

## RIDA® UNITY Bacterial Stool Panel

**REF** UN2405



## 1. Zweckbestimmung

Für die *in-vitro* Diagnostik. Der RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Test, welcher auf der RIDA®UNITY Plattform durchgeführt wird, ist eine multiplex real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*), *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica* DNA aus unbehandelten humanen Stuhlproben von Personen mit Anzeichen und Symptomen einer akuten Gastroenteritis.

Der RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Test ist zur Unterstützung der Differentialdiagnose von Bakterien-Infektionen (*Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*), *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica*) bei Patienten mit Symptomen einer Gastroenteritis in Verbindung mit anderen klinischen Befunden und Laborbefunden vorgesehen.

Negative Ergebnisse schließen eine Infektion mit *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*), *Salmonella* spp. oder *Yersinia enterocolitica* nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für die Diagnose herangezogen werden.

Das Produkt ist für die professionelle Anwendung vorgesehen.

## 2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Durchfallerkrankungen sind ein wichtiges Gesundheitsproblem und verursachen bei Kindern weltweit ca. 1,7 Milliarden Fälle pro Jahr<sup>(1)</sup>. Nach der Weltgesundheitsorganisation (WHO) gelten sie als zweithäufigste Ursache mit jährlich etwa 525.000 Todesfällen bei Kindern unter 5 Jahren, insbesondere in den Entwicklungsländern<sup>(1)</sup>. Häufige Ursachen einer bakteriellen Durchfallerkrankung sind *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica* Infektionen<sup>(2)</sup>. *Campylobacter*-Spezies gehören weltweit zu einer der vier häufigsten Ursachen einer bakteriellen Diarrhö<sup>(3)</sup>. In den USA verursachen diese Erreger etwa 1,5 Millionen Erkrankungen (Campylobacteriose) im Jahr<sup>(4)</sup>. Laut dem Robert Koch Institut (RKI) besteht in Deutschland eine Inzidenz von 80 bis 90 Erkrankungen pro 100.000 Personen<sup>(5)</sup>. Die überwiegende Mehrheit der gemeldeten *Campylobacter*-Infektionen werden durch *C. jejuni* verursacht, dessen weltweite Inzidenz sogar die von *E. coli* Infektionen übersteigt<sup>(2, 3)</sup>. Auch *C. coli* ist eine wichtige Spezies innerhalb der Gattung und ist für 1 bis 25 % aller *Campylobacter*-bedingten Durchfallerkrankungen verantwortlich<sup>(3)</sup>. *Campylobacter*-Infektionen beim Menschen gelten in erster Linie als lebensmittelbedingt. Der Hauptübertragungsweg ist daher der Verzehr von kontaminiertem, nicht ausreichend gegartem Fleisch sowie von Rohmilch und kontaminiertem Wasser. Die infektiöse Dosis ist mit 500 Bakterien relativ gering<sup>(5)</sup>. Die typische Inkubationszeit von *Campylobacter* spp. liegt zwischen 1 und 7 Tagen mit unterschiedlichen Krankheitssymptomen. Charakteristische Symptome der Campylobacteriose sind Durchfall mit wässrigem bis blutigem Stuhl, Fiber, Schwächegefühl und Bauchschmerzen<sup>(2, 5)</sup>.

*Salmonella*-Spezies sind ebenfalls eine der Hauptursachen einer bakteriellen Gastroenteritis weltweit. Die Gattung *Salmonella* unterteilt sich in die 2 Arten

*S. enterica* und *S. Bongori* und umfasst derzeit ungefähr 2.500 Serotypen. Salmonellen können insgesamt drei Formen von Salmonellose verursachen: nicht-invasiv und nicht-typhoid, invasiv und nicht-typhoid sowie typhoides Fieber<sup>(2)</sup>. In den USA treten laut dem Centers for Disease Control and Prevention (CDC) jedes Jahr rund 1,35 Millionen Fälle von Salmonellosen mit mehr als 26.500 Krankenhauseinweisungen und 420 Todesfällen auf<sup>(6)</sup>. Die meisten der Salmonellosen werden durch *S. typhimurium* und *S. enteritidis* verursacht. Bei Typhus hingegen gelten *S. typhi* und *S. paratyphi* A, B oder C als ursächlich<sup>(7)</sup>. Weltweit treten jährlich etwa 22 Millionen Typhus Erkrankungen auf, die rund 200.000 Todesfälle mit sich bringen<sup>(8)</sup>. Die Übertragung von Salmonellen erfolgt durch den Verzehr unsachgemäß zubereiteter Eier oder eierhaltige Produkte, rohes Fleisch, kontaminiertes Wasser oder durch Kontakt mit infizierten Tieren<sup>(7)</sup>. Die infektiöse Dosis von Salmonellen variiert von 1 bis 1000 Bakterien. Eine Salmonellose tritt nach einer Inkubationszeit von 6 bis 72 h mit klinischen Symptomen wie Übelkeit, Erbrechen, Bauchkrämpfe, Durchfall, Fieber und Kopfschmerzen auf<sup>(2, 7)</sup>. Bei Personen, die an Typhus erkranken, kommt es innerhalb von 2 bis 3 Tagen zu Kopfschmerzen, Gliederschmerzen, hohem Fieber (ab 39 °C bis 41 °C) und Abdominalbeschwerden<sup>(8)</sup>.

