

RIDA® UNITY EHEC/EPEC

REF UN2205



1. Tilsigtet anvendelse

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse. The RIDA®UNITY EHEC/EPEC-test, udført på RIDA®UNITY-platformen, er en multipleks realtids-PCR-test til direkte kvalitativ påvisning af DNA for virulensfaktorerne af EHEC, STEC, EPEC og EIEC/*Shigella* spp. i ubehandlede humane afføringsprøver fra personer med tegn og symptomer på gastrointestinal infektion.

RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen er beregnet til at understøtte differentialdiagnosen af *E. coli* infektioner (EHEC, EPEC, STEC og EIEC/*Shigella* spp.) hos patienter med symptomer på gastrointestinal infektion i forbindelse med andre kliniske og laboratoriemæssige fund.

Negative resultater udelukker ikke infektion med *E. coli* (EHEC, EPEC, STEC eller EIEC/*Shigella* spp.) og bør ikke anvendes som eneste grundlag for diagnosticering.

Produktet er beregnet til professionel brug.

2. Oversigt og forklaring af testen

Diarré sygdomme er et betydeligt sundhedsproblem med globalt ca. 1,7 mia. tilfælde hos børn om året.⁽¹⁾ Ifølge Verdenssundhedsorganisationen (WHO) er disse sygdomme, med ca. 525.000 dødsfald om året, den næststørste dødsårsag hos børn under 5 år, især i udviklingslandene⁽¹⁾. En af de mest almindelige bakterielle patogener af diarré sygdomme er *Escherichia coli*.⁽²⁾

E. coli er en gram-negativ, lactosefermenterende, motil bakterie, der tilhører familien *Enterobacteriaceae*. Det er en normal mave-tarm-kanal-bakterie, men kan også forårsage diarré sygdomme med høj sygelighed og dødelighed hos børn, især i udviklingslandene. Følgende klasser af diarréfremkaldende *E. coli* blev identificeret på grundlag af bakteriens virulenskaraktistika, epidemiologi og kliniske manifestationer: enteropatogen *E. coli* (EPEC), enterotoksinproducerende *E. coli* (ETEC), enterohemoragiske *E. coli* (EHEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC) og enteroaggregative *E. coli* (EaTEC). Alle disse diarréfremkaldende patotyper af *E. coli* kan overføres via den fækal-orale vej.⁽³⁾

Blandt de tarpatogene *E. coli* har den enterohemoragiske *E. coli* (EHEC) fået særlig betydning. De er en undergruppe af shiga-toxin og verotoxin-producerende *E. coli* (henholdsvis STEC eller VTEC). Patogeniciteten af STEC kan spores til deres evne til at kolonisere tarmen ved at klæbe til tarmens epitelceller. Efter kolonisering kan bakterien producere to cytotoxiner, verotoxin 1 og 2. På grund af verotoksinernes lighed med shiga-toxin fra *shigella dysenteriae* kaldes VTEC også STEC. Andre vigtige diagnostiske EHEC-patogenicitetsfaktorer er ikke kun *stx1/stx2* (shiga-toksingener), men også *eae*-genet (*E. coli*-bundne og udslettende gen), hvilket koder for intimin, membranproteinet. Dette membranprotein er ansvarlig for, at patogenet klæber til tarmepitelcellerne.⁽⁴⁾ Kliniske symptomer, der kan være forårsaget af EHEC/STEC hos mennesker spænder fra blodig diarré til hæmolytisk uræmisk syndrom (HUS).^(2, 5) Infektionskilder er primært kontaminerede fødevarer, mens færre end 1000 bakterier er nok til at forårsage en EHEC/STEC-infektion. Det

hidtil værste fødevarerelaterede udbrud forårsaget af STEC var i 2011 i Tyskland. Dette udbrud resulterede i 3816 identificerede STEC-infektioner og 54 dødsfald, hvoraf 32 var forbundet med HUS.⁽⁵⁾

Enteropatogen *E. coli* (EPEC) er kendt som en årsag til pædiatriske diarrésygdomme, især i udviklingslande.⁽³⁾ EPEC kan skelnes fra EHEC ved fravær af shiga-toksiner.⁽³⁾ De mest almindelige symptomer forbundet med en EPEC-infektion er vandig diarré, mavesmerter, kvalme, opkastning og feber, mens den infektiøse dosis hos raske voksne er omkring 10^8 organismer.⁽⁵⁾

Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) og *Shigella* spp. forårsager også diarrésygdomme i hele verden, især i udviklingslandene. De er begge gram-negative bakterier, der er biokemisk og genetisk nært beslægtet med hinanden.⁽⁶⁾ Patogeniciteten af EIEC og *shigella* spp. er baseret på plasmidmedieret invasion i intestinale epitelceller og deres destruktion. Produkterne fra invasionen af plasmidantigen H-gen (*ipaH*) er ansvarlige for denne proces. Dette gen er relevant for påvisning af EIEC/*Shigella*spp., hvilket gør det muligt at skelne denne patotype fra EHEC. Udbrud af EIEC/*Shigella* spp.-infektioner anses hovedsageligt for at være forårsaget af mad og manifesterer sig med diarré, mavesmerter, kvalme og feber.⁽⁶⁾

3. Testprincip

RIDA®UNITY EHEC/EPEC er en multiplex realtids-PCR til direkte kvalitativ påvisning og differentiering af gener til virulensfaktorerne EHEC, STEC, EPEC og EIEC/*Shigella* spp. i humane afførings- eller kulturprøver.

