



EIA til påvisning af toksiner produceret af enterohæmoragisk *E. coli* i fæcesprøver eller kultursystemer

REF Bestillingsnr. 608096

IVD Må kun anvendes til *in vitro*-diagnostik.

## ANVENDELSE

**Premier™ EHEC**-testen er en hurtig *in vitro*-mikrobrønd-EIA til påvisning af Shiga-toksiner I og II (verotoksiner) i fæcesprøver, bouillonkulturer, fra individuelle kolonier eller koloniudstrygninger af agarplader. **Premier EHEC**-testen er beregnet som hjælp til diagnosticering af enterohæmoragiske *E. coli*-infektioner (EHEC).

## FORKLARING

Enterohæmoragisk *E. coli* (EHEC) er blevet isoleret fra patienter med hæmoragisk colitis og hæmolytisk uræmisk syndrom (HUS)<sup>5,3,13</sup>. Til dato er O157:H7 den hyppigst forekommende EHEC-stamme i fæces fra disse patienter<sup>9,13</sup>. Det skyldes sandsynligvis den kendsgerning, at konventionelle diagnostiske strategier som f.eks. O157-latex-agglutinationsanalyser afhænger af denne stammes unikke, sorbitolnegative fermentationsegenskaber.<sup>2,9,13,14</sup> Den største svaghed ved denne metode er, at det er blevet rapporteret, at mindst 50 andre EHEC-serotyper er knyttet til udviklingen af hæmoragisk colitis og HUS.<sup>7,8,9,10,11,16</sup>

En virulensgenskab ved alle EHEC-stammer er evnen til at producere cytotoxiner kaldet Shiga-toksiner (ST) eller verotoksin (VT).<sup>9,14</sup> ST-I og ST-II er de to mest almindelige toksiner, og individuelle EHEC-stammer har evnen til at producere begge eller en af dem i forskellige mængder. Derfor er ST-produktion, og ikke individuel (O157:H7) serotypeidentifikation en bedre diagnostisk strategi til bestemmelse af EHEC-associerede sygdomme.<sup>7,8,16</sup> Cytotoksin kan identificeres med en bestemt cytotoksinanalyse beskrevet af Karmali.<sup>8</sup> Cytotoksinanalysen er dog meget laboratoriekrævende, kræver vævsdyrkningsfaciliteter, er ikke blevet standardiseret, og det kan tage op til 72 timer at bekræfte tilstedeværelsen af cytotoksin.<sup>8</sup>

**Premier EHEC**, der anvender EHEC-attributen til at producere disse toksiner, blev udviklet til direkte påvisning af ST-producerende stammer fra fæcesprøver eller kultursystemer.

## BIOLOGISKE PRINCIPPER

**Premier EHEC**-testen anvender monoklonalt anti-Shiga-toksinbindingsantistof absorberet i mikrobrønde.<sup>4</sup> Fortyndede prøver tilsættes brøndene og inkuberes ved stuetemperatur. Der udføres en vask for at fjerne ubundet materiale. Der tilsættes et polyklonalt anti-Shiga-lignende toksinantistof til påvisning og inkuberes ved stuetemperatur. Der foretages endnu en vask for at fjerne ubundet antistof. Enzymkonjugeret anti-IgG-polyklonalt antistof tilsættes og inkuberes ved stuetemperatur. Hvis toksin er til stede, dannes et reaktivt antistofenzymkompleks. Efter vask for at fjerne ubundet konjugat tilsættes substrat, hvorefter der inkuberes i 10 minutter ved stuetemperatur. Der udvikles farve under tilstedeværelse af et bundet enzym. Stopopløsning tilsættes, og resultaterne fortolkes visuelt eller ved hjælp af et spektrofotometer.

## MEDFØLGENDE MATERIALER

1. **Antistofbelagte mikrobrønde (96)** – Aftagelige plastbrønde belagt med monoklonale antistoffer, der er specifikke for *E. coli* Shiga-toksin I og II.
2. **Positiv kontrol (3,4 ml)** – Inaktiveret Shiga-toksin i en bufret proteinopløsning med konserveringsmiddel.
3. **Negativ kontrol (3,4 ml)** – Bufret opløsning med et konserveringsmiddel.
4. **Prøvefortyndingsopløsning (18,8 ml)** – Bufret proteinopløsning med et konserveringsmiddel.
5. **20X-vaskebuffer (100 ml)** – Koncentreret vaskebuffer med et konserveringsmiddel.
6. **Antistof til påvisning (10,0 ml)** – Antistof fra kaniner, der er specifikt for Shiga-toksiner i bufret proteinopløsning

med konserveringsmiddel.