*Yersinia enterocolitica* ist eine von drei *Yersinia* Arten (*Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*) der Gattung *Yersinia*. *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* können die intestinale Yersiniose verursachen. In den USA treten laut CDC etwa 117.000 *Y. enterocolitica* Erkrankungen mit 640 Krankenhauseinweisungen und 35 Todesfällen pro Jahr auf<sup>(9)</sup>. Eine Infektion mit *Yersinia enterocolitica* erfolgt durch kontaminierte Lebensmittel, insbesondere rohes oder unzureichend gegartes Schweinefleisch oder kontaminiertes Wasser<sup>(10)</sup>. Nach einer Inkubationszeit von 3 bis 7 Tagen kommt es bei Personen, die an einer Yersiniose erkranken zu Durchfall, Erbrechen und Bauchschmerzen. Die Symptome können bis zu 3 Wochen anhalten<sup>(10, 11)</sup>.

### 3. Testprinzip

RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel ist eine multiplex real-time PCR zum direkten, qualitativen Nachweis von *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*), *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica* in humanen Stuhlproben.

Die Abarbeitung erfolgt ausschließlich automatisiert mit dem RIDA®UNITY System. Zunächst erfolgt die Extraktion der Nukleinsäuren mithilfe des RIDA®UNITY Universal Extraction Kit und unter Verwendung des Internal Control Kits.

Der Nachweis der Targetsequenz erfolgt im One-Step real-time RT-PCR Format, d.h. die reverse Transkription (RT) und die anschließende PCR finden in einem Reaktionsgefäß statt. Die isolierte RNA wird dabei mit Hilfe einer Reversen Transkriptase in cDNA umgeschrieben. Die spezifischen Genfragmente für *Campylobacter* spp. (16S rDNA), *Salmonella* spp. (ttr) und *Yersinia enterocolitica* (ystA/ystB) werden anschließend mittels real-time PCR amplifiziert.

Die amplifizierten Zielsequenzen von *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. und *Y. enterocolitica* werden mit Hydrolyse-Sonden, die an einem Ende mit dem Quencher und am anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor) markiert sind, nachgewiesen. In Gegenwart einer Zielsequenz hybridisieren die Sonden mit den Amplikons. Während der Extension trennt die Taq-Polymerase den Reporter vom Quencher. Der Reporter emittiert ein Fluoreszenzsignal, das durch die optische Einheit eines real-time PCR-Gerätes detektiert wird. Das Fluoreszenzsignal steigt mit der Menge der gebildeten Amplikons an. Um die Probenpräparation und/oder eine potentielle PCR-Inhibition kontrollieren zu können, ist eine parallele Anwendung des RIDA®UNITY Internal Control Kit nötig.

### 4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung sind ausreichend für 96 Bestimmungen\*.

**Tab. 1:** Packungsinhalt

Reagenz	Menge		Deckelfarbe
Reaction Mix	1 ×	1935 µl	gelb, gebrauchsfertig
Enzyme Mix	1 ×	350 µl	rot, gebrauchsfertig
Positive Control	1 ×	200 µl	blau, gebrauchsfertig
Negative Control	1 ×	450 µl	weiß, gebrauchsfertig

\*bei mehrfacher Verwendung und kleineren Serien kann sich die Anzahl der Reaktionen verringern

## 5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Bitte folgen Sie den Handhabungsvorgaben in Tabelle 2 und lagern Sie das Kit unmittelbar nach Verwendung gemäß den aufgeführten Angaben.
  - Alle Reagenzien müssen lichtgeschützt bei -16 °C bis -28 °C gelagert werden und können ungeöffnet bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.
  - Vor dem Gebrauch sollten die Reagenzien schonend aufgetaut werden (z.B. im Kühlschrank bei 2 - 8 °C).
  - Ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen bis zu 8 Mal beeinträchtigt die Testeigenschaften nicht.
- **Tab. 2:** Lagerungsbedingungen und -hinweise

	Lagertemperatur	Maximale Lagerzeit
ungeöffnet	-16 °C bis -28 °C	Bis zum aufgedrucktem Verfallsdatum verwendungsfähig
geöffnet	-16 °C bis -28 °C	8 Tau-/Frier-Zyklen

## 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

Der RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel multiplex real-time RT-PCR Test ist ausschließlich für die Verwendung mit dem RIDA®UNITY System geeignet. Für eine korrekte Anwendung sind folgende Produkte zwingend erforderlich:

### 6.1 Reagenzien

Folgende Reagenzien werden für die Durchführung des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Tests benötigt:

