

ProSpecT

Campylobacter

mikroplateanalyse

REF

R247609696 tester

NO

1. BRUKSOMRÅDE

ProSpecT™ Campylobacter mikroplateanalyse er en IN VITRO mikroplate-enzymimmunanalyse (EIA) for kvalitativ påvisning av *Campylobacter*-spesifikt antigen i fecessprøver og buljonganrikede feceskulturer. ProSpecT Campylobacter mikroplateanalyse er beregnet på bruk som hjelpemiddel i diagnostiseringen av *Campylobacter*-infeksjoner.

2. SAMMENDRAG

Den enteropatogene bakterien *Campylobacter jejuni* gjenkjennes som et av de primære etiologiske stoffene ved akutt diaré hos mennesker^{1,2,3}. Det er den vanligste årsaken til bakteriell diaré i USA, og overgår både Salmonella og Shigella kombinert^{4,5}. Selv om sykdommen er utbredt på verdensbasis, er den spesielt alvorlig i utviklingsland. *Campylobacter jejuni*-infeksjoner forårsaker diaré som kan være vannaktig og inneholde blod, vanligvis okkult, og leukocytter i avføringen⁶. Andre symptomer er feber, mageverk, kvalme, hodepine og muskelsmerte. Sykdommen oppstår 2-5 dager etter inntak av kontaminert mat eller vann, og kan vare i minst 7-10 dager. De fleste infeksjoner er selvbegrensende, og antibiotikabehandling er ikke nødvendig⁹. Komplikasjoner er sjeldne, men det er rapportert om infeksjoner samtidig med reaktiv artritt, hemolytisk-uremisk syndrom, meningitt, tilbakevendende kolitt, akutt kolecystitt og Guillain-Barrés syndrom⁴. Barn under 5 år og unge voksne (15-29) rammes oftere av *Campylobacter jejuni*-infeksjoner enn andre aldersgrupper.

Diagnostisering av campylobacteriose-infeksjoner beror for øyeblikket på isolering og dyrking av organismen i buljonganrikning og selektive medier som inneholder en rekke antibiotikasupplementer i en mikroaerofil atmosfære med 5 % oksygen og 10 % karbondioksid. Isolering kan ta 2 dager til en uke.

Campylobacter-spesifikt antigen (SA) er et Campylobacter-overflateantigen. Western blott-analyse avslører 2 bånd med molekylvekt på omtrent 15 Kd og 66 Kd. Studier av kryssreaktivitet angir at dette antigenet deles av *Campylobacter jejuni* og *Campylobacter coli*.

3. PRINSIPPET FOR TESTEN

ProSpecT Campylobacter mikroplateanalyse er en fastfaste-immunanalyse for påvisning av *Campylobacter*-spesifikt antigen (SA). Fortynnede avføringsprøver tilsettes i avbrekkbare mikroplatebrønner som polyklonalt antistoff mot *Campylobacter* SA fra kanin er bundet til. Hvis *Campylobacter* SA er til stede, “fanges” det av det bundne antistoffet. Brønnene inkuberes og vaskes deretter for å fjerne ubundet materiale. Enzymkonjugatet (polyklonalt anti-*Campylobacter* SA fra kanin merket med pepperrot-peroksidaseenzym) tilsettes. Brønnene inkuberes og vaskes deretter for å fjerne ubundet enzymkonjugat. I en positiv reaksjon, binder fanget *Campylobacter*-spesifikt antigen enzymkonjugatet til brønnen. Substratet for enzymet, 3,3',5,5'-tetrametylbenzidin (TMB), tilsettes. I en positiv reaksjon,

konverterer enzymet som er bundet til brønnen av *Campylobacter* SA substratet til et farget reaksjonsprodukt. Fargeutvikling kan påvises visuelt eller spektrofotometrisk. I en negativ reaksjon er det ikke noe *Campylobacter* SA eller et utilstrekkelig antigenivå til stede til å binde enzymkonjugatet og det utvikles ikke noe farget reaksjonsprodukt.

4. SYMBOLDEFINISJONER

	Katalognummer
	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Innholder tilstrekkelig til <n> tester
	Se bruksanvisningen
	Temperaturbegrensning (oppbevaringstemp.)
	Batchkode (lotnummer)
	Brukes innen (utløpsdato)
	Produsent
	Fortynnet prøve

5. INNHOLD I SETTET, KLARGJØRING FOR BRUK OG OPPBEVARING

ProSpecT Campylobacter mikroplateanalyse inkluderer nok reagenser til å utføre  96 tester.