7. **Enzymkonjugat (10,0 ml)** – Anti-kaninantistof fra geder konjugeret til peberrodsperoxidase i bufret proteinopløsning med konserveringsmiddel.
8. **Substrat (12,5 ml)** – Bufret opløsning, der indeholder ureaperoxidase.
9. **Stopopløsning (10,0 ml)** – 2N-svovlsyre. **FORSIGTIG!** Undgå kontakt med huden. [Hvis opløsningen kommer i kontakt med huden, skylles efter med vand.](#)
10. **Overførselspipetter (96)**
11. **Holder til mikrobrøndrækker (1)**
12. **Forsegler til mikrobrøndrækker (2)**

## MATERIALER, SOM IKKE MEDFØLGER

1. Træspatler
2. Pipette, der kan levere 200 µl
3. Prøveglass (12 x 75 mm) til fortynding af prøve
4. Destilleret eller demineraliseret vand
5. Sprøjteflaske
6. Måleglas til fremstilling af 1X-vaskebuffer
7. EIA-pladelæser, der kan aflæse absorptions på 450 eller -450/630 nm

## SIKKERHED

1. **Alle reagenser må kun anvendes til *in vitro*-diagnostik.**
2. Patientprøver kan indeholde smitstoffer og skal håndteres på Biosafety Level 2 som anbefalet i CDC/NIH-vejledningen "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories" 1988.
3. Alle reagenser skal blandes forsigtigt inden brug.
4. Bland ikke reagenser fra forskellige sætlotnumre.
5. Lad reagenserne varme op til stuetemperatur inden brug.
6. Hold reagensprøveglass lodret med passende afstand over brønden for at sikre korrekt dråbestørrelse og -afgivelse.
7. Anvend ikke kitkomponenter efter udløbsdatoen.
8. Sæt farvede hætter på de rette prøveglas.
9. Bortskaf brugt vaskebuffer og alle prøvematerialer i en hensigtsmæssig beholder. Håndter som potentielt smittefarligt.
10. Det positive kontrolreagens indeholder inaktiveret Shiga-toksin. Det skal dog håndteres som potentielt farligt materiale.
11. Undgå hudkontakt med stopopløsningen (2N-svovlsyre). Skyl øjeblikkeligt med vand i tilfælde af kontakt.
12. Genbrug ikke mikrobrønde.
13. **Ubrugte mikrobrønde skal placeres i den forseglbare pose igen.** Det er vigtigt at beskytte rækkerne mod fugt.
14. De medfølgende overførselspipetter skal bruges til prøveforberedelse og overførsel. Brug én pr. prøve.
15. Undgå at spilde, når fortyndede prøver overføres til mikrobrønde, ved at placere pipettespidsen ca. halvt nede i brønden og sprøjte langsomt ned langs brøndens side.
16. Vask af mikrobrønde skal udføres præcist som anvist i analyseproceduren. Utilstrækkelig vask medfører forhøjede baggrundsresultater og falske positive resultater.
17. Alle reagenser, undtagen 20X-vaskebufferen, leveres fortyndet i den korrekte koncentration.
18. Enhver afvigelse under eller over de indstillede inkubationstider kan påvirke sensitiviteten og specificiteten og bør undgås.

## HOLDBARHED OG OPBEVARING

Udløbsdatoen er angivet på mærkaten på kittet. Kittet opbevares ved 2-8 °C og sættes direkte i køleskab umiddelbart efter brug.

## PRØVEHÅNDTERING

1. Opbevaring og håndtering af fæcesprøver til dyrkning af EHEC-organismer: Den relevante fæcesprøve skal enten nedfryses (-70 °C) eller opbevares ved 2-8 °C umiddelbart efter indsamling. De nedkølede prøver skal dyrkes inden for 1-2 timer. Hvis dyrkning ikke kan udføres inden for 2 timer, skal prøven sættes i et Cary-Blair-baseret transportmedie. Rektale podninger skal anbringes i transportmediet med det samme. Prøver i transportmedier skal opbevares ved 2-8 °C, hvis de kan undersøges inden for 2-3 dage. Hvis dyrkning ikke kan foretages inden for dette tidsrum, skal prøverne nedfryses til -70 °C **umiddelbart efter modtagelse**. Transportprøver bør ikke køles ned og derefter nedfryses (2).
2. Opbevaring af fæcesprøver og bouillonkulturer inden test i Premier EHEC: Fæcesprøver og bouillonkulturer kan

opbevares i op til 7 dage ved 2-8 °C inden test i EIA. Hvis testen ikke foretages inden for dette tidsrum, skal bouillonkulturen nedfryses til -70 °C. Gentagne nedfrysninger og optøninger bør undgås.