Reagenzien	Artikelnummer
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

### 6.2 Laborzubehör

Folgendes Zubehör wird für die Durchführung des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Tests benötigt:

Zubehör
RIDA®UNITY System (R-Biopharm)
RIDA®UNITY-Verbrauchsmaterialien (Spitzen, Platten, Reaktionsgefäße, Folien) - Siehe hierzu Bedienungsanleitung RIDA®UNITY System Bestellinformationen Verbrauchsmaterial
Vortexer
Tischzentrifuge
Puderfreie Einmalhandschuhe

Das RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Kit kann in Verbindung mit anderen kompatiblen Cyclern verwendet werden. Alternative real-time PCR-Geräte müssen durch den Anwender verifiziert/validiert werden. Kontaktieren Sie bitte die R-Biopharm AG zur Überprüfung der Kompatibilität unter [pcr@r-biopharm.de](mailto:pcr@r-biopharm.de).

## 7. Vorsichtsmaßnahmen

Für die *in-vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von qualifiziertem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten.

Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben, persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.

In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken. Vermeiden Sie eine Kontamination der Proben und der Komponenten des Kits mit Mikroben und Nukleasen (DNase / RNase).

Klinische Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, entsprechend entsorgt werden.

Das Austauschen und Vermischen der Komponenten (Reaction Mix, Enzyme-Mix, Positive Control, Negative Control) einer Kit-Charge mit den Komponenten einer anderen Charge ist untersagt.

Das Testkit kann nach der erstmaligen Öffnung maximal 4 Wochen verwendet werden und nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden. Diese Vorgaben werden ebenfalls durch das RIDA®UNITY System überprüft.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Weitere Details zum Safety Data Sheet (SDS) finden Sie unter der Artikelnummer auf <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Für Anwender in der Europäischen Union: Im Zusammenhang mit dem Produkt auftretende schwerwiegenden Vorfälle sind der R-Biopharm AG und der zuständigen nationalen Behörde zu melden.

Der Kurzbericht über Sicherheit und Leistung (SSP) für dieses Produkt ist nach dem Start der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte/EUDAMED unter <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> verfügbar. Suchen Sie nach dem Produkt in der Datenbank mit der UDI-DI, welche sich auf der Außenverpackung des Produktes befindet.

## 8. Sammlung und Lagerung der Proben

Für die bestmögliche Performance des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Assays wird die Verwendung von frischem Probenmaterial empfohlen.

Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden.

Stuhlproben sollten nicht in Transportbehältern gesammelt werden, die Transportmedien mit Konservierungstoffen, tierischen Seren, Metall-Ionen, oxidierenden Agenzien oder Detergenzien enthalten, da Interferenzen mit den RIDA®UNITY Tests auftreten können.

Es wird empfohlen, Aliquots der Proben herzustellen, um ein wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden. Gefrorene Proben sollten direkt vor der Extraktion aufgetaut werden, um eine Degradation der Nukleinsäuren zu verhindern.

Bitte folgen Sie den Probenlagerungsvorgaben in Tabelle 3, Tabelle 4 und Tabelle 5.

**Tab. 3:** Probenlagerung - Nachweis *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*)

Native Proben - Stuhl		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 Tage	≤ 7 Tage	≤ 3 Monate / ≤ 6 Monate

Im Eluat		
+30 °C	+4 °C	-20 °C
≤24h	≤ 36 Stunden	≤ 7 Tage

Bei einer Lagerung von -20 °C / - 80 °C beeinträchtigt ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen des Eluats bis zu 3 Mal die Testeigenschaft nicht.

**Tab. 4:** Probenlagerung - Nachweis *Salmonella* spp.

Native Proben - Stuhl		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
< 1 Tage	≤ 7 Tage	≤ 6 Monate

Im Eluat		
+30 °C	+4 °C	-20 °C
≤24h	≤ 36 Stunden	≤ 7 Tage

Bei einer Lagerung von -20 °C / -80 °C beeinträchtigt ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen der Proben/des Eluats bis zu 3 Mal die Testeigenschaft nicht.



**Tab. 5:** Probenlagerung - Nachweis *Yersinia enterocolitica*

Native Proben - Stuhl		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 7 Tage	≤ 6 Monate

Im Eluat		
+30 °C	+4 °C	-20 °C
≤24h	≤ 36 Stunden	≤ 7 Tage

Bei einer Lagerung von -20 °C / -80 °C beeinträchtigt ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen der Proben/des Eluats bis zu 3 Mal die Testeigenschaft nicht.

### 8.1 DNA-Präparation aus Stuhlproben

Für die DNA-Isolierung aus Stuhlproben kommt das RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (UN0001) zur Anwendung. Die direkte Durchführung in der Gebrauchsanweisung des RIDA®UNITY Universal Extraction Kits ist zu beachten (Kapitel: Nukleinsäure-Präparation aus Stuhlproben).

## 9. Testdurchführung

Sowohl die Proben als auch die Reagenzien des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Kits werden zu Beginn der Anwendung bereits auf dem RIDA®UNITY System platziert.