Behandlingen er fuldt automatiseret med Rida®Unity-systemet. Først ekstraheres nukleinsyrene ved hjælp af Rida® UNITY Universal Extraction Kit og Internal Control Kit.

Målesekvensen detekteres altid i et et-trins realtids RT-PCR-format (selv med DNA-assays), dvs. at omvendt transkription (RT) og efterfølgende PCR udføres i ét reaktionshætteglas. I processen transskriberes det isolerede RNA (hvis tilstede) til cDNA ved hjælp af revers transkriptase. De specifikke genfragmenter af virulensfaktorerne *stx1/stx2*, *eae* og *ipaH* forstærkes derefter ved hjælp af realtids-PCR.

De opformerede målesekvenser detekteres ved hjælp af hydrolyseprober, der er mærket med et slukningsmiddel i den ene ende og et fluorescerende referentfarvestof (fluorophore-stof) i den anden. Proberne hybridiseres til ampliconen i nærværelse af en målesekvens. Under forlængelsen adskiller TaqPolymerase referencen fra slukningsmidlet. Referenten udsender et fluorescerende signal, der detekteres af den optiske enhed på et realtids-PCR-instrument. Det fluorescerende signal stiger med mængden af dannede ampliconer. RIDA®UNITY Internal Control Kit skal anvendes samtidigt for at kunne kontrollere prøveklargøring og/eller potentiel PCR-hæmning.

4. Medfølgende reagenser

Sættet indeholder reagenser til 96 bestemmelser*.

Tabel. 1: Medfølgende reagenser

REF	Reagens	Mængde		Lågfårve
UNZ2205RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	gul, klar til brug
UNZ2205EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	rød, klar til brug
UNZ2205PC	Positive Control	1 ×	200 µL	blå, klar til brug
UNZ2205NC	Negative Control	1 ×	450 µL	hvid, klar til brug

*Ved gentagen brug og i mindre serier kan antallet af reaktioner være reduceret.

5. Opbevaringsanvisninger

- Følg retningslinjerne for håndtering i tabel 2, og gem sættet direkte efter brug i henhold til vejledningen.
- Alle reagenser skal opbevares ved -16 °C til -28 °C et mørkt sted og kan, hvis de ikke er åbnet, anvendes indtil udløbsdatoen på etiketten. Kvalitetsgarantien er ikke længere gyldig efter udløbsdatoen.
- Alle reagenser skal optøs omhyggeligt inden brug (f.eks. i et køleskab ved 2 - 8 °C).
- Gentagen frysning og optøning op til 8 gange påvirker ikke testegenskaberne.

Tabel. 2: Opbevaringsforhold og oplysninger

	Opbevaringstemperatur	Maksimal opbevaringstid
uåbnet	-16 °C til -28 °C	Kan bruges indtil den påtrykte udløbsdato
åbnet	-16 °C til -28 °C	8 nedfrysningsoptøningscykluser

6. Nødvendige materialer, som ikke følger med

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time RT-PCR-testen er udelukkende beregnet til brug med RIDA®UNITY-systemet. Følgende produkter er absolut nødvendige for korrekt brug:

6.1 Reagenser

Følgende reagenser er nødvendige for at udføre RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen:

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

6.2 Laboratorieudstyr

Følgende udstyr er nødvendigt for at udføre RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen:

udstyr
RIDA®UNITY-system; varenummer: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY-forbrugsvarer (spidser, plader, reaktionsglas, film). Se brugsanvisningen til RIDA®Unity-systemet for oplysninger om bestilling af forbrugsvarer.
Vortexer
Bordcentrifuge
Pudderfri engangshandsker

Eksterne cykler (mulig systemforbedring)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

RIDA®UNITY EHEC/EPEC Kit kan bruges sammen med andre kompatible cyclere. Alternative realtids PCR-instrumenter skal verificeres/valideres af brugeren. Kontakt R-Biopharm AG på pcr@r-biopharm.de for at kontrollere kompatibiliteten.

7. Advarsler og forsigtighedsregler for brugerne

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.

Denne test må kun udføres af uddannet laboratoriepersonale. Retningslinjerne for arbejde på medicinske laboratorier skal overholdes.

Brugsanvisningen for udførelse af denne test skal altid følges nøje.

Brug ikke munden til at pipettere prøver eller reagenser. Undgå kontakt med ødelagt hud og slimhinder.

Bær personligt beskyttelsesudstyr (passende handsker, kittel, sikkerhedsbriller) ved håndtering af reagenser og prøver, og vask hænderne efter afsluttet test.

Der må ikke ryges, spises eller drikkes i områder, hvor prøver eller testreagenser behandles.

Undgå at kontaminere prøverne og komponenterne i sættet med mikrober og nukleaser (DNase/RNase).

Kliniske prøver skal betragtes som potentielt smitsomme og skal bortskaffes på passende vis, ligesom alle reagenser og materialer, der kommer i kontakt med potentielt smitsomme prøver.

Komponenterne (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) fra et sæt af en parti må ikke udskiftes eller kombineres med komponenterne fra et andet parti.

Testkittet kan bruges i 8 uger efter første åbning (kittet kan genopfyldes op til 6 gange). Brug ikke testsættet efter udløbsdatoen. Disse specifikationer kontrolleres også af RIDA®UNITY-systemet.

Brugerne er ansvarlige for korrekt bortskaffelse af alle reagenser og materialer efter brug. Overhold de nationale bestemmelser for bortskaffelse.