## FORBEREDELSE AF REAGENS

1. Sørg for, at hele kittet, herunder mikrobrøndposen, har stuetemperatur inden brug.
2. Forbered 1X-vaskebuffer efter behov.

For eksempel: 4,0 ml 20X-vaskebuffer + 76,0 ml destilleret eller demineraliseret vand er tilstrækkeligt til at vaske én række. Kom i en ren sprøjteflaske. 1X-vaskebufferen kan opbevares ved stuetemperatur i op til tre måneder.

## FORBEREDELSE AF PRØVE

### A. Direkte fæcesprøver:

1. Tilsæt 200 µl prøvfortyndingsopløsning (Sample Diluent) i et rent prøveglas på 12 X 75 mm. (BEMÆRK: Det tredje mærke fra spidsen på overførselspipetten angiver 200 µl).
2. Bland fæces så grundigt som muligt inden pipettering.
  - a. Væske, halvfast stoffer eller fæces i transportmedie: Træk med en overførselspipette fæces til 50 µl kalibreringspunktet (første mærke fra pipettens spids). Dispensér fæces i prøvfortyndingsopløsningen. Brug den samme pipette til forsigtigt at opsuge og afgive fæcesopløsmningen flere gange, og bland derefter på med vortex-blander i 15 sekunder. Lad overførselspipetten sidde i glasset til senere brug.
  - b. Fæcesprøver, der ikke kan pipetteres:  
Brug en træspatel til at overføre en lille portion i "BB"-størrelse (3-4 mm i diameter) af grundigt blandet fæces til prøvfortyndingsopløsningen. Emulger fæces med træspatlen, og bland derefter på vortex i 15 sekunder. Placer en overførselspipette i glasset.

### B. Plademethode:

1. Tilsæt 20 µl fæces eller prøve på MacConkey- eller Sorbitol/MacConkey-pladen, og fordel med en inokulationsløkke.
2. Inkuber i 16-24 timer ved 37 °C.
3. Enkelte kolonier eller koloniudstrygninger kan fjernes med en løkke og placeres i 200 µl prøvfortyndingsopløsning til EIA-test.

### C. Bouillonmethode:

1. Tilsæt 10-50 µl fæces i 5 ml MacConkeys Broth, GN Broth eller E-Z-Coli Broth (Difco Laboratories). Bland med vortex-blander i 10-15 sekunder.
2. Inkuber i 16-24 timer ved 37 °C.
3. Tilsæt 50 µl vækst i 200 µl prøvfortyndingsopløsning til EIA-test.

## PROCEDURE

*Dette produkt må kun anvendes af uddannet laboratoriepersonale.*

**BEMÆRK:** I tilfælde af et stort antal prøver kan f.eks. multikanalpipetter anvendes til at dispensere reagenserne.

1. Når posen har nået den rette temperatur, afbrækkes det ønskede antal mikrobrønde (1 brønd for hver prøve plus 1 positiv og 1 negativ kontrolbrønd pr. batch). Placer mikrobrøndene i holderen til mikrobrøndrækker, og registrer placeringen af alle brønde. Ubrugte mikrobrønde skal med det samme forsegles i posen igen.
2. Tilsæt 100 µl fortyndet prøve (andet mærke fra pipettens spids) i den relevante brønd (placer pipettespidsen halvt nede i brønden, og lad prøven løbe langsomt ned ad brøndens side).
3. Tilsæt to fritfaldende dråber positiv og negativ kontrol i de respektive brønde. Bland brøndene ved at omryste pladen grundigt i 30 sekunder.
4. Skær pladeforsegleren i den rigtige størrelse, og tryk den godt fast oven på mikrobrøndene for at forsegle dem. Inkuber pladen i 1 time ved stuetemperatur (22-27 °C).
5. Fjern **forsigtigt** pladeforsegleren, og vask brøndene:
  - a. Tøm indholdet af pladen i en beholder til farligt bioaffald.
  - b. Bank forsigtigt den inverterede plade mod en ren stak papirservietter.
  - c. Fyld alle brønde med 1X-vaskebuffer. Det anbefales at bruge en sprøjteflaske.
  - d. Gentag vaskecyklussen (tøm, bank mod rene servietter, fyld) yderligere fire gange. Efter den sidste påfyldning tømmes og slås pladerne mod rene servietter tilstrækkeligt hårdt til at fjerne så meget overskydende vaskebuffer som muligt,