Vorab sollten **Reaction Mix**, **Negative Control** und **Positive Control** mittels eines Vortexers ausreichend gemischt werden. Den **Enzyme Mix** nicht vortexen! Im Anschluss sind alle Komponenten kurz zu zentrifugieren.

Die PCR-Tubes für die zu untersuchenden Proben müssen in dem integrierten PCR-Cycler vorab positioniert werden.

Für die korrekte Beladung des Systems mit Reagenzien und Verbrauchsmaterial stehen entsprechende Carrier zu Verfügung. Die Beladung erfolgt nach Angabe des RIDA®UNITY Systems. Entsprechende Abschnitte im Handbuch des RIDA®UNITY Systems sind zu beachten (Kapitel: Durchführung eines Laufs).

Der RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Test darf nur in Kombination mit dem RIDA®UNITY Internal Control Kit angewendet werden. Dadurch kann eine mögliche PCR-Inhibition frühzeitig erkannt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt werden. Die Anwendung erfolgt entsprechend den Angaben in der Gebrauchsanweisung des RIDA®UNITY Internal Control Kits (Kapitel: Testdurchführung).

Die automatisierte Abarbeitung wird im Handbuch des RIDA®UNITY Systems beschrieben (Kapitel: Durchführung eines Laufs).

## 9.1 Geräteeinstellungen

### 9.1.1 Universal real-time PCR-Profil

Zur Harmonisierung der RIDA®UNITY Assays wird der RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Assay ausschließlich im Universalprofil verifiziert. Das bietet die Möglichkeit DNA und RNA Assays miteinander zu kombinieren. Daher ist im Universalprofil generell eine reverse Transkription vorangestellt.

**Tab.6:** Universal real-time PCR Profil für RIDA®UNITY

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58°C
Initiale Denaturierung	1 min, 95°C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95°C
Annealing/Extension	15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

**Hinweis:** Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

## 9.2 Detektionskanaleinstellung

**Tab.7:** Auswahl der geeigneten Detektionskanäle

Real-time PCR-Gerät	Nachweis	Detektionskanal	Bemerkung
<b>R-Biopharm RIDA®UNITY</b>	<i>Salmonella</i> spp.	FAM	SEEK Kanal Sal
	Internal Control	HEX	SEEK Kanal ICD
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	ROX	SEEK Kanal Yers
	<i>Campylobacter</i> spp.	Cy5	SEEK Kanal Campy

## 10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Die Auswertung der Proben erfolgt über die Analyse-Software RIDA®SEEK, des RIDA®UNITY Systems. **Negative Control** und **Positive Control** müssen die korrekten Ergebnisse zeigen (s. Tab. 8).

Die **Positive Control** liegt in einer Konzentration von  $10^3$  Kopien/ $\mu$ l vor. Sie wird in einer Gesamtmenge von  $5 \times 10^3$  Kopien in jedem PCR-Lauf eingesetzt.

Die **Negative Control** beinhaltet bereits die RIDA®UNITY Internal Control. Da sie kein Template enthält, sind in den Target-Kanälen keine Signale zu erwarten. Positive Signale im IC-Kanal, mit dem die Internal Control detektiert wird, sind zwingend notwendig (s. Tab 8).

**Tab.8:** Ein valider PCR-Lauf muss die folgenden Bedingungen erfüllen

Probe	Ergebnis	IC Ct	Zielgen Ct
Positivkontrolle	+	N/A *	Siehe Certificate of Analysis
Negativkontrolle	-	Ct > 20	0

*\* Ein Ct-Wert für die IC ist nicht erforderlich um ein positives Ergebnis der Positivkontrolle zu erhalten.*

Wenn die Positivkontrolle nicht in dem angegebenen Ct-Bereich liegt, die Negativkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen in der PCR neu angesetzt werden.

Wenn die Negativkontrolle nicht negativ ist, die Positivkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen in der PCR neu angesetzt werden.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte
- korrekte Testdurchführung

Sind bei Wiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm-Distributor.

## 11. Interpretation der Ergebnisse

Die Auswertung und Interpretation der Proben erfolgt über die Analyse-Software des RIDA®UNITY Systems, der RIDA®SEEK.

Derzeit gibt es keine internationale anerkannte Referenzmethode oder Referenzmaterial für die Standardisierung. Die Kontrollmaterialien sind auf die R-Biopharm AG internen Standards, basierend aus spezifischen DNA-Amplifikaten, metrologisch rückführbar.

Für weitere Informationen zur metrologischen Rückführbarkeit kontaktieren Sie bitte die R-Biopharm AG.

Entnehmen Sie bitte die eingestellten Werte und Schwankungen sowie weitere Details dem Analysezertifikat (Certificate of Analysis, CoA).