Se også **Forholdsregler**, avsnitt 6.

Utløpsdatoen for hvert sett er angitt på etiketten.

Oppbevar alle komponenter ved 2 til 8 °C.

Før bruk skal alle reagenser ha romtemperatur (20- 25 °C) og blandes forsiktig. Sett de ubrukte reagensene i kjøleskapet etter bruk.

Alle reagenser unntatt vaskebufferen leveres blandet til bruksstyrke. Reagenser kan dispenseres rett fra dråpeflaskene eller helles ut for bruk med flerkanalpipetter. Hvis det helles for mye reagens, skal det overflødige kastes. Overflødig reagens må ikke helles tilbake i flasken.



Bruksanvisning

Overføringspipetter
Holder og deksel for mikroplaterad
Prosedyrekort

Mikroplate* (8 brønner / rad)

6 rader (R2476048) eller 12 rader (R2476096) belagt med polyklonalt antistoff fra kanin mot *Campylobacter* SA. Ubrukte mikroplaterader skal oppbevares i folieposen som inneholder tørkemiddel for å stenge ute fukt.

Enzymkonjugat*

Én dråpeflaske som inneholder 12 ml (R2476048) eller 25 ml (R2476096) pepperrotperoksidasemerket polyklonalt anti-*Campylobacter* SA fra kanin med antimikrobielle stoffer.













***Merk:** Bytt ikke ut reagenser med reagenser med andre lotnumre.

6. FORHOLDSREGLER

IVD

Reagensene er Kun til *in vitro*-diagnostisk bruk.

Kun til yrkesbruk.

Vennligst se dataarket for sikkerhet (SDS) og produktmerkingen for informasjon om potensielt farlige komponenter.

HELSE- OG SIKKERHETSINFORMASJON

- Reagenser tilberedes fra biologisk materiale og skal håndteres som potensielt smittefarlig materiale. Kasseres ved bruk av egnede prosedyrer for biologisk farlig avfall.
- Ikke pipetter med munnen. Bruk engangshansker og vernebriller når prøvene håndteres og analysen utføres. Vask hendene grundig når du er ferdig.
- Prøver kan inneholde potensielt smittefarlige stoffer og skal håndteres ved biosikkerhetsnivå 2 som anbefalt i CDC/NIH-håndboken, “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories”, 5. utgave.
- Vaskebuffer inneholder potensielt hudsensibiliserende stoff (< 1 % v/v). Unngå hudkontakt. Bruk vinyl- eller nitrilhansker til engangsbruk.

Positiv kontroll

Én dråpeflaske som inneholder 4 ml inaktivert *Campylobacter jejuni*-kultursupernatant suspendert i en bufret løsning med bovint fosterserum (kalveserum) og antimikrobielle stoffer.

Negativ kontroll

Én dråpeflaske som inneholder 4 ml bufret løsning med kaninserum, rødt fargestoff og antimikrobielle stoffer.

Bakteriell prøvefortynner

Én flaske som inneholder 120 ml buffret løsning med kaninserum, rødt fargestoff og antimikrobielle stoffer.

Vaskebuffer

Én flaske som inneholder 120 ml (x10) konsentrert bufret løsning med antimikrobielle stoffer.

Fortynn (10x) vaskebufferkonsentrat til (x1) ved å tilsette 1 del konsentrat til 9 deler destillert eller deionisert vann. Fortynnet vaskebuffer er stabil i 1 måned når den oppbevares ved 2-8 °C.

Fargesubstrat

Én dråpeflaske som inneholder 12 ml (R2476048) eller 25 ml (R2476096) 3,3',5,5'-tetrametylbenzidin (TMB) i buffer. Fargesubstratet skal oppbevares i og brukes fra den lysbeskyttede flasken som det leveres i. Hvis en alikvot av en eller grunn fjernes fra originalflasken, skal ikke det ubrukte fargesubstratet returneres til originalflasken.

Stoppløsning

Én dråpeflaske som inneholder 12 ml 0,46 mol/l svovelsyre.