Yderligere oplysninger om sikkerhedsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS) kan findes under varenummer på <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

For brugere i Den Europæiske Union: Rapportér alle alvorlige bivirkninger i forbindelse med produktet til R-Biopharm AG og de passende nationale myndigheder.

Oversigten over sikkerhed og ydeevne (SSP) for dette produkt vil være tilgængelig under <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>, når den europæiske database for medicinsk udstyr (EUDAMED) kommer i gang. I databasen skal du søge efter enheden ved hjælp af UDI-DI'en på enhedens ydre emballage.

8. Indsamling og opbevaring af prøver

Det anbefales at bruge nyt prøvemateriale for at opnå den bedst mulige ydelse af RIDA®UNITY EHEC/EPEC-assayet.

Undgå gentagen nedfrysning/optøning af prøven.

Opsaml ikke afføringsprøverne i transportbeholdere, der indeholder transportmedier med konserveringsmidler, dyresera, metalioner, oxidationsmidler eller rengøringsmidler, da sådanne stoffer kan interferere med RIDA®UNITY-testen.

Det anbefales at fremstille afmålte portioner af prøverne for at undgå gentagen optøning og nedfrysning. Frosne prøver skal optøs umiddelbart før ekstraktion for at forhindre nedbrydning af nukleinsyrerne.

Følg instruktionerne for opbevaring af prøver i tabel 3. Til 6.

Tabel. 3: Prøveopbevaring - EHEC-detektion

Naturlige prøver - afføring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dage	≤ 7 dage	≤ 6 måneder

Naturlige prøver - kultur		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 dag	≤ 1 dag	-

I eluat (fra afføring eller kultur)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 timer	≤ 36 timer	≤ 7 dage

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C / -80 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af afføringsprøver op til 5 gange ikke testegenskaberne.

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af eluat (fra afføring eller kultur) op til 3 gange ikke testegenskaberne.

Der må ikke dyrkes kulturer fra tidligere nedfrosset afføring, fordi frysning påvirker patogenernes vækstkaraktistika i alvorlig grad, og dette kan potentielt forårsage falsk-negative resultater.

Tabel. 4: Prøveopbevaring - STEC-detektion

Naturlige prøver - afføring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dage	≤ 7 dage	≤ 6 måneder

Naturlige prøver - kultur		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 dag	≤ 1 dag	-

I eluat (fra afføring eller kultur)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 timer	≤ 36 timer	≤ 7 dage

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C / -80 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af afføringsprøver op til 5 gange ikke testegenskaberne.

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af eluat (fra afføring eller kultur) op til 3 gange ikke testegenskaberne.

Der må ikke dyrkes kulturer fra tidligere nedfrosset afføring, fordi frysning påvirker patogenernes vækstkaraktistika i alvorlig grad, og dette kan potentielt forårsage falsk-negative resultater.

Tabel. 5: Prøveopbevaring - EPEC-detektion

Naturlige prøver - afføring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 7 dage	≤ 7 dage	≤ 6 måneder

Naturlige prøver - kultur		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 dag	≤ 1 dag	-

I eluat (fra afføring eller kultur)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 timer	≤ 36 timer	≤ 7 dage

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C / -80 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af afføringsprøver op til 5 gange ikke testegenskaberne.

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af eluat (fra afføring eller kultur) op til 3 gange ikke testegenskaberne.

Der må ikke dyrkes kulturer fra tidligere nedfrosset afføring, fordi frysning påvirker patogenernes vækstkaraktistika i alvorlig grad, og dette kan potentielt forårsage falsk-negative resultater.

Tabel. 6: Opbevaring af prøver - påvisning af EIEC/*Shigella* spp.

Naturlige prøver - afføring		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
≤ 1 dag	≤ 7 dage	≤ 6 måneder

Naturlig prøve - kultur		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 °C / -80 °C
-	≤ 1 dag	-

I eluat (fra afføring eller kultur)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 timer	≤ 36 timer	≤ 7 dage

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C / -80 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af afføringsprøver op til 5 gange ikke testegenskaberne.

Ved en opbevaringstemperatur på -20 °C påvirker gentagen nedfrysning/optøning af eluat (fra afføring eller kultur) op til 3 gange ikke testegenskaberne.

Der må ikke dyrkes kulturer fra tidligere nedfrosset afføring, fordi frysning påvirker patogenernes vækstkaraktistika i alvorlig grad, og dette kan potentielt forårsage falsk-negative resultater.

8.1 DNA-forberedelse fra afførings- og kulturprøver

For at isolere DNA fra afførings- og kulturprøver skal du bruge RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Følg de direkte procedurer i brugsanvisningen til Rida®UNITY Universal Extraction Kit (Afsnit: Nukleinsyre-forberedelse fra afføringsprøver, Afsnit: Nukleinsyre-forberedelse fra kulturprøver).

9. Testprocedure

Ved start af brugen anbringes både prøverne og reagenserne fra RIDA®UNITY EHEC/EPEC i RIDA®UNITY-systemet.

På forhånd blandes reaktionsblandingen **Reaction Mix**, **Negative Control** og **Positive Control** ved hjælp af en vortexer. Enzyme Mix må ikke vortexes. Derefter centrifugeres alle komponenter kortvarigt.

PCR-rørene til de prøver, der skal undersøges, anbringes på forhånd i den integrerede PCR-cycler.

Der findes bærere til korrekt indlæsning af systemet med reagenser og forbrugsmaterialer. Følg instruktionerne i Rida®UNITY-systemet for indlæsningsprocessen. Overhold de relevante afsnit i manualen til RIDA®UNITY-systemet (Afsnit: Udførelse af kørsel).

RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen må kun anvendes i kombination med RIDA®UNITY Internal Control Kit. Dette giver mulighed for tidlig registrering af potentiel PCR-hæmning, verificering af reagensintegritet og bekræftelse af vellykket nukleinsyre-ekstraktion. Proceduren er beskrevet i brugsanvisningen til Rida®UNITY Internal Control Kit (Afsnit: Testprocedure)

Automatiseret behandling er beskrevet i manualen til RIDA®UNITY-systemet (Afsnit: Udførelse af kørsel).

9.1 Enhedsindstillinger

9.1.1 Universal realtids-PCR-profil

For at harmonisere RIDA®UNITY-assays, blev RIDA®UNITY-assayet verificeret i den universelle profil. Dette gør det muligt at kombinere DNA- og RNA-analyser. Generelt kommer omvendt transskription derfor først i den universelle profil.

Tabel. 7: Universal realtids PCR-profil til RIDA®UNITY

<u>Omvendt transskription</u>	10 min, 58 °C
Oprindelig denaturering	1 min, 95 °C
Cyklusser	45 cyklusser
<u>PCR</u> Denaturering	10 sek., 95 °C
Adoucering/forlængelse	15 sek., 60 °C
Temperaturovergangshastighed/rampehastighed	maksimum

Bemærk: Adoucering og forlængelse foregår i samme trin.

Tabel. 8: Universal realtids PCR-profil til CFX96™ Dx

<u>Omvendt transskription</u>	10 min, 58 °C
Oprindelig denaturering	1 min, 95 °C
Cyklusser	45 cyklusser
<u>PCR</u> Denaturering	15 sek., 95 °C
Adoucering/forlængelse	30 sek., 60 °C
Temperaturovergangshastighed/rampehastighed	maksimum

Bemærk: Adoucering og forlængelse foregår i samme trin.

9.2 Detektionskanalindstilling

Tabel. 9: Valg af egnede detektionskanaler

Realtids-PCR-instrument:	Detektion	Detektionskanal	Bemærk
R-Biopharm RIDA®UNITY	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanal stx
	Internal Control	HEX	SEEK kanal ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanal ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanal eae
Bio-Rad CFX96™ Dx	<i>stx1/stx2</i>	FAM	SEEK kanal stx
	Internal Control	VIC	SEEK kanal ICD
	<i>ipaH</i>	ROX	SEEK kanal ipaH
	<i>eae</i>	Cy5	SEEK kanal eae

10. Kvalitetskontrol - angivelse af ustabilitet eller udløb af reagenser

Prøverne evalueres ved hjælp af RIDA®SEEK, analytisk software til RIDA®UNITY-systemet. Den **Negative Control** og den **Positive Control** skal vise de korrekte resultater (se faneblad 9).

Den **Positive Control** findes i en koncentration på 10^3 kopier/ μ L. Den bruges i en samlet mængde på 5×10^3 kopier til hver PCR-kørsel.

Den **Negative Control** indeholder allerede RIDA®UNITY Internal Control. Da kontrollerne ikke indeholder en skabelon, må der ikke forventes signaler i målkkanalerne. Positive signaler i den IC-kanal, hvormed den interne kontrol detekteres, er afgørende (se faneblad 10).

Tab.10: En gyldig PCR-kørsel skal opfylde følgende betingelser:

Prøve	Resultat	IC Ct	Målgens Ct
Positiv kontrol	+	Ikke relevant*	Se Certificate of Analysis
Negativ kontrol	-	Ct > 20	0

*Under visse omstændigheder kan IC-kanalen have et positivt signal i den positive kontrol og bør derfor ikke evalueres.

Hvis den positive kontrol ikke er i det specificerede Ct-område, men den negative kontrol er gyldig, skal alle reaktionerne samt kontrollerne i PCR'en genanalyseres.

Hvis den negative kontrol ikke er negativ, men den positive kontrol er gyldig, skal alle reaktionerne i PCR genanalyseres.

Hvis de angivne værdier ikke opnås, kontrolleres følgende punkter, før testen gentages:

- De anvendte reagensers udløbsdato
- Funktionaliteten af det anvendte udstyr
- Korrekt testprocedure

Hvis betingelserne stadig ikke er opfyldt efter gentagelse af testen, skal du kontakte producenten eller din lokale R-Biopharm-distributør.

11. Evaluering og fortolkning

Prøveevaluering og -tolkning foretages ved hjælp af RIDA® UNITY-systemets analytiske software RIDA®SEEK.

Der findes aktuelt ingen internationalt anerkendt referencemetode eller referencemateriale til standardisering. Kontrolmaterialerne er metrologisk sporbare fra interne R-Biopharm AG-standarder baseret på specifikke DNA-amplifikationer.

Yderligere oplysninger om metrologisk sporbarhed kan fås ved at kontakte R-Biopharm AG.

De specificerede værdier, variationer og yderligere oplysninger kan findes i analysecertifikat (Certificate of Analysis, CoA).