**Tab.9:** Interpretation der Ergebnisse\*

Nachweis			IC	Ergebnis
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Campylobacter</i> spp.		
+	-	-	+/-	<i>Salmonella</i> spp. nachweisbar
-	+	-	+/-	<i>Yersinia enterocolitica</i> nachweisbar
-	-	+	+/-	<i>Campylobacter</i> spp. nachweisbar
+	+	-	+/-	<i>Salmonella</i> spp. und <i>Yersinia enterocolitica</i> nachweisbar
+	-	+	+/-	<i>Salmonella</i> spp. und <i>Campylobacter</i> spp. nachweisbar
-	+	+	+/-	<i>Yersinia enterocolitica</i> und <i>Campylobacter</i> spp. nachweisbar
+	+	+	+/-	<i>Salmonella</i> spp., <i>Yersinia enterocolitica</i> und <i>Campylobacter</i> spp. nachweisbar
-	-	-	+	Zielgene nicht nachweisbar
-	-	-	-	Ungültig

\* + = positiv  
- = negativ

Eine Probe wird positiv bewertet, wenn die Proben-DNA und die Internal Control eine Amplifikation im Nachweissystem zeigen.

Eine Probe wird ebenfalls positiv bewertet, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation zeigt, für die Internal Control jedoch keine Amplifikation im Nachweissystem zu sehen ist. Der Nachweis der Internal Control ist in diesem Fall nicht notwendig, da

hohe Konzentrationen des Amplikons zu einem schwachen oder fehlenden Signal der **Internal Control** führen können.

Eine Probe wird negativ bewertet, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation zeigt, für die **Internal Control** jedoch eine Amplifikation im Nachweissystem zu sehen ist. Eine Inhibierung der PCR-Reaktion kann durch die Detektion der **Internal Control** ausgeschlossen werden.

Eine Probe ist ungültig, wenn die Proben-DNA und die **Internal Control** keine Amplifikation im Nachweissystem zeigen. In der Probe sind PCR-Inhibitoren vorhanden bzw. es trat ein Fehler im Extraktionsverfahren auf.

## 12. Grenzen der Methode

1. Der RIDA<sup>®</sup>UNITY Bacterial Stool Panel Test weist *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*), *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica* DNA aus unbehandelten humanen Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe des ermittelten Ct-Werts und dem Auftreten schwerer klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem vollständigen klinischen Bild zu interpretieren.
2. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung sollte nicht allein zur Diagnose führen, sondern immer im Zusammenhang mit der Anamnese und Symptomatik des Patienten betrachtet werden.
3. Dieser Test ist nur zur automatischen Abarbeitung mit dem RIDA<sup>®</sup>UNITY System zugelassen.
4. Dieser Test wird nur für Stuhlproben verifiziert.
5. Unsachgemäße Probenentnahme, -transport, -lagerung und -handhabung oder eine Erregerlast unterhalb der analytischen Sensitivität des Tests können zu falsch-negativen Ergebnissen führen.
6. Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu falsch-negativen oder ungültigen Ergebnissen führen.
7. Wie bei allen auf PCR basierenden *in-vitro*-diagnostischen Tests können äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter der Nachweisgrenze (LoD 95 %) liegen, nachgewiesen werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind nicht immer reproduzierbar.
8. Mutationen oder Polymorphismen in den Primer- oder Sondenbindungsregionen können den Nachweis neuer oder unbekannter Varianten beeinträchtigen und mit RIDA<sup>®</sup>UNITY Bacterial Stool Panel zu falsch-negativen Ergebnissen führen.
9. Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit lebensfähiger Organismen an. Ein positives Ergebnis deutet darauf hin, dass die Zielgene (*Salmonella* spp. (ttr), *Yersinia enterocolitica* (ystA/ystB), *Campylobacter* spp. (16S rDNA, nur *C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*)) vorhanden sind.
10. Dieser Assay sollte gemäß der GLP-Verordnung (Gute Laborpraxis) durchgeführt werden. Der Anwender muss bei der Durchführung des Tests die Anweisungen des Herstellers genau befolgen.

## 13. Leistungsmerkmale

### 13.1 Klinische Leistungsmerkmale

Die RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel multiplex real-time PCR wurde in einem externen Labor mit einem CE-markierten Referenztest verglichen.

Insgesamt wurden 405 Stuhlproben von Patienten mit klinischen Symptomen einer gastrointestinalen Infektion, die positiv oder negativ auf *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica* vorgetestet wurden, mit dem RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel und dem CE-markierten Referenztest analysiert. Die Ergebnisse für die einzelnen Erreger sind in den Tabellen 10 - 12 dargestellt:

**Tab. 10:** Nachweis von *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*)

		Referenz PCR		Gesamt
		Positiv	Negativ	
RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel - <i>Campylobacter</i> spp. ( <i>C. coli</i> , <i>C. lari</i> , <i>C. jejuni</i> )	Positiv	118	0	118
	Negativ	11	276	287
	Gesamt	129	276	405

Relative Sensitivität (95 % KI)	91,5 % (85,3 % - 95,7%)
Relative Spezifität (95 % KI)	100 % (98,7 % - 100 %)