- Kasser brukt vaskebuffer i egnede beholdere for biologisk farlig avfall.

ANALYTISKE FORHOLDSREGLER

- Les og følg alle instruksjonene i denne bruksanvisningen.
- Reagensene leveres ved de nødvendige bruksstyrkene, med unntak av vaskebufferkonsentratet. Ikke fortynn reagenser, bortsett fra når det er anvist.
- Ikke bruk reagensene etter utløpsdatoene. Utløpsdatoene er trykt på hver reagensetikett. Dersom reagenser brukes etter utløpsdatoen kan det påvirke nøyaktigheten av resultatene.
- Følgende vanlige reagenser kan brukes på tvers av ProSpecT-produktutvalget: Vaskebuffer, fargesubstrat og stoppløsning.
- Mikrobiell kontaminasjon av reagenser kan redusere nøyaktigheten av analysen. Unngå mikrobiell kontaminasjon av reagensene ved å bruke sterile engangspipetter når alikvoter fjernes fra reagensflasker.
- La alle reagenser og prøver nå romtemperatur (20-25 °C) før bruk.
- Mikroplaterader må oppbevares i de forseglbare folieposene, med tørkemiddel, for å beskytte mikroplatebrønnene mot fukt.
- Avføringsprøver må blandes grundig før prøvebehandling for å sørge for nøyaktig representasjon av prøven. IKKE KONSENTRER PRØVER FØR TESTING.
- Fargesubstrat er følsomt for lyseksponering. Hvis reagensen eksponeres for lys og utvikler farge, må reagentet kasseres.
- Personer som er fargeblinde eller har nedsatt syn vil kanskje ikke kunne lese testen og må bruke spektrofotometriske avlesninger for å tolke resultater.
- Tilsett reagenser i testbrønnene i samme rekkefølge gjennom prosedyren. Kontaminasjon unngås ved å ikke berøre væsken i brønnene med flaskemunningene.
- Ta tiden på hver inkubasjon nøyaktig. Start tidtakingen når reagensen er tilsatt i den siste brønnen på hver mikroplate som skal testes. Nøyaktig tidtaking sikres ved å behandle maksimalt tre plater med 96 brønner på én gang. Avvik fra den fastsatte prosedyren kan endre analysens utførelse.
- Det er viktig at dråpeflaskene holdes vertikalt og at dråpen dannes ved flaskemunningen. Hvis flaskemunningen blir våt, vil en dråpe med feil volum dannes rundt enden i stedet for ved spissen. Hvis dette skjer, må munningen tørkes før du fortsetter.

7. INNSAMLING AV FECESPRØVER

Optimale resultater ved direkte testing av avføringsprøver oppnås hvis prøvene testes umiddelbart når de mottas i laboratoriet. Ved buljonganriket testing skal avføringsprøven tilsettes i anrikingsbuljongen umiddelbart når den mottas i laboratoriet.

FERSK Ukonserverte avføringsprøver skal oppbevares ved 2-8 °C og testes innen 72 timer.

Prøver kan fortynnes 1:3 i den bakterielle prøvefortynningsvæske og oppbevares nedkjølt ved 2-8 °C i opptil 72 timer før testing.

NEDFRYST Avføringsprøver må oppbevares ved -20 °C eller lavere hvis testingen skal utføres senere enn 72 timer. Unngå gjentatt optiming/nedfrysing.

CARY BLAIR Avføringsprøver innsamlet i Cary Blair transportmedium skal nedkjøles ved 2-8 °C og testes innen 1 uke etter prøvetaking.

8. TESTPROSEDYRE

NØDVENDIG MATERIALE SOM FØLGER MED

Se Innhold i settet, avsnitt 5

NØDVENDIG MATERIALE SOM IKKE FØLGER MED
Beholder for innsamling av avføringsprøver
Tidtaker som måler minutter
Vaskeflaske for vaskebuffer
Destillert eller deionisert vann

VALGFRITT MATERIALE SOM IKKE FØLGER MED
Mikroplateleser som kan lese 450 nm eller 450/620 til 650 nm
Applikatorpinner med bomulls- eller rayonspiss
Mikropipette til levering av volum opptil 200 µl
Prøverør til engangsbruk av plast eller glass
Vorteksblender med plateadapter eller rister

PROSEDYRE

8.1. **Prøveklargjøring for analyse:** Prøver i Cary Blair transportmedium kan tilsettes direkte i mikroplatebrønner for testing (se Trinn 8.4 nedenfor). Sørg for å blande prøvene i transportmedium før de overføres til mikroplatebrønner.