- men brøndene må ikke udtørre helt på noget tidspunkt.
6. Tilsæt to fritfaldende dråber antistof til påvisning i hver brønd. Omryst pladen grundigt i 30 sekunder.
  7. Tryk pladeforsegleren godt ned over mikrobrøndene for at forsegle dem. Inkuber pladen i 30 minutter ved stuetemperatur (22-27 °C).
  8. Gentag vaskeproceduren (trin nr. 5).
  9. Tilsæt to fritfaldende dråber enzymkonjugat i hver brønd. Omryst pladen grundigt i 30 sekunder.
  10. Tryk pladeforsegleren godt ned over mikrobrøndene for at forsegle dem. Inkuber pladen i 30 minutter ved stuetemperatur (22-27 °C).
  11. Gentag vaskeproceduren (trin nr. 5)
  12. Rengør undersiden af brøndene med en fnugfri klud.
  13. Tilsæt to fritfaldende dråber substratopløsning i hver brønd. Omryst pladen grundigt i 30 sekunder. Inkuber i 10 minutter ved stuetemperatur.
  14. Tilsæt to fritfaldende dråber stopopløsning i hver brønd. Omryst pladen grundigt i 30 sekunder. **BEMÆRK:** Startfarven for positiv reaktion er blå og ændres til gul ved tilsætning af stopopløsning.
  15. Observer reaktionerne:
    - a. Visuel bestemmelse – undersøg inden for 15 minutter efter tilsætning af stopopløsning.
    - b. Spektrofotometrisk bestemmelse – Nul EIA-læser på luft. Aftør undersiden af brøndene med en fnugfri klud. Aflæs absorbans ved 450 nm eller 450/630 nm inden for 30 minutter efter tilsætning af stopopløsning.

## KVALITETSKONTROL

1. De positive og negative kontroller skal bruges sammen med hver analysekørsel til kvalitetssikring af reagenserne.
2. Den positive kontrol skal være  $> 0,500$  ved enten 450 prøvefortyndingsopløsninggrim eller 450/630 nm. Den positive kontrol skal have en klar gul farve ved visuel bestemmelse.
3. Den negative kontrol skal være  $< 0,180$  ved 450 nm og  $< 0,150$  ved 450/630 nm, men større end 0,00. Hvis den negative kontrol er  $< 0,00$ , nulstilles pladelæseren til luft, og pladen undersøges igen. Den negative kontrol skal være farveløs, når den undersøges visuelt.
4. Positive brønde uden synlig farve skal flyttes, tørres på undersiden af brønden og undersøges igen.
5. Hvis hyppigheden af lave positive resultater (OD mellem 0,150 og 0,200 med dobbeltbølgelængde eller 00 mellem 0,180 og 0,230 med enkeltbølgelængde) er større end 5 % af de testede prøver, er det en indikation på utilstrækkelig vask. Grundigere vask eller forøgelse til syv vaske i procedurens trin 5 anbefales.
6. Hvis de forventede reaktioner ikke observeres, og reagensernes udløbsdato stadig ikke er overskredet, kontaktes Meridian Bioscience' tekniske supportcenter på 1-800-343-3858.
7. Hver gang kitkomponenterne bruges, skal de undersøges visuelt for tydelige tegn på mikrobiel kontaminering, frost eller utætheder.
8. Det anbefales, at resultaterne af hver kvalitetskontrol registreres i en egnet logbog for at føre optimale testprotokoller.

## FORTOLKNING AF RESULTATER

### 1. Visuel bestemmelse

Negativ = farveløs

Positiv = klar gul farve

En svag gul farve skal evalueres spektrofotometrisk.

**BEMÆRK:** I lyset af den epidemiologiske betydning af bakteriel isolation anbefales det, at alle toksinpositive prøver analyseres for isolation af Shiga-toksinpositive organismer. Det anbefales, at de enkelte mikrobiologiske laboratorier koordinerer bakterieisolation med øvrige laboratorier.