**Tab. 11:** Nachweis von *Salmonella* spp.

		Referenz PCR		Gesamt
		Positiv	Negativ	
RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel - <i>Salmonella</i> spp.	Positiv	118	1	119
	Negativ	18	268	286
	Gesamt	136	269	405

Relative Sensitivität (95 % KI)	86,8 % (79,9 % - 92,0 %)
Relative Spezifität (95 % KI)	99,6 % (97,9 % - 100 %)

**Tab. 12:** Nachweis von *Yersinia enterocolitica*

		Referenz PCR		Gesamt
		Positiv	Negativ	
RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel - <i>Yersinia enterocolitica</i>	Positiv	94	0	94
	Negativ	8	303	311
	Gesamt	102	303	405

Relative Sensitivität (95 % KI)	92,2 % (85,1 % - 96,6 %)
Relative Spezifität (95 % KI)	100 % (98,8 % - 100 %)

## 13.2 Analytische Leistungsmerkmale

### 13.2.1 Nachweisgrenze (LoD 95 %)

Zur Ermittlung des LoDs wurde pro Target und Matrix jeweils eine positive Kontrollprobe (negative Stuhlproben, gespiked) in fünf Verdünnungsstufen (in 0,25 log-Stufen) mit 20 Replikaten pro Stufe mit einer Lot gemessen. Darauffolgend wurde eine Probit-Analyse durchgeführt. Anschließend wurde die Bestätigung des berechneten LoD mit 20 Replikaten pro Target und Matrix an der berechneten Verdünnungsstufe / Konzentration durchgeführt.

Für die Testung wurden folgende Stämme verwendet:

*Salmonella typhimurium*: ATCC® 14028™

*Yersinia enterocolitica*: DSM 13030)

*Campylobacter jejuni*: ATCC® 33291™

*Campylobacter coli*: ATCC® 43478™

*Campylobacter lari*: DSM 11375

Für den Nachweis von *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*), *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica* DNA mithilfe des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Assays, auf dem RIDA®UNITY System konnten folgende Nachweisgrenzen („Limit of detection“, LoD) bestimmt werden.

Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Tabelle 13 dargestellt.

**Tab. 13:** Ergebnisse der Nachweisgrenze des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Tests für die Parameter *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*), *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica*.

	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Yersinia enterocolitica</i>
LoD	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Campylobacter coli</i>: 14.028 CFU*/ml</li> <li>• <i>Campylobacter jejuni</i>: 8.128 CFU*/ml</li> <li>• <i>Campylobacter lari</i>: 2.762 CFU*/ml</li> </ul>	144.212 CFU/ml	102.565 CFU/ml

\*CFU: Colony Forming Units

Der LoD für den Parameter *Campylobacter coli* in Stuhlproben wurde bei 14.028 CFU/ml bestimmt.

Der LoD für den Parameter *Campylobacter jejuni* in Stuhlproben wurde bei 8.128 CFU/ml bestimmt.

Der LoD für den Parameter *Campylobacter lari* in Stuhlproben wurde bei 2.762 CFU/ml bestimmt.

Der LoD für den Parameter *Salmonella* spp. in Stuhlproben wurde bei 144.212 CFU/ ml bestimmt.

Der LoD für den Parameter *Yersinia enterocolitica* in Stuhlproben wurde bei 102.565 CFU/ml bestimmt.



## 13.2.2 Analytische Spezifität

### Interferierende Substanzen

Das Vorhandensein von RT-PCR-Inhibitoren und interferierenden Substanzen kann zu falsch-negativen oder ungültigen Ergebnissen führen. Daher wurden die Auswirkungen verschiedener Substanzen, die aufgrund verbreiteter Anwendung bei gastrointestinalen Infektionen oder verbreitetem Vorkommen in den entsprechenden Proben vorliegen könnten, untersucht.

Substanzen, die möglicherweise die Testergebnisse signifikant beeinflussen könnten, wurden zunächst in einem Interferenz-Screen untersucht. Dabei wurden verschiedene Substanzen, die entweder als Rückstand der Extraktion, aufgrund verbreiteter Anwendung bei gastrointestinalen Infektionen (verschiedene apotheken- oder verschreibungspflichtige Medikamente) oder verbreitetem Vorkommen in den entsprechenden Kontrollproben z.B. Muzine, die sich auf der Oberfläche von Schleimhäuten befinden oder Blut) vorhanden sein könnten, zunächst in hohen Konzentrationen (dreifache Tagesdosis oder Simulation des „worst case“) überprüft. Für die in Tabelle 14 aufgeführten Substanzen wurden keine Interferenzen festgestellt.