Ferske avføringsprøver eller buljonganrikede kulturer må fortynnes (se Eske A eller B nedenfor).

A	Direkte avføringstesting for ferske, ukonserverte prøver
1	Tilsett 0,6 ml bakteriell prøvefortynningsvæske i et rent engangsrør av plast eller glass.
2	Bland avføringen så grundig som mulig.
3	For flytende eller delvis flytende avføringsprøver må en overføringspipette brukes for å tilsette omtrent 0,3 ml (tredje merke fra pipettespissen). Press prøven ut i bakteriell prøvefortynningsvæske og bland ved å trekke opp og ned én gang. La overføringspipetten bli værende i røret.
4	For faste avføringsprøver brukes en applikatorpinne til å tilsette 0,3 gm (~6 mm diameter). Bruk applikatorpinnen til å løse opp avføringen i den bakterielle prøvefortynningsvæskens. Sett en overføringspipette i røret og bland rørets innhold ved å trekke opp og ned én gang. La overføringspipetten bli værende i røret.
5	FORTSETT TIL TRINN 8.2

B	Buljongmetode for buljonganrikede prøver
1	Inokuler 150 µl eller 3 dråper avføring i 5 ml GN buljong, Hajna.
2	Inkuber ved 35 ± 2 °C under omgivende atmosfæreforhold i 18-24 timer.
3	Tilsett 0,6 ml bakteriell prøvefortynningsvæske i et rent 12 x 75 mm rør.
4	Overfør 0,3 ml buljongkultur inn i 0,6 ml bakteriell prøvefortynningsvæske med en overføringspipette. La overføringspipetten bli værende i røret.
5	FORTSETT TIL TRINN 8.2

8.2. Åpne folieposen, fjern det ønskede antall mikroplaterader og plasser i en holder for mikroplaterader. Bruk én brønn for den negative kontrollen og én brønn for den positive kontrollen. Hvis du bruker mindre enn 8 brønner, bryter du løs ønsket antall mikrobrønner fra raden og legger ubrukte brønner tilbake i folieposen med tørkemiddel. FORSEGLE POSEN GODT FOR Å STENGE UTE FUKT OG SETT DEN TILBAKE I KJØLESKAPET.

8.3. Tilsett 4 dråper (200 µl) negativ kontroll i brønn A1. Tilsett 4 dråper (200 µl) positiv kontroll i brønn B1.

8.4. Tilsett 4 dråper fortynnet prøve eller anriket buljongkultur, eller 4 dråper prøve i transportmedium per brønn med en overføringspipette. Merk: Plasser overføringspipettens åpning rett innenfor brønneren for å unngå sprut i tilstøtende brønner.

8.5. **Dekk** mikroplaten og inkuber ved romtemperatur (20-25 °C) i **60 minutter**. Start tidtakingen når den siste prøven er tilsatt.

8.6. Rist ut eller aspirer innholdet av brønnene. Vask ved å fylle hver brønn helt opp med **fortynnet** vaskebuffer (~350-400 µl/brønn). Rist ut eller aspirer all væske fra brønnene etter hver vask. Vask **3 ganger** totalt. Etter siste vask skal du fjerne innholdet og dunke platen mot rene papirhåndklær eller aspirere. Fjern så mye vaskebuffer som mulig, men ikke la brønnene tørke ut på noe tidspunkt.

8.7. Tilsett 4 dråper (200 µl) enzymkonjugat i hver brønn.

8.8. **Dekk** mikroplaten og inkuber ved romtemperatur (20-25 °C) i **30 minutter**.

8.9. Rist ut eller aspirer og vask hver brønn 5 ganger som i trinn 8.6.

8.10. Tilsett 4 dråper (200 µl) fargesubstrat i hver brønn.

8.11. **Dekk** mikroplaten og inkuber ved romtemperatur (20-25 °C) i **10 minutter**.

8.12. Tilsett 1 dråpe (50 µl) stoppløsning i hver brønn. Bank eller vend brønnene til gulfargen er jevnt fordelt. Les av reaksjonene innen **10 minutter** etter at stoppløsningen er tilsatt.