### 2. Spektrofotometrisk enkeltbølgelængde (450 nm)

Negativ =  $OD_{450} < 0,180$

Positiv =  $OD_{450} \geq 0,180$

### 3. Spektrofotometrisk dobbeltbølgelængde (450/630 nm)

Negativ =  $OD_{450/630} < 0,150$

Positiv =  $OD_{450/630} \geq 0,150$

**BEMÆRK:** Et positivt resultat indikerer tilstedeværelsen af Shiga-toksiner. Et negativt resultat indikerer fravær af Shiga-toksiner, eller at toksinniveauet ligger under det med testen påviselige niveau.

**BEMÆRK:** Se afsnittet Kvalitetskontrol (punkt 5) vedrørende lave positive resultater. Meget kraftige positive reaktioner kan give et violet bundfald inden for få minutter, efter at reaktionen er standset.

## ANALYSEBEGRÆNSNINGER

1. **Premier EHEC**-testen påviser tilstedeværelsen af Shiga-toksin fra fæces, bouillonkulturer eller kulturisolater. Det er ikke påvist, at toksinniveauet korreleres med enten sygdommes tilstedeværelse eller alvorlighedsgrad. Som med alle procedurer til *in vitro*-diagnostik skal testresultaterne fortolkes af en læge sammen med andre kliniske oplysninger.
2. Shiga-toksin I og det toksin, der produceres af *Shigella dysenteriae* type 1-stammer (Shiga-toksin), er næsten identiske. **Premier EHEC** genererer derfor et positivt signal, når Shiga-toksin findes i prøven i påviselige mængder.
3. Et positivt resultat udelukker ikke tilstedeværelsen af andre infektiøse organismer.
4. Påvisningsgrænsen for ST-I og ST-II er henholdsvis ca. 7 og 15 pg/brønd.
5. Ekspresion af toksin kan gå tabt ved seriel passage. Koloniudstrygninger kan forøge sandsynligheden for at påvise ST-producerende organismer.

## FORVENTEDE VÆRDIER

**Premier EHEC**-testen påviser tilstedeværelsen af Shiga-toksin. Forventede værdier for en given population skal bestemmes for hvert laboratorium. Positivitetsraten kan variere afhængigt af patientens alder, geografisk lokalitet, prøveudtagningsmetode, håndtering og transport, den anvendte test og den undersøgte patientpopulations generelle helbred.<sup>4,5,9,16</sup>

Kun campylobacter og salmonella lå over *E. coli* O157:H7 som det hyppigst forekommende patogen isoleret fra fæces i staterne Washington og Minnesota i USA i årene 1984-1987. Lignende data blev indsamlet i samme tidsrum i Alberta, British Columbia og Ontario, Canada.<sup>2,13,15,17,18,19</sup> Direkte fækale cytotoksintest har vist, at yderligere 10 % af alle prøver kan indeholde udiagnosticerede EHEC-organismer. Vores kliniske undersøgelser viser, at dette tal kan være konservativt anslået.<sup>3,7,10,11,16</sup>

Det er påvist, at isolationsrater for O157:H7 er størst i sommermånederne juni, juli og august. Raterne for ikke-O157 SLT-producerende stammer er stadig ikke bestemt.<sup>2,12</sup>

## YDEEVNE

Premier EHEC-testen blev evalueret på tre større medicinske centre og et statslaboratorium i USA. Hvert undersøgelsessted testede diaréagtige fæcesprøver indsendt til rutinemæssig dyrkning af enteriske patogener. Hver fæcesprøve blev testet direkte og med bouillonmetoden i Premier EHEC-analysen. En specifik ST-cytotoksinneutraliseringsanalyse blev udført hos Meridian Bioscience på disse prøver. Resultaterne af den direkte fæcesanalyse og bouillonanalysen er sammenfattet i nedenstående tabel.<sup>3</sup>

	Premier EHEC			
	Direct Stool		Broth Assay	
Cytotoxin	Positive	Negative	Positive	Negative
Positive	15	4	22	0
Negative	17	391	5	236
Indeterminate	2	17	0	3

Relative Sensitivity = 78.9% (56.6-91.5%)    100% (85.1-100%)  
Relative Specificity = 95.8% (93.4-97.4%)    97.9% (95.2-99.1%)  
Relative Agreement = 95.1% (92.5-96.8%)    98.1% (95.6-99.2%)