Tab.11: Resultatfortolkning*

Detektion af				
<i>stx1/stx2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>	IC	Resultat
+	-	-	+/-	STEC (EHEC) påvist
-	+	-	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. påvist
-	-	+	+/-	EPEC påvist
+	+	-	+/-	STEC (EHEC) og EIEC/ <i>Shigella</i> spp. påvist
+	-	+	+/-	EHEC påvist
-	+	+	+/-	EIEC/ <i>Shigella</i> spp. og EPEC påvist
+	+	+	+/-	EHEC og EIEC/ <i>Shigella</i> spp. påvist
-	-	-	+	Målgene ikke påviseligt
-	-	-	-	Ugyldig

*+= positiv

- = negativ

Infektionsbeskyttelsesloven (IfSG) beskriver EHEC som de shigatoksinproducerende *E. coli* (STEC), der er humane patogener. Da det på nuværende tidspunkt ikke er muligt at fastlægge en nøjagtig definition af humant patogenet STEC, betragtes **hvert** STEC som et potentielt EHEC.⁽⁵⁾

En prøve er positiv, hvis prøve-DNA og Internal Control viser et opformeret signal i detektionssystemet.

En prøve er også positiv, hvis prøve-DNA viser et opformeret signal, mens der ikke ses et opformeret signal for Internal Control i detektionssystemet. Detektion af Internal Control er ikke nødvendig i dette tilfælde, fordi høje

amplikonkoncentrationer kan forårsage et svagt eller fraværende signal for **Internal Control**.

En prøve betragtes som negativ, hvis prøve-DNA ikke viser et opformeret signal, men et opformeret signal for **Internal Control** kan ses i detektionssystemet. En hæmning af PCR-reaktionen og tidligere ekstraktion kan udelukkes ved påvisning af **Internal Control**.

En prøve er ugyldig, hvis prøve-DNA og **Internal Control** ikke viser et opformeret signal i detektionssystemet. Der er hæmmere til stede i prøven, eller der opstod en fejl under ekstraktionsprocessen.

12. Metodens begrænsninger

1. RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC-testen detekterer DNA for virulensfaktorerne af EHEC, STEC, EPEC og EIEC/*Shigella* spp. i ubehandlede humane afførings- og kulturprøver. Ud fra dette er det ikke muligt at udlede en forbindelse mellem niveauet af en målt Ct-værdi og forekomsten af svære kliniske symptomer. De resultater, der opnås, skal altid fortolkes sammen med alle kliniske symptomer.
2. En diagnose bør ikke baseres på resultatet af den molekylærbiologiske analyse alene, men bør altid tage patientens anamnese og symptomer i betragtning.
3. Denne test er kun godkendt til automatisk behandling ved hjælp af RIDA[®]Unity-systemet.
4. Denne test er kun blevet verificeret for afførings- og kulturprøver.
5. Når kulturmatrixen anvendes, må agarmediet ikke overføres til PCR-reaktionen, da dette kan føre til potentiel interferens.
6. Forkert prøvetagning, transport, opbevaring og håndtering eller en patogenbelastning under testens analytiske følsomhed kan føre til falsk negative resultater.
7. Tilstedeværelsen af PCR-hæmmere kan føre til falsk negative eller ugyldige resultater.
8. Som ved alle PCR-baserede *in vitro*-diagnostiske test kan der påvises ekstremt lave koncentrationer af målsekvenserne, som ligger under detektionsgrænsen (LoD 95 %). De opnåede resultater er ikke altid reproducerbare.
9. Mutationer eller polymorfismer i primer- eller probebindingsstederne kan interferere med påvisningen af nye eller ukendte varianter og kan føre til falsk-negative resultater ved brug af RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC.
10. Et positivt testresultat er ikke nødvendigvis en påvisning af tilstedeværelsen af levedygtige organismer. Et positivt resultat indikerer, at målgener (EHEC, *stx1/2*, *eae*; STEC, *stx1/2*; EPEC, *eae*; og EIEC/*Shigella* spp., *ipaH*) er til stede.
11. Denne analyse skal udføres i overensstemmelse med reglerne om god laboratoriepraksis (GLP). Brugere skal følge fabrikantens anvisninger nøjagtigt, når de udfører testen.

13. Ydelseskarakteristika

13.1 Kliniske ydelseskarakteristika

RIDA®UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR blev i et eksternt laboratorium sammenlignet med en CE-mærket referencetest baseret på 276 afføringsprøver fra patienter med symptomer på gastrointestinal infektion.

Resultaterne viser meget høj følsomhed og specificitet ved påvisning af virulensfaktorer for EHEC, STEC, EPEC og EIEC/*Shigella* spp. under brug af RIDA®UNITY EHEC/EPEC Kit.

Tabel. 12: Påvisning af *stx1/2* - afføringsprøver

		Reference-PCR		I alt
		Positiv	Negativ	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>stx1/2</i>	Positiv	122	0	122
	Negativ	5	149	154
	I alt	127	149	276

Relativ følsomhed (95 % CI)	96,1 % (91,1 % - 98,7 %)
Relativ specificitet (95 % CI)	100 % (97,6 % - 100 %)

Tabel. 13: Påvisning af *ipaH* - afføringsprøver

		Reference-PCR		I alt
		Positiv	Negativ	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>ipaH</i>	Positiv	65	0	65
	Negativ	0	211	211
	I alt	65	211	276

Relativ følsomhed (95 % CI)	100 % (94,5 % - 100 %)
Relativ specificitet (95 % CI)	100 % (98,3 % - 100 %)

Tabel. 14: Påvisning af *eae* - afføringsprøver

		Reference-PCR		I alt
		Positiv	Negativ	
RIDA®UNITY EHEC/EPEC - <i>eae</i>	Positiv	179	0	179
	Negativ	4	93	97
	I alt	183	93	276

Relativ følsomhed (95 % CI)	97,8 % (94,5 % - 100 %)
Relativ specificitet (95 % CI)	100 % (96,1 % - 100 %)

13.2 Analytiske ydelseskaraktteristika

13.2.1 Detektionsgrænse (LoD 95 %)

Der blev målt en positiv kontrolprøve (negative afføringsprøver, tilsat eller ved brug af kulturprøve) i fem fortyndingstrin (i 0,25-logtrin) for hvert mål med 20 gentagelser pr. trin i ét lot til bestemmelse af LoD. Dette blev efterfulgt af en probitanalyse. Derefter blev den beregnede LoD bekræftet med 20 gentagelser pr. mål for det beregnede fortyndingstrin/den beregnede koncentration.