8.13. Les av visuelt eller spektrofotometrisk ved 450 nm (enkel bølgelengde) eller 450/620 til 650 nm (dobbel bølgelengde).

9. KVALITETSKONTROLL

Positive og negative kontroller må inkluderes hver gang testen utføres. De positive og negative kontrollene fungerer som både reagens- og prosedyrekontroller. Hensikten med kontrollene er å kontrollere og avsløre eventuelle vesentlige feil i reagensene. Den positive kontrollen sikrer ikke presisjon ved analysens “cut-off”.

Den optiske tettheten (O.T.) til den negative kontrollen skal være < 0,100 ved 450 nm eller < 0,070 ved 450/620 til 650 nm. Den negative kontrollen skal være fargeløs når den leses visuelt. Hvis gulfarge tilsvarende 1+ eller høyere på prosedyrekortet er til stede i den negative kontrollen, skal testen gjentas med særlig oppmerksomhet på vaskeprosedyren.

O.T. for den positive kontrollen skal være > 0,500 ved 450 nm eller 450/620 til 650 nm. Visuelt skal fargeintensiteten i den positive kontrollen være lik eller høyere enn 2+ reaksjon på prosedyrekortet. Hvis det er mindre farge, må du oppsøke teknisk hjelp.

10. RESULTATER

Se det vedlagte prosedyrekortet for fargetolkninger.

VISUELT

10.1. Les testresultatene ved å sammenligne med reaksjonsfargene på prosedyrekortet.

Positiv: gulfarge med minst 1+ intensitet

Negativ: fargeløs

Ubestemmelig: svak gulfarge, mindre enn 1+ reaksjon

10.2. Tolkning av visuelle resultater:

Positiv: Hvis en gulfarge på minst 1+ intensitet utvikles i prøvebrønner, inneholder prøven *Campylobacter* SA, og testen er positiv.

Negativ: En fargeløs reaksjon er et negativt testresultat og angir at ingen *Campylobacter* SA eller et upåviselig nivå av *Campylobacter* SA er til stede i den testede prøven.

Ubestemmelig: Hvis en svak gulfarge på mindre enn 1+ reaksjon utvikles, er testen ubestemmelig. Ubestemmelige resultater skal gjentas. Hvis de gjentatte testresultatene er positive, er prøven positiv. Hvis de gjentatte testresultatene er negative, er prøven negativ. Hvis resultatene fra de gjentatte testene fremdeles er ubestemmelige, skal en annen prøve tas og testes.

SPEKTROFOTOMETRISK

10.3. Les resultater ved enten enkel (450 nm) eller dobbel (450/620 til 650 nm) bølgelengde.

10.4. Les testresultatene

A. Enkel bølgelengde	Fersk avføring	Transportmedium/ buljong
Negativ:	OT < 0,130	< 0,100
Ubestemmelig:	OT 0,130 - 0,170	0,100 - 0,130
Positiv:	OT > 0,170	> 0,130
B. Dobbel bølgelengde	Fersk avføring	Transportmedium/ buljong
Negativ:	OT < 0,100	< 0,070
Ubestemmelig:	OT 0,100 - 0,140	0,070 - 0,100
Positiv:	OT > 0,140	> 0,100

10.5. Tolkning av spektrofotometriske resultater:

Positiv: En O.T.-avlesning på mer enn angitt “cut-off” for enkel bølgelengde eller dobbel bølgelengde etter prøvetype er positiv og angir forekomst av *Campylobacter* SA.

Negativ: En O.T.-avlesning på mindre enn angitt “cut-off” for enkel bølgelengde eller dobbel bølgelengde etter prøvetype er et negativt resultat og angir at ingen *Campylobacter* SA eller et upåviselig nivå av *Campylobacter* SA er til stede i prøven.

Ubestemmelig: O.T.-avlesninger innenfor det angitte ubestemmelige området etter prøvetype er ubestemmelige. Ubestemmelige resultater skal gjentas. Hvis de gjentatte testresultatene er positive, er prøven positiv. Hvis de gjentatte testresultatene er negative, er prøven negativ. Hvis resultatene fra de gjentatte testene fremdeles er ubestemmelige, skal en annen prøve tas og testes. Et ubestemmelig resultat er når både den visuelle og spektrofotometriske avlesningen stemmer overens. Ubestemmelige resultater skal gjentas. Hvis de gjentatte testresultatene er positive, er prøven positiv. Hvis de gjentatte testresultatene er negative, er prøven negativ. Hvis resultatene fra de gjentatte testene fremdeles er ubestemmelige, skal en annen prøve tas og testes.