ST-producerende EHEC blev isoleret fra 2 af de 17 Premier EHEC-positive/cytotoksinnegative direkte fæcesprøver: 1 O157:H7 og 1 O6:H, der ikke kunne typebestemmes. Derudover bekræftede PCR tilstedeværelsen af ST-genet i 2 Premier EHEC-positive/cytotoksinnegative fæcesprøver og 1 Premier EHEC-positiv/cytotoksinubestemmelig fæcesprøve. De femten Premier EHEC-positive/cytotoksinpositive direkte fæcesprøver bestod af: 9 – O157:H7, 2 – O6:H kunne typebestemmes, en – 0 kunne ikke typebestemmes: H12, 41w eller 51 og 2 -O111:NM EHEC-stammer. Et isolat kunne ikke

fås fra den resterende fæcesprøve.

ST-producerende EHEC blev isoleret fra 2 af 5 Premier EHEC-positive/cytotoksinnegative bouillonkulturer: 1 O157:H7 og 1 O111:NM. De 22 Premier EHEC-positive/cytotoksinpositive prøver bestod af 13 O157:H7, 3 O6:H kunne ikke typebestemmes, en O kunne ikke typebestemmes H: 12, 41w eller 51 og en O111 NM ST-producerende stamme af EHEC. Ingen isolater blev fundet i de resterende fire bouillonprøver, 95 % konfidensintervaller beregnet med den normale metode som angivet i parentes. PCR er et forskningsværktøj og er ikke beregnet til *in vitro*-diagnostik.

Forskellige *E. coli* ST-producerende organismer blev testet i EIA med både plade- og bouillonmetoden (Forberedelse af prøve, del B og C). Hver stamme er et klinisk isolat, og hver enkelt blev testet med en cytotoksinanalyse og med en polymerasekædereaktion (PCR) for at bekræfte tilstedeværelsen af ST-genet. Alle organismer genererede positive resultater, når de blev testet på denne måde. Tallet i parentes repræsenterer det antal forskellige stammer, der blev testet i den pågældende gruppetype. Ligeledes er den toksintype, der blev produceret af hver stamme, angivet.<sup>3</sup>

<u>Stammetype</u>	<u>ST-tvpe</u>	<u>Stammetype</u>	<u>ST-tvpe</u>
0157:H7 (3)	I	091:H21 (1)	II
0157:H7 (7)	II	0146:H21 (1)	I
0157:H7 (9)	I & II	0137:H41 (1)	I & II
0111:NM (3)	I & II	0111:H8 (1)	I & II
0X3:H21 (1)	II	050:H7 (1)	I
04:NM (1)	I & II	0145:NM (2)	II
0165:H25 (1)	II	0103:H2 (1)	I
0165:H25 (1)	I & II	0125:NM (2)	I
045:H2 (1)	I	026:H11 (1)	I
0126:H27 (1)	I	05:NM (3)	I
0121:H19 (1)	I & II	0171:NM (1)	II
0121:H19 (1)	II	083:H1 (1)	I & II

## ANALYSESPECIFICITET

Premier EHEC-EIA blev testet for specificitet ved hjælp af de anførte kliniske isolater (CI) eller ATCC-stammer. Hver stamme blev testet direkte i EPA med plademethoden ved hjælp af koloniisolatproceduren (afsnittet Forberedelse af prøve, del B). Alle stammer var negative, når de blev testet på denne måde. I en yderligere undersøgelse blev bakteriestammerne tilsat til enten en enkelt positiv EHEC-fæcesprøve eller enkelt negativ EHEC-fæcesprøve ved en koncentration på ca.  $2,4 \times 10^8$  cfu/ml. De følgende kliniske isolater (CI) eller ATCC-stammer var alle negative efter direkte test. Derudover ændrede følgende stammer ikke de forventede resultater, når de blev tilsat til en EHEC-positiv eller -negativ fæcesprøve.<sup>3</sup>

