
10.3. Aflæs resultaterne ved én bølgelængde (450 nm) eller to bølgelængder (450/620 til 650 nm).		
10.4. Aflæs testresultaterne:		
A. Én bølgelængde	Frisk afføring	Transportmedie/ bouillon
Negativ:	OD < 0,130	< 0,100
Ubestemmelig:	OD 0,130 - 0,170	0,100 - 0,130
Positiv:	OD > 0,170	> 0,130
B. To bølgelængder	Frisk afføring	Transportmedie/ bouillon
Negativ:	OD < 0,100	< 0,070
Ubestemmelig:	OD 0,100 - 0,140	0,070 - 0,100
Positiv:	OD > 0,140	> 0,100

- 10.5. Tolkning af spektrofotometriske resultater:
Positiv: En O.D. måling, der er større end det indikerede cut-off for en eller to bølgelængder ud fra prøvetypen, er positiv og indikerer tilstedeværelsen af *specifikt campylobacter* antigen.
Negativ: En O.D. måling, der er mindre end det indikerede cut-off for en eller to bølgelængder ud fra prøvetypen, er et negativt resultat og indikerer, at der ikke er *specifikt campylobacter* antigen i den testede prøve, eller at niveauet af *specifikt antistof* for campylobacter i prøven er for lavt til at kunne detekteres.
Ubestemmelig: O.D. målinger, der er i det indikerede område for ubestemmeligt ud fra prøvetype, er ubestemmelige. Ved ubestemmeligt resultat skal analysen gentages. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen er positivt, er prøven positiv. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen er negativt, er prøven negativ. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen stadig er ubestemmeligt, skal der skaffes og analyseres endnu en prøve.

Et ubestemmeligt resultat forekommer, når både visuel og spetrofotometrisk måling stemmer overens. Ved ubestemmeligt resultat skal analysen gentages. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen er positivt, er prøven positiv. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen er negativt, er prøven negativ. Hvis resultatet ved gentagelse af analysen stadig er ubestemmeligt, skal der skaffes og analyseres endnu en prøve.

Bemærk: Brønde, der måtte være visuelt klare, men giver en O.D. aflæsning, der ikke stemmer med den visuelle fortolkning, skal betragtes som en afvigelse og undersøges for forekomsten af bobler, småpartikler i brønden eller en uigennemsigtig film på brøndens bund. Filmen kan fjernes ved at aftørre undersiden af brønden, hvorefter O.D. skal aflæses igen. Hvis afvigelsen mellem visuel aflæsning og O.D. aflæsningen varer ved, skal testen gentages.

11. TESTENS BEGRÆNSNINGER
Gyldigheden af de resultater, der opnås med ProSpecT Campylobacter Microplate Assay, afhænger af, at kontrolreaktionerne fungerer som forventet. Se Kvalitetskontrol , afsnit 9.

Et negativt testresultat udelukker ikke muligheden for tilstedeværelse af *campylobacter* og kan forekomme, når antigenniveauet i prøven er under testens detektionsniveau. Korrelation mellem mængden af antigen i en prøve og den kliniske præsentation er ikke blevet påvist.

Som det gælder for alle IN VITRO diagnostiske tests, skal resultaterne tolkes af klinikeren sammen med kliniske fund og/eller andre laboratorieresultater.

Korrekt indsamling og håndtering af prøver er af afgørende betydning for at opnå optimal assay-ydelse. Optimale testresultater opnås med prøver, der testes så hurtigt efter indsamlingen som muligt. Se **Indsamling af fæcesprøver** Afsnit 7.

ProSpecT Campylobacter Microplate Assay skelner ikke mellem *C. jejuni* og *C. coli*, og der er andre serotyper og underarter, der måske og måske ikke bliver detekteret. Det vides ikke, om *C. upsalensis*, *C. hyointestinalis* eller *C. helveticus* krydsreagerer.

12. FORVENTEDE VÆRDIER
<i>Campylobacter jejuni</i> er den hyppigste årsag til bakteriel diarré i USA, og der er flest infektioner i perioden sommer til efterår ⁵ . Infektioner fås almindeligvis via indtagelse af forurenede mad eller vand. Analyser af prøver fra frosset fjerkræ i detailhandelen har vist forureningsfrekvenser på 30 til 90% ⁶ . <i>C. jejuni</i> er vidt udbredt i dyreriget og er blevet isoleret fra en række forskellige husdyr, fjerkræ og praktisk talt alle vilde fuglearter. Overførsel ved seksuel kontakt eller via fæces-oral vej er også blevet rapporteret såvel som via indtagelse af forurenede overfladevand ⁵ . Børn under 5 år og unge voksne (15-29) angribes hyppigere end andre aldersgrupper. En undersøgelse af 601 institutioner, der for nylig blev gennemført af American Pathologists, viste, at der kunne identificeres bakterielt smitstof i 6,4% af de 59.500 indsamlede prøver ⁷ . <i>Campylobacter</i> blev identificeret i 1,5% af prøverne, salmonella i 1,15% og shigella i 0,9%. Prævalensrater for <i>C. jejuni</i> i USA ligger mellem 1,0 og 4,6% ³ . Der blev også fundet så høje rater som 2,9% i en 4-års undersøgelse i Schweiz ⁸ .

13. PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA
SENSITIVITET OG SPECIFICITET
ProSpecT Campylobacter Microplate Assay blev evalueret i tre geografisk adskilte kliniske institutioner i USA og Canada. Institutionerne var et storbyhospital i Illinois, et stort

lægelaboratorium i New Jersey og et centralt analyselaboratorium i Ontario, Canada. Alle prøver blev analyseret med brug af kultur og biokemisk bestemmelse for at bekræfte en sikker isolering af *Campylobacter*. De resultater, der blev opnået i hver institution efter gentagelse af ubestemmelige resultater og afvigende måleresultater som angivet i nærværende brugsanvisning, er vist i Tabel 1.

Tabel 1. ProSpecT Campylobacter Microplate Assay sammenlignet med kulturbestemmelse på direkte afføringsprøver.

INSTITUTION 1 KULTURRESULTATER				
		+	-	
ProSpecT	+	70	6	
Mikroplade	-	0	337	
bestemmelse		70	343	413

Sensitivitet: 100%
Specificitet: 98,3%

INSTITUTION 2 KULTURRESULTATER				
		+	-	
ProSpecT	+	10	0	
Mikroplade	-	0	214	
bestemmelse		10	214	224

Sensitivitet: 100%
Specificitet: 100%

INSTITUTION 3 KULTURRESULTATER				
		+	-	
ProSpecT	+	49	2	
Mikroplade	-	0	361	
bestemmelse		49	363	412

Sensitivitet: 100%
Specificitet: 99,4%

Tabel 2: Resultater med kombinerede data fra tre kliniske undersøgelsessteder på direkte afføringsprøver.

Direkte				
		+	-	
ProSpecT	+	129	8	
Mikroplade	-	0	912	
bestemmelse		129	920	1049

Sensitivitet: 100% (97,2 - 100%)
Specificitet: 99,1% (98,3 - 99,6%)
Korrelation: 99,2% (98,5 - 99,7%)

Som vist i Tabel 2 var der 99,2% korrelation mellem ProSpecT Campylobacter Microplate Assay og kultur, når resultater for alle tre institutioner kombineres, og alle ubestemmelige og afvigende måleresultater afklares. Alle EIA afvigende måleresultater blev afklaret som negative efter gentagen analyse. Der var én prøve, som fra start var EIA-positiv, kultur-negativ. Ved gentagen analyse var kulturen positiv, og prøven blev afklaret som ægte positiv. Af de resterende 8 EIA-positive, kultur-negative prøver var én EIA-negativ ved gentagen analyse. De andre 7 var positive ved gentagelse.

På institution 2 blev alle prøver analyseret med direkte afføringsbestemmelse og desuden beriget natten over i GN Broth, Hajna ved 35 ± 2 °C i normal atmosfærisk luft. Den berigede kultur blev derefter kørt igennem ProSpecT Campylobacter Microplate Assay og sammenlignet ved brug af standardafføringskultur-metodologien. Resultaterne er vist i Tabel 3.

Tabel 3: ProSpecT Campylobacter Microplate Assay sammenlignet med kulturbestemmelse på bouillonberiget afføringskultur.

INSTITUTION 2 KULTURRESULTATER				
		+	-	
ProSpecT	+	9	0	
Mikroplade	-	1	214	
bestemmelse		10	214	224

Sensitivitet: 90,0% (55,5 - 99,9%)
Specificitet: 100% (98,3 - 100%)
Korrelation: 99,6% (97,5 - 100%)

Som vist i Tabel 3 var der 99,6% korrelation mellem ProSpecT Campylobacter Microplate Assay og kultur, når prøverne blev beriget i GN Broth, Hajna, og alle afvigende resultater blev afklaret. Alle EIA ubestemmelige og afvigende måleresultater blev afklaret som negative efter gentagen analyse.

ANALYTISK SENSITIVITET
ProSpecT Campylobacter Microplate Assay detekterer ca. 2,81 ng/ml *Campylobacter* specifik antigen og ca. 10⁵ CFU/ml.