Merk: Brønner som er klare visuelt men gir en O.T.-avlesning som ikke stemmer overens med den visuelle tolkningen skal anses som avvikende avlesninger og inspiseres for bobler, små partikler i brønnene eller en ugjennomsiktig hinne på bunnen av brønnene. Fjern hinne ved å tørke undersiden av brønnene og lese av O.T. på nytt. Hvis uoverensstemmelsen mellom den visuelle og O.T.-avlesningen vedvarer, må testen gjentas.

11. UTFØRELSESGRENSER

Gyldigheten av resultater med ProSpecT Campylobacter-mikroplateanalyser avhenger av at kontrollreaksjonen utføres som forventet. Se avsnittet **Kvalitetskontroll 9**.

Et negativt testresultat utelukker ikke muligheten for at det finnes *Campylobacter*, og kan inntreffe når antigenivået i prøven er under testens påvisningsnivå. Det er ikke påvist noen sammenheng mellom mengden antigen i prøven og klinisk presentasjon.

Som med alle IN VITRO-diagnostiske tester, skal resultater tolkes av klinikeren i sammenheng med kliniske funn og/eller andre laboratorieresultater.

Riktig prøvetaking og -behandling er avgjørende for optimal utførelse av analysen. Optimale testresultater oppnås når prøver testes så snart som mulig etter prøvetakingen. Se **Innsamling av fecesprøver** avsnitt 7.

ProSpecT Campylobacter mikroplateanalyse skiller ikke mellom *C. jejuni* og *C. coli*, og det finnes andre serotyper og underarter som kanskje ikke vil påvises. Det er ikke kjent om *C. upsalensis*, *C. hyointestinalis* eller *C. helveticus* kryssreagerer.

12. FORVENTEDE VERDIER

Campylobacter jejuni er den vanligste årsaken til bakteriell diaré i USA, og infeksjoner er mest utbredt mellom sommeren og høsten⁵. Infeksjoner plukkes normalt opp via inntak av kontaminert mat eller vann. Testing av kommersielle frosne fjærkreprøver har utvist kontaminasjonsfrekvenser fra 30 til 90 %⁶. *C. jejuni* er utbredt i dyreriket og har blitt isolert fra en rekke ulike husdyr, fjærkre og så godt som hver eneste ville fugleart. Overføring via seksuell kontakt eller fekalt-oralt er også rapportert, samt via drikking av kontaminert overflatevann⁵. Barn under 5 år og unge voksne (15-29) rammes oftere enn andre aldersgrupper. En nylig studie fra College of American Pathologists fra 601 institusjoner påviste at et bakterielt patogen kunne identifiseres i 6,4 % av de 59 500 innleverte prøvene⁷. *Campylobacter* ble identifisert i 1,5 % av prøvene, Salmonella i 1,15 % og Shigella i 0,9 %. Forekomst for *C. jejuni* i USA strekker seg fra 1,0 til 4,6 %. Frekvenser på så mye som 2,9 % ble også påvist i en 4-årig studie i Sveits⁸.

13. UTFØRELSESEGNSKAPER

SENSITIVITET OG SPESIFISITET

ProSpecT Campylobacter-mikroplateanalysen ble evaluert ved tre geografisk atskilte klinikker i USA og Canada. Klinikene var et storbysykehus i Illinois, et stort referanselaboratorium i New Jersey og et sentralisert testlaboratorium i Ontario, Canada. Alle prøver ble testes etter kultur og biokjemiske analyser for å bekrefte et positivt isolat av *Campylobacter*. Resultatene ved hver av teststedene etter gjentatte ubestemmelige resultater og avvikende avlesninger som angitt av instruksjonene i denne bruksanvisningen, presenteres i tabell 1.

Tabell 1. ProSpecT Campylobacter mikroplateanalyse sammenlignet med kulturanalyser på direkte avføringsprøver.