<u>Beskrivelse</u>		<u>Beskrivelse</u>	
<i>Campylobacter coli</i>	CI	<i>Prevotella bivia</i>	ATCC 29303
<i>Campylobacter fetus</i>	CI	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 6380
<i>Campylobacter jejuni</i>	CI	<i>Providencia alcalifaciens</i>	ATCC 9886
<i>Campylobacter lari</i>	CI	<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 33672
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 6570
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 3624	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 6571
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 14810	Salmonella gruppe B	CI
<i>Enterococcus faecalis</i>	CI	<i>Salmonella hilversum</i> (Grp N)	ATCC 15784
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13048	<i>Salmonella minnesota</i>	ATCC 9700.
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Serratia liquefaciens</i>	CI
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 9637	<i>Shigella dysenteriae</i>	ATCC 11456
<i>Escheuichia fergusonii</i>	ATCC 35469	<i>Shigella flexneri</i>	CI
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	<i>Shigella sonnei</i>	CI
<i>Gardnenella vagina/is</i>	CI	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Helicobacter pylori</i>	CI	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I)	ATCC 12598
<i>Klebsie/la pneumoniae</i>	ATCC 13883	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ATCC 4356	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CI
<i>Mycobacterium sine gmat/s</i>	CI	<i>Streptococcus faecalis</i>	CI
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CI	<i>Yersinia enterocolitica</i>	CI
<i>Nocardia asteroides</i>	ATCC 3308	<i>Yersinia enterocolitica</i> 0:9	ATCC 55075

## ANALYSEPRÆCISION

**Analysens interserielle analysevariabilitet** – 10 gentagelser af 2 kendte positive bouillonprøver og 2 kendte positive fæcesprøver blev testet i 1 analyse.

Prøve	Middelværdi A <sub>450/630</sub>	SD	%CV
Bouillon nr. 1	0,362	0,013	3,5
Bouillon nr. 2	1,920	0,094	4,9
Fæces nr. 1	0,317	0,010	3,1
Fæces nr. 2	0,774	0,032	4,2

**Analysens interserielle variabilitet** – 10 gentagelser af 2 kendte positive bouillonprøver og 1 negativ bouillonprøve blev kørt 3 forskellige dage. Denne protokol blev gentaget ved hjælp af en negativ og to positive fæcesprøver.

Prøve	Middelværdi A <sub>450/630</sub>	SD	%CV
Bouillon nr. 1	0,369	0,032	8,7
Bouillon nr. 2	1,546	0,293	18,9
Bouillon nr. 3	0,074	0,007	9,2
Fæces nr. 1	0,335	0,027	8,1
Fæces nr. 2	0,818	0,079	9,6
Fæces nr. 3	0,058	0,007 , 11,4	

## BIBLIOGRAFI

1. Brian, M.J., Frosolono, M., Murrar, B.E., Miranda, A., et. al. 1992. Polymerase chain reaction for diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection and hemolytic-uremic syndrome. J.Clin.Micro. 30:1801-1806.
2. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Infectious Diseases, *E. coli* O157:H7, What the clinical microbiologist should know. 1994.
3. Data on file, Meridian Bioscience, Inc.
4. Donohue-Rolfe, A., Acheson, D.W.K., Kane, A.V. and G.T.Keusch. 1989. Purification of shiga-toxin and shiga-like toxins I and II by receptor analog affinity chromatography with immobilized P1 glycoprotein and production of cross- reactive monoclonal antibodies. Infect.Immun. 57:3888-3893.
5. Griffin, P.M., Ostroff, S.M., Tauxe, R.V., Green, K.D., Wells, J.G., Lewis, J.H. and P.A. Blake. 1988. Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections. A broad clinical spectrum. Ann.Intern.Med. 109:705-712.
6. Hull, A.E., Acheson, D.W.K., Echeverria, P., Donohue-Rolfe, A. and G.T. Keusch. 1993. Mitomycin immunoblot colony assay for detection of shiga-like toxin producing *Escherichia coli* in fecal samples: comparison with DNA probes. J.Clin.Micro. 31:1167-1172.
7. Karch, H., Böhm, H., Schmidt, H., Gunzer, F., Aleksic, S., and J. Heesemann. 1993. Clonal structure and pathogenicity of Shiga-like toxin producing, sorbitolfermenting *Escherichia coli* O157:H. J.Clin.Micro. 31:1200-1205.
8. Karmali, M.B. 1987. Laboratory diagnosis of verotoxin- producing *Escherichia coli* infections. Clin.Micro.Newsletter. 9:65-70.
9. Kay, B.A., Griffin, P.M., Stockbine, V.A. and J.G. Wells. 1994. Too fast food: Bloody diarrhea and death from *Escherichia coli* O157:H7. Clin.Micro.Newsletter. 16:17-19.
10. Mariani-Kurkjian, P., Deamur, E., Milan, A., Picard, B., et.al. 1993. Identification of a clone of *Escherichia coli* O103:H2 as a potential agent of hemolytic-uremic syndrome in France. J.Clin.Micro. 31:296-301.
11. Maniar, A.C., Williams, T., Anand, C.M. and G.W. Hammond. 1990. Detection of verotoxin in stool specimens. J.Clin. Micro. 28:134-135.
12. Martin, D.L., MacDonald, K.L., White, K.E., Sober, J.T. and M.T.Osterholm. 1990. The epidemiology and clinical aspects of the hemolytic uremic syndrome in Minnesota. New Engl.J. Med. 323:1161 -1167.
13. Neill, MA. 1991. *Escherichia coli* O157:H7. A pathogen of no small renown. Infec.Dis.Newsletter. 10:19-24.
14. O'Brien, A.D. and R.K. Holmes. 1987. Shiga and shiga-like toxins. Micro.Reviews. 51 :206-219.
15. Ostroff, S.M., Kobayashi, J.M., and J.H. Lewis. 1989. Infections with *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State. JAMA. 262:355-359.
16. Pai, C.H., Ahmed, N., Lior, H., Johnson, W.M., Sims, H.V., and D.E.Woods. 1988. Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing *Escherichia coli*, A two year prospective study. J.Infec.Dis. 157:1054-1 057.
17. Ritchie, M., Partington, S., Jessop, J., and M.T. Kelly. 1992. Comparison of a direct fecal shiga-like toxin assay and sorbitol-MacConkey Agar culture for laboratory diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection. J.Clin.Micro. 30:461 -464.
18. Rowe, P.G., Orrbine, E., Lior, H., Wells, GA., McLaine, P.N., et.al. 1993. A prospective study on exposure to verotoxin-