Følgende stammer blev anvendt til testning:

- *stx1/stx2*: *Escherichia coli* D3509 (LoD for *stx2* var bestemt, fordi *stx2* er forbundet med hæmolytisk uremisk syndrom.)
- *ipaH*: *Escherichia coli* Fr1368
- *eae*: *Escherichia coli* DSM8695

Til påvisning af EHEC, STEC, EPEC og EIEC/*Shigella* spp.DNA ved hjælp af RIDA®UNITY EHEC/EPEC-assayet i UNITY-systemet blev følgende detektionsgrænser (LoD) fastlagt.

Resultaterne af disse målinger er vist i tabel 15.

Tabel. 15: Resultater af detektionsgrænsen for RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen for målene *stx1/2*, *ipaH* og *eae*.

	Matrix	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
LoD	Afføring	476.000 CFU/mL	5300 CFU/mL	125.000 CFU/mL
	Kultur	2130 CFU/mL	798 CFU*/mL	2890 CFU/mL

*CFU: Colony Forming Units

LoD for *stx1/2* i afføringsprøver blev bestemt til 476.000 CFU/mL.

LoD for *ipaH* i afføringsprøver blev bestemt til 5300 CFU/mL.

LoD for *eae* i afføringsprøver blev bestemt til 125.000 CFU/mL.

LoD for *stx1/2* i kulturprøver blev bestemt til 2130 CFU/mL.

LoD for *ipaH* i kulturprøver blev bestemt til 798 CFU/mL.

LoD for *eae* i kulturprøver blev bestemt til 2890 CFU/mL.

For en forbedret arbejdsgang ved brug af CFX96™ Dx blev disse LoD-værdier bekræftet under forudsætning af, at vi forbliver i et LoD-interval på 2-3 gange.

13.2.2 Analytisk specifitet

Interfererende stoffer

Tilstedeværelsen af PCR-hæmmere og interfererende stoffer kan føre til falsk negative eller ugyldige resultater. Derfor blev virkningerne af forskellige stoffer, som kan forekomme på grund af deres udbredte anvendelse ved gastrointestinale infektioner eller udbredte forekomst i tilsvarende prøver, undersøgt.

Stoffer, der potentielt kan have væsentlig indflydelse på testresultaterne, blev i første omgang undersøgt ved høje koncentrationer (tredobling af den daglige dosis eller simulering af det værst tænkelige tilfælde) i en interferensscreening.

Der blev ikke fundet interferens for de stoffer, der er opført i tabel 16.

Tabel. 16: Potentielt interfererende stoffer

Potentielt interfererende stof	Koncentration
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg fillovertrukne tabletter (azithromycin)	0,75 % [w/v]
Bariumsulfat	18,5 % [v/v]
Cologran® flydende sødestof (saccharin + cyclamat)	1,3 % [w/v]
Menneskeblod	5 % [v/v]
Kultabletter 250 mg (kul)	6 % [w/v]
Loperamid-ratiopharm® akut (loperamid)	0,02 % [v/v]
Mucins	5 % [w/v]
Stearin-/palmitinsyre	40 % [w/v]

Krydsreaktioner

Forskellige organismer (bakterier, parasitter, svampe, og virus), der er almindeligt forekommende i afføringensmatrixen blev undersøgt. De mikroorganismer, der skal undersøges for denne assay, er udvalgt, fordi de enten forekommer naturligt i afføringsprøver, eller de forårsager tilsvarende symptomer som gastrointestinale patogener. Til analyserne blev der anvendt bakteriekulturer (mellem 10⁶ og 10⁹ CFU/mL), svampekulturer eller viruskulturer, supernatanter af viruskulturer, isolater eller LGC-standarder for de enkelte organismer.

RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR er specifik for EHEC, STEC, EPEC og EIEC/*Shigella* spp. Der blev ikke påvist krydsreaktioner med følgende arter (se Tab. 17):

Tabel. 17: Potentielt krydsreaktive organismer.

organisme	testresultat*		
	stx1/2	ipaH	eae
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-	-
Adenovirus 40	-	-	-
Adenovirus 41, human, Tak-stamme	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-
Astrovirus 2	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	-	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	-	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	-
<i>Clostridium bifermentans</i>	-	-	-
<i>Clostridium difficile</i>	-	-	-
<i>Clostridium novyi</i>	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-
<i>Clostridium septicum</i>	-	-	-
<i>Clostridium sordellii</i>	-	-	-
<i>Clostridium sporogenes</i>	-	-	-
<i>Cryptosporidium muris</i>	-	-	-
<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	-	-

<i>E. coli</i> (O6)	-	-	-
<i>Entamoeba histolytica</i>	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
<i>Giardia intestinalis</i> ** Portland 1	-	-	-
<i>Giardia intestinalis</i> ** WB Clone C6	-	-	-
<i>Giardia lamblia</i> **	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-
Norovirus GI	-	-	-
Norovirus GII	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-
Rotavirus	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (Serovar Enteritidis)	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (Serovar Typhimurium)	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-

* - = negativ

** *Giardia intestinalis* og *Giardia lamblia* er den samme organisme.

13.2.3 Præcision

Præcisionen af RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR-testen blev bestemt for følgende niveauer af overvejelse.