STED 1 KULTURRESULTATER				
		+	-	
ProSpecT mikroplate- analyse	+	70	6	
	-	0	337	
		70	343	413

Sensitivitet: 100 %
 Spesifisitet: 98,3%

STED 2 KULTURRESULTATER				
		+	-	
ProSpecT mikroplate- analyse	+	10	0	
	-	0	214	
		10	214	224

Sensitivitet: 100%
 Spesifisitet: 100%

STED 3 KULTURRESULTATER				
		+	-	
ProSpecT mikroplate- analyse	+	49	2	
	-	0	361	
		49	363	412

Sensitivitet: 100%
 Spesifisitet: 99,4%

Tabell 2: Resultater med kombinerte data fra tre kliniske studiesteder på direkte avføringsprøver.

		Direkte		
		+	-	
ProSpecT	+	129	8	
mikroplate-	-	0	912	
analyse		129	920	1049

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

Som vist i tabell 2 var det 99,2 % korrelasjon mellom ProSpecT Campylobacter-mikroplateanalysen og kulturen når resultatene fra alle tre steder ble kombinert og alle ubestemmelige og avvikende avlesninger ble avklart. Alle EIA avvikende avlesninger ble avklart som negative etter gjentatt testing. Én prøve var EIA+, kultur- til å begynne med. Ved gjentatt testing var imidlertid kulturen positiv og ble avklart som en sann positiv. Av de gjenværende 8 EIA+, kultur- prøvene var én EIA gjentatt negativ. De andre 7 var gjentatt positive.

Ved studiested 2 ble alle testede prøver i den direkte avføringsanalysen også anriket over natten i GN-buljong, Hajna @ 35 ± 2 °C under omgivende atmosfæreforhold. Den anrikede kulturen ble deretter analysert i ProSpecT Campylobacter-mikroplateanalysen og sammenlignet med standard metode for avføringskultur. Resultatene presenteres i tabell 3.

Tabell 3: ProSpecT Campylobacter mikroplateanalyse sammenlignet med kulturanalyse på buljonganrikede avføringskulturer.

STUDIESTED 2 KULTURRESULTATER				
ProSpecT mikroplate- analyse	+	+	-	
		9	0	
		1	214	
-		10	214	224

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

Som vist i tabell var det en 99,6 % korrelasjon mellom ProSpecT Campylobacter-mikroplateanalysen og kulturen når prøver ble anriket i GB-buljong, Hajna og alle avvikende resultater ble avklart. Alle EIA ubestemmelige og avvikende avlesninger ble avklart som negative etter gjentatt testing.

ANALYTISK SENSITIVITET
 ProSpecT *Campylobacter*-mikroplateanalysen påviser omtrent 2,81 ng/ml *Campylobacter*-spesifikt antigen og omtrent 10⁵ CFU/ml.

REPRODUSERBARHET
 Variasjonskoeffisienten (CV) mellom analyser eller mellom serier for ProSpecT Campylobacter-mikroplateanalysen ble evaluert ved å velge én negativ og tre positive prøver med varierende avlesninger for optisk tetthet. Hver prøve ble testet i 22-24 brønner/kjøring i tre etterfølgende kjøring. Gjennomsnittlig CV mellom analyser var 11,4 %.

Prøve	Gjennomsnittlig O.T.	Standardavvik	% 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 %

CV innen analyse eller innen kjøring ble evaluert ved å teste 22-24 brønner med hver av 4 prøver. Gjennomsnittlig CV innen analyser var 4,0 %.

Prøve	Gjennomsnittlig O.T.	Standardavvik	% 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 %

KRYSSREAKTIVITET
 Det oppsto ingen kryssreaksjon når flere forskjellige organismer fra human kolonmikroflora ble testet i ProSpecT Campylobacter-mikroplateanalysen. Tester ble gjennomført ved å så organismene oppført nedenfor inn i Campylobacter jejuni-negative og -positive avføringsprøver. Bakterier ble utsådd ved konsentrasjoner på >1 x 10⁷ CFU/ml avføringsprøve.

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 vulgarus 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. BIBLIOGRAFI

- 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 registrert varemerke

ATCC® er et registrert varemerke som tilhører American Type Culture Collection



Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24 8PW
 Storbritannia

Kontakt din lokale forhandler for teknisk støtte.

Bruksanvisning X7595A, revidert desember 2012