- producing *Escherichia coli* among Canadian children with haemolytic uremic syndrome. *Epidemiol. Infect.* 110:1-7.
19. Wick, P.D., Hamacher, M.E., Archer, J.R. and J.S. Wintheiser. 1991. Relative incidence of *Escherichia coli* 0157:H7 from stool specimens for routine culture in Wisconsin. Abstract. American Society for Microbiology, 1991 Annual Meeting.





**USA/Corporate Office**

Manufactured by 3471 River Hills Drive  
Cincinnati, Ohio 45244  
Telephone: (513) 271-3700  
Orders/Customer Service: 1-800-543-1980  
Technical Support Center: 1-800-343-3858  
Information Fax: (513) 272-5432  
Ordering Fax: (513) 271-0124



**INTERNATIONAL SYMBOL USAGE**

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product

	Manufactured by		For Performance Evaluation Only
	Authorized Representative		Temperature Limitations
	Catalog Number		Use By/Expiration Dating Information
	In vitro Diagnostics		Sufficient for "X" Tests
	Batch Code/Lot Information		CE Symbol



Authorized Representative  
**Meridian Bioscience Europe**  
Via dell'Industria, 7  
20020 Villa Cortese (MI)  
Italy  
Tel: +39 0331 433636  
Fax: +39 0331 433616  
e-mail: info@mdeur.com

**Meridian Bioscience Europe s.a./n.v.**  
Rue de l'Industrie 7  
1400 Nivelles  
Belgium  
Tel.: +32 (67) 895959  
Fax: +32 (67) 895958  
e-mail: info@mdeur.be

**Meridian Bioscience Europe France**  
455, Promenade des Anglais  
06299 Nice Cedex-3  
France  
Tel.: +33 (0) 493187210  
Fax: +33 (0) 493187211  
e-mail: mdeur.info@fnac.net

**Meridian Bioscience Europe b.v.**  
Halderheiweg 6  
5282 SN Boxtel  
Holland  
Tel.: +31 (411) 62 11 66  
Fax: +31 (411) 62 48 41  
e-mail: meridian@wxs.nl

**OTHER MERIDIAN PRODUCTS**

MERIDIAN PRODUCT

Merifluor® Cryptosporidium/Giardia  
Premier Toxins A&B  
ImmunoCard®STAT1 E. coli O157 Plus  
Para-Pak® C&S  
Para-Pak® Enteric Plus

CATALOG NUMBER

250050  
616096  
750530  
900612  
900812

For technical assistance, please call our Technical Support Center at 1-800-343-3858 between the hours of 8 AM and 6 PM, Eastern Standard Time. To place an order, please call our Customer Service Department at 1-800-543-1980.



SN 11151

Printed in the U.S.A. on recycled paper  
Copyright © Meridian Bioscience, Inc.

Rev. 12/01