Intra-assay-nøjagtighed: Bestemmelse af 5 kontrolprøver ved hjælp af hver 20 gentagelser på RIDA®UNITY under identiske forhold.

Inter-assay-nøjagtighed: Bestemmelse af 5 kontrolprøver i 20 gentagelsestests over 10 arbejdsdage (2 test pr. dag) udført af forskellige teknikere under reproducerbare forhold.

Test for *intra-* og *inter-assay* præcision blev udført ved hjælp af tre forskellige partier.

De variationskoefficienter, der blev opnået for hver måling ved hjælp af RIDA®UNITY EHEC/EPEC real-time PCR-testen i RIDA®UNITY og CFX96™ Dx var 4,29 %.

Tabel. 18: Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen for *stx1/2* i afføringsprøver (RIDA®UNITY-systemet).

Ct	Gennemsnit sværdi/ CV	<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	27,8	27,7	27,4	27,8	27,7	27,6	27,7
	CV (%)	1,02 %	1,19 %	1,11 %	3,25 %	3,19 %	3,18 %	3,21 %
2	Ct	29,6	29,5	29,2	30,0	29,8	29,8	29,8
	CV (%)	1,07 %	0,87 %	0,85 %	2,93 %	2,66 %	2,53 %	2,71 %
3	Ct	29,2	29,0	28,9	30,2	30,0	30,1	30,1
	CV (%)	1,72 %	1,35 %	1,46 %	3,29 %	2,85 %	3,15 %	3,10 %
4	Ct	-	-	-	32,0	31,7	31,6	31,8
	CV (%)	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	2,15 %	2,23 %	2,26 %	2,28 %
5	Ct	32,5	31,9	32,1	-	-	-	-
	CV (%)	2,34 %	2,05 %	2,13	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant

Tabel. 19: Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen for *stx1/2* i afføringsprøver (CFX96™ Dx).

Ct	Gennemsn itsværdi/ CV	Intra-assay			Inter-assay			Inter-lot
		Kit lot 1	Kit lot 2	Kit lot 3	Kit lot 1	Kit lot 2	Kit lot 3	Kit lot 1-3
1	Ct	27,2	27,1	26,9	26,1	26,0	26,0	26,0
	CV (%)	0,82 %	1,04 %	0,76 %	3,12 %	2,61 %	2,64 %	2,80 %
2	Ct	27,6	27,2	27,1	28,1	27,5	27,5	27,7
	CV (%)	1,91 %	0,95 %	0,71 %	4,03 %	3,02 %	2,86 %	3,50 %
3	Ct	27,7	27,2	27,2	28,1	27,7	27,6	27,8
	CV (%)	2,34 %	0,74 %	0,95 %	4,29 %	3,11 %	2,91 %	3,54 %
4	Ct	-	-	-	29,2	28,7	28,6	28,9
	CV (%)	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	2,96 %	2,90 %	2,76 %	3,04 %
5	Ct	29,6	29,5	29,6	-	-	-	-
	CV (%)	1,52 %	1,59 %	3,43 %	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant

Tabel. 20: Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen for *ipaH* i afføringsprøver (RIDA®UNITY-systemet).

Ct	Gennemsn itsværdi/ CV	Intra-assay			Inter-assay			Inter-lot
		Kit lot 1	Kit lot 2	Kit lot 3	Kit lot 1	Kit lot 2	Kit lot 3	Kit lot 1-3
1	Ct	25,0	24,8	24,6	25,3	25,1	25,1	25,2
	CV (%)	1,02 %	1,11 %	1,09 %	1,84 %	1,73 %	1,83	1,80 %
2	Ct	26,2	26,1	26,0	26,3	26,1	26,2	26,2
	CV (%)	0,81 %	0,89 %	0,90 %	1,49 %	1,39 %	1,37 %	1,40 %
3	Ct	25,5	25,3	25,4	26,2	26,1	26,1	26,1
	CV (%)	0,96 %	0,99 %	0,87 %	1,72 %	1,57 %	1,53 %	1,61 %
4	Ct	-	-	-	27,1	27,0	27,0	27,0
	CV (%)	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	1,44 %	1,34 %	1,45 %	1,42 %
5	Ct	27,4	27,4	27,3	-	-	-	-
	CV (%)	0,88 %	0,77 %	0,69 %	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant

Tabel. 21: Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen for *ipaH* i afføringsprøver (CFX96™ Dx).

Ct	Gennemsnit sværdi/ CV	<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	25,0	24,8	24,4	24,4	24,4	24,4
	CV (%)	1,15 %	1,25 %	1,06 %	1,49 %	1,79 %	1,70 %	1,67 %
2	Ct	25,2	25,2	25,2	25,4	25,3	25,4	25,4
	CV (%)	0,85 %	1,03 %	1,01 %	1,11 %	1,21 %	1,21 %	1,17 %
3	Ct	25,2	25,0	25,0	25,4	25,4	25,3	25,4
	CV (%)	1,04 %	1,09 %	1,14 %	1,29 %	1,46 %	1,53 %	1,43 %
4	Ct	-	-	-	26,2	26,1	26,1	26,2
	CV (%)	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	1,27 %	1,45 %	1,36 %	1,36 %
5	Ct	26,9	26,8	26,7	-	-	-	-
	CV (%)	0,89 %	0,53 %	0,70 %	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant

Tabel. 22: Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen for eae i afføringsprøver (RIDA®UNITY-systemet).