**Tab. 14:** Potentiell interferierende Substanzen

Potentiell interferierende Substanz	Konzentration
Mucine	5 % (v/v)
Humanblut / Hämoglobin	5 % (v/v)
Stearin- / Palmitinsäure	40 % (v/v)
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg Filmtabletten (Azithromycin)	84 mg/ml (w/v)
Kohletabletten	6,0 % (w/v)
Ethanol	5 % bezogen auf das Eluat
Guanidiniumhydrochlorid	5 % bezogen auf das Eluat

## Kreuzreaktivität

Verschiedene Organismen (Bakterien, Parasiten, Pilze und Viren), die häufig in der Matrix Stuhl vorkommen können, wurden untersucht. Die Auswahl der zu untersuchenden Mikroorganismen für diesen Assay beruhte entweder darauf, dass diese natürlicherweise in Stuhlproben zu finden sind oder als gastrointestinale Erreger entsprechende Symptome hervorrufen. Für Analysen wurden Bakterien- (zwischen  $10^6$  und  $10^9$  CFU/ml) oder Pilzkulturen, Überstände von Viruskulturen, Isolate oder LGS-Standards der jeweiligen Organismen verwendet.

Die RIDA<sup>®</sup>UNITY Bacterial Stool Panel multiplex real-time PCR ist spezifisch für *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*), *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica*. Es wurden keine Kreuzreaktivitäten zu den folgenden Spezies festgestellt (s. Tab. 15):

**Tab. 15:** Potentiell kreuzreaktive Organismen

Organismus	Testergebnis*		
	<i>Campylobacter</i> spp. ( <i>C. coli</i> , <i>C. lari</i> , <i>C. jejuni</i> )	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Adenovirus 40, human, strain Dugan	-	-	-
Adenovirus 41, human, strainTak	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Astrovirus Type 2	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</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> (O157:H7)	-	-	-
<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	-	-
<i>E. coli</i> (O6)	-	-	-
<i>Entamoeba histolytica</i> HK-9	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
<i>Giardia lamblia</i>	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-
Norovirus GGI	-	-	-
Norovirus GGII	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-
Rotavirus strain Wa	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-

\* - = negativ

### 13.2.4 Präzision

Die Präzision des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel real-time PCR Tests wurde für folgende Betrachtungsebenen ermittelt.

*Intra-Assay* Präzision: Bestimmung von 5 Kontrollproben mit je 20 Replikaten auf dem RIDA®UNITY unter identischen Bedingungen.

*Inter-Assay* Präzision: Bestimmung von 5 Kontrollproben in 20 Läufen in Duplikaten an 10 Arbeitstagen (2 Läufe pro Tag) von unterschiedlichen Operatoren unter reproduzierbaren Bedingungen.

Die Testungen zur *Intra-* und *Inter-Assay* Präzision erfolgten mit drei unterschiedlichen Lots.

Die Präzisionsdaten wurden mit fünf Kontrollproben, sowie der Assay zugehörigen PTC und der NTC ermittelt.

Die erhaltenen Variationskoeffizienten der jeweiligen Messungen mit dem RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel real-time PCR Test auf dem RIDA®UNITY lagen unter 4,19 %.

**Tab. 16:** Ergebnisse der Präzision des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Tests für *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*, *C. jejuni*).

Ct- Mittelwert / VK	<i>Intra-Assay</i>			<i>Inter-Assay</i>			<i>Inter- Lot</i>	
	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3	
1	Ct	24,31	25,0	24,3	23,4	23,4	24,3	23,4
	VK (%)	0,95	0,43	0,35	1,86	1,81	1,90	1,86
2	Ct	31,3	31,2	31,4	27,9	27,9	27,9	27,9
	VK (%)	0,77	0,59	0,74	4,19	3,82	3,84	3,96
3	Ct	30,8	30,6	30,5	30,4	30,1	30,2	30,3
	VK (%)	0,49	0,67	0,84	1,73	2,44	1,73	2,00
4	Ct	29,0	28,9	29,3	29,1	28,9	29,0	29,0
	VK (%)	0,41	0,30	0,80	3,08	2,99	3,01	3,03
5	Ct	-	-	-	-	-	-	-
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

**Tab. 17:** Ergebnisse der Präzision des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Tests für *Salmonella* spp..

Ct- Mittelwert / VK	<i>Intra-Assay</i>			<i>Inter-Assay</i>			<i>Inter- Lot</i>	
	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3	
1	Ct	23,6	23,7	23,7	23,6	23,7	23,6	23,7
	VK (%)	0,86	0,41	0,39	1,34	1,32	1,44	1,37
2	Ct	30,4	30,4	30,4	27,0	26,9	27,0	27,0
	VK (%)	0,71	0,58	0,74	1,31	1,24	1,29	1,27
3	Ct	30,3	30,3	30,1	30,2	30,2	30,2	30,2
	VK (%)	0,38	0,65	0,74	1,02	1,03	1,20	1,09
4	Ct	27,3	27,2	27,3	27,9	27,8	27,8	27,9
	VK (%)	0,54	0,54	0,60	1,30	1,22	1,21	1,24
5	Ct	-	-	-	-	-	-	-
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

**Tab. 18:** Ergebnisse der Präzision des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel Tests für *Yersinia enterocolitica*.