REPRODUCERBARHED
Inter-assay eller kørsel-til-kørsel koefficienten for variation (CV) for ProSpecT Campylobacter Microplate Assay blev evalueret ved at vælge én negativ og tre positive prøver med varierende optisk densitet. Hver prøve blev analyseret i 22-24 brønde/kørsel i tre på hinanden følgende runder. Den gennemsnitlige inter-assay CV var 11,4%.

Prøve	Gennemsnitlig O.D.	Standardafvigelse	% CV
1	1,325	0,033	9,6 %
2	0,535	0,070	13,1 %
3	0,342	0,050	14,6 %
4	0,045	0,004	8,4 %

Intra-assay eller inden-for-kørsel CV blev evalueret ved at analysere 22-24 brønde med hver 4 prøver. Den gennemsnitlige intra-assay CV var 4,0%.

Prøve	Gennemsnitlig O.D.	Standardafvigelse	% CV
1	1,268	0,033	2,61 %
2	0,501	0,015	2,95 %
3	0,320	0,009	2,84 %
4	0,047	0,004	7,70 %

KRYDSREAKTIVITET
Der var ingen krydsreaktion, når et bredt udvalg af organismer fra den menneskelige tarms mikroflora blev analyseret med ProSpecT Campylobacter Microplate Assay. Analyserne blev udført ved at pøde de herunder nævnte organismer i *Campylobacter jejuni*-negativ og -positiv afføring. Bakterier blev podet i koncentrationer >1 x 10⁷ CFU/ml afføring.

Arcobacter butzleri ATCC® 49616
Campylobacter curvis ATCC® 35224
Campylobacter fetus ATCC® 19438
Campylobacter lari ATCC® 35221
Campylobacter rectus ATCC® 33238
Campylobacter sputorum ATCC® 35980
Citrobacter braakii ATCC® 43162
Escherichia coli, EHEC, ATCC® 43890 (O157:H7)
Escherichia coli, EIEC, ATCC® 43893 (O124:NM)

Escherichia coli, EPEC, ATCC® 12014 (O55:NM)
Escherichia coli, EPEC, ATCC® 33780 (O111:NM)
Escherichia coli, ETEC/EPEC, ATCC® 43887 (O111:NM)
Escherichia coli, Stx negative, ATCC® 25922
Escherichia hermannii ATCC® 33660
Enterobacter cloacae ATCC® 13047
Enterococcus faecalis ATCC® 49149
Helicobacter cinaedi ATCC® 35683
Helicobacter pylori ATCC® 43504
Klebsiella pneumoniae ATCC® 27736
Proteus vulgaris ATCC® 33420
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Salmonella typhimurium SA 972229
Serratia liquefaciens ATCC® 27592
Shigella dysenteriae ATCC® 49347
Shigella flexneri ATCC® 25929
Shigella sonnei ATCC® 25931
Staphylococcus aureus ATCC® 25923
Yersinia enterocolitica ATCC® 23715

14. LITTERATURLISTE

- Guerrant, R.L. and D.A. Bobak. 1991.**
Review Article, Medical Progress, Bacterial and Protozoal Gastroenteritis. N. Engl. J. Med. 325(5): 327-340.
- Mitchell, J.E. and M.M. Skelton. 1988.**
Diarrhoeal Infections. Am. Fam. Phys. May 37(5): 195-207.
- Guerrant, R.L., et al. 1985.**
Evaluation and Diagnosis of Acute Infectious Diarrhoea. Am. J. Med. 78(6B): 91-98.
- Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook, Campylobacter jejuni. 1992.**
Bad Bug Book, <http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap4.htm>.
- Cohen, M.L., 1988.**
The Epidemiology of Diarrhoeal Disease in the United States Infectious Diarrhoea, Division of Bacterial Disease, CDC, 557-570.
- Gilligan, P.H., et al, April 1992.**
Laboratory Diagnosis of Bacterial Diarrhoea. ASM, Cumitech 12A: 8-10.
- Valenstein, P., et al, 1996.**
The Use and Abuse of Routine Stool Microbiology. Arch. Pathol. Lab. Med., 120: 206-211.
- Rohner, P., et al, 1997.**
Etiological Agents of Infectious Diarrhoea: Implications for Requests for Microbial Culture. J. Clin. Microbiol. 35(6): 1427-1432.
- Williams, E.K., 1986.**
Acute Infectious Diarrhoea. II. Diagnosis, Treatment and Prevention. Pediatr. Infect. Dis. 5(4): 458-465.

ProSpecT er et registreret varemærke

ATCC® er et registreret varemærke tilhørende American Type Culture Collection



Oxid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24 8PW UK

For teknisk assistance kontakt den lokale distributør.

IFU X7595A, Revised December 2012