Ct	Gennemsnit sværdi/ CV	<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	26,2	26,3	26,0	26,4	26,5	26,5	26,5
	CV (%)	0,93 %	0,86 %	0,85 %	1,92 %	1,95 %	2,03 %	1,97 %
2	Ct	27,7	27,9	27,7	27,9	28,0	28,0	27,9
	CV (%)	0,86 %	0,92 %	0,77 %	1,85 %	1,76 %	1,75 %	1,78 %
3	Ct	27,0	27,0	27,2	27,8	27,9	27,9	27,9
	CV (%)	1,05 %	0,86 %	0,99 %	2,03 %	1,84 %	1,80 %	1,89 %
4	Ct	-	-	-	28,9	29,1	29,1	29,0
	CV (%)	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	1,81 %	1,78 %	1,81 %	1,80 %
5	Ct	29,1	29,4	29,4	-	-	-	-
	CV (%)	1,24 %	0,78 %	1,18 %	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant

Tabel. 23: Resultater af præcisionen af RIDA®UNITY EHEC/EPEC-testen for eae i afføringsprøver (CFX96™ Dx).

Ct	Gennemsnitsværdi/ CV	<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	26,5	26,6	26,5	26,3	26,4	26,4	26,4
	CV (%)	0,54 %	0,69 %	0,58 %	1,76 %	1,86 %	1,88 %	1,84 %
2	Ct	27,3	27,5	27,5	27,6	27,7	27,8	27,7
	CV (%)	0,68 %	0,68 %	0,65 %	1,49 %	1,70 %	1,51 %	1,59 %
3	Ct	27,3	27,4	27,4	27,6	27,8	27,8	27,7
	CV (%)	0,88 %	0,74 %	0,79 %	1,66 %	1,78 %	1,85 %	1,77 %
4	Ct	-	-	-	28,5	28,7	28,6	28,6
	CV (%)	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	1,32 %	1,58 %	1,48 %	1,47 %
5	Ct	29,1	29,3	29,2	-	-	-	-
	CV (%)	0,73 %	0,55 %	0,68 %	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant

13.2.4 Analytisk reaktivitet

Reaktiviteten af RIDA[®]UNITY EHEC/EPEC multiplex real-time PCR-testen blev undersøgt på et defineret panel af *E. coli* and *Shigella*-stammer (s. Tab. 24).

Tabel. 24: Analytisk reaktivitetstestning

Stamme	Resultat*		
	<i>stx1/2</i>	<i>ipaH</i>	<i>eae</i>
<i>E. coli (stx1c, stx2b)</i>	+	-	-
<i>E. coli (stx1a, stx2c, eae)</i>	+	-	+
<i>E. coli (stx1d)</i>	+	-	
<i>E. coli (stx2a, eae)</i>	+	-	+
<i>E. coli (stx2d)</i>	+	-	-
<i>E. coli (stx2e)</i>	+	-	-
<i>E. coli (stx2f, eae)</i>	+	-	+
<i>E. coli (stx2g)</i>	+	-	-
<i>E. coli</i> O127:H6 (<i>eae alpha</i>)	-	-	+
<i>E. coli</i> O157:H7 (<i>eae gamma</i>)	-	-	+
<i>Shigella boydii (ipaH)</i>	-	+	-
<i>Shigella dysenteriae (ipaH)</i>	-	+	-
<i>Shigella flexneri (ipaH)</i>	-	+	-
<i>Shigella sonnei (ipaH)</i>	-	+	-

*+ = positiv (mindst 2 ud af 3 er gentagne gange positive)










- = negativ

14. Versionshistorik


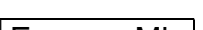

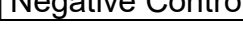
Versionsnummer	Afsnit og betegnelse
2022-06-14	Udgivelsesversion

15. Symbolforklaringer

Generelle symboler

	Til <i>in vitro</i> -diagnostisk anvendelse
	Brugsanvisningen skal overholdes
	Partinummer
	Udløbsdato
	Opbevaringstemperatur
	Bestillingsnummer
	Antal tests
	Produktionsdato
	Producent

Testspecifikke symboler

	Reaktionsblanding
	Enzymblanding
	Negativ kontrol
	Positiv kontrol

16. Referencer

1. Aziz FAA, Ahmad NA, Razak MAA, Omar M, Kasim NM, Yusof M, et al. Prevalence of and factors associated with diarrhoeal diseases among children under five in Malaysia: a cross-sectional study 2016. *BMC Public Health*. 2018;18(1):1363.
2. Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(12):6235-54.
3. Schuetz AN. Emerging agents of gastroenteritis: *Aeromonas*, *Plesiomonas*, and the diarrheagenic pathotypes of *Escherichia coli*. *Semin Diagn Pathol*. 2019;36(3):187-92.
4. Newell DG, La Ragione RM. Enterohaemorrhagic and other Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC): Where are we now regarding diagnostics and control strategies? *Transbound Emerg Dis*. 2018;65 Suppl 1:49-71.
5. Yang SC, Lin CH, Aljuffali IA, Fang JY. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Arch Microbiol*. 2017;199(6):811-25.
6. Lagerqvist N, Löf E, Enkirch T, Nilsson P, Roth A, Jernberg C. Outbreak of gastroenteritis highlighting the diagnostic and epidemiological challenges of enteroinvasive *Escherichia coli*, County of Halland, Sweden, November 2017. *Euro Surveill*. 2020;25(9).