Ct- Mittelwert / VK	<i>Intra-Assay</i>			<i>Inter-Assay</i>			<i>Inter- Lot</i>	
	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3	
1	Ct	25,1	26,1	25,2	24,4	24,4	24,4	24,4
	VK (%)	0,84	0,36	0,58	1,61	1,61	1,70	1,64
2	Ct	32,6	32,5	32,4	28,6	28,5	28,4	28,5
	VK (%)	1,63	1,15	1,31	1,51	1,45	1,78	1,58
3	Ct	31,9	31,8	31,8	31,5	31,4	31,4	31,4
	VK (%)	0,81	0,91	1,08	1,60	1,58	1,45	1,54
4	Ct	29,1	29,0	29,2	29,7	29,6	29,7	29,7
	VK (%)	0,63	0,54	0,59	2,22	2,22	2,19	2,21
5	Ct	-	-	-	-	-	-	-
	VK (%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

### 13.2.5 Analytische Reaktivität

Die Reaktivität des RIDA®UNITY Bacterial Stool Panel multiplex real-time PCR Tests wurde mit verschiedenen *Salmonella*- Serovaren, *Campylobacter*-Spezies und *Yersinia enterocolitica* Subspezies untersucht (s. Tab. 19).

**Tab. 19:** Analytische Reaktivitätstestung

Stamm	Konzentration	Ergebnis*		
		<i>Campylobacter</i> spp. ( <i>C. coli</i> , <i>C. lari</i> , <i>C. jejuni</i> )	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Campylobacter coli</i>	6,5x10 <sup>2</sup> CFU/ml	+	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,5x10 <sup>3</sup> CFU/ml	+	-	-
<i>Campylobacter lari</i> ssp. <i>lari</i>	1,04x10 <sup>2</sup> CFU/ml	+	-	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Typhi</i>	1,49x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Typhimurium</i>	7,7x10 <sup>3</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Enteritidis</i>	3,3x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Paratyphi A</i>	1,75x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Paratyphi B</i>	2,08x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Paratyphi C</i>	1,1x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Newport</i>	3,1x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Heidelberg</i>	5,9x10 <sup>3</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Javiana</i>	1,79x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Dublin</i>	2,88x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Agona</i>	1,91x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Choleraesuis</i>	9,6x10 <sup>3</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Infantis</i>	1,3x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Montevideo</i>	8,4x10 <sup>3</sup> CFU/ml	-	+	-

<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Anatum</i>	2,38x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Mississippi</i>	2,27x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>S. enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Serovar <i>Bareily</i>	1,43x10 <sup>4</sup> CFU/ml	-	+	-
<i>Yersinia enterocolitica</i> ssp. <i>enterocolitica</i>	4,2x10 <sup>3</sup> CFU/ml	-	-	+
<i>Yersinia enterocolitica</i> ssp. <i>paleartica</i>	4,9x10 <sup>3</sup> CFU/ml	-	-	+

\* + = positiv (mindestens 2 von 3 Replikaten positiv)

- = negativ












## 14. Versionsübersicht

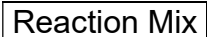
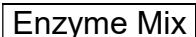
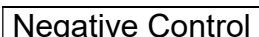
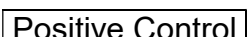
Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2022-04-28	Freigabeversion

## 15. Symbolerklärung

### Allgemeine Symbole

	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

### Testspezifische Symbole

	Reaktions-Mix
	Enzyme-Mix
	Negativkontrolle
	Positivkontrolle

## 16. Literatur

1. World Health Organisation. Diarrhoeal disease 2017, May 2 [Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease#:~:text=Infection%3A%20Diarrhoea%20is%20a%20symptom%20of%20infections%20caused,and%20safe%20water%20for%20drinking%2C%20cooking%20and%20cleaning.>] 2021-09-07
2. Chlebicz A, Śliżewska K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(5).
3. Costa D, Iraola G. Pathogenomics of Emerging Campylobacter Species. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(4).
4. Centers for Disease Control and Prevention. Campylobacter (Campylobacteriosis) 2021 [Available from: <https://www.cdc.gov/campylobacter/index.html>.] 2021-09-07
5. Institut RK. Campylobacter-Enteritis 2018 [Available from: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Campylobacter.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Campylobacter.html).] 2021-09-07
6. Centers for Disease Control and Prevention. Salmonella 2019 [Available from: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>.]
7. Robert Koch Institut. Salmonellose 2016 [Available from: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Salmonellose.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Salmonellose.html).] 2021-09-07
8. Robert Koch Institut. Typhus abdominalis, Paratyphus. 2015.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Yersinia enterocolitica (Yersiniosis) 2016 [Available from: <https://www.cdc.gov/yersinia/index.html>.] 2021-09-07
10. Rosner BM, Stark K, Werber D. Epidemiology of reported Yersinia enterocolitica infections in Germany, 2001-2008. *BMC Public Health*. 2010;10(1):337.
11. Robert Koch Institut. Yersiniose 2019 [Available from: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Yersiniose.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Yersiniose.html).] 2021-09-07