

# EVALUERING AF KOMMERCIELT TESTKIT TIL HURTIG DIAGNOSTIK AF *E. COLI*

Elisabeth Okholm Nielsen<sup>1</sup>, Annette Sønderholm Juel<sup>2</sup> og Marianne Viuf Agerlin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SEGES Innovation P/S, Den rullende Afprøvning, <sup>2</sup> Landbrug & Fødevarer, Veterinært Laboratorium, Kjellerup

STØTTET AF

**Svine**afgiftsfonden

---

## Hovedkonklusion

RAINBOW™ Piglet Scours påviser *E. coli* F18 med god overensstemmelse med PCR testen. I 94 % af prøverne var testkittets resultat for *E. coli* F18 korrekt. Testkittet er væsentligt ringere til påvisning af *E. coli* F4, da kun 59 % af prøverne havde korrekt resultat.

---

## Sammendrag

Der er ofte behov for hurtig og præcis diagnostik, der kan gennemføres i stalden. Hurtig diagnostik af *E. coli* kan understøtte den kliniske diagnose og bidrage til baggrund for valg af korrekt behandling og/eller forebyggelse, der kan iværksættes hurtigt. Et eksempel på hurtig diagnostik på staldgangen er RAINBOW™ Piglet Scours testkit, der produceres af Bio-X Diagnostics i Belgien. BIO K-374 testkittets test-strips til *E. coli* F4 og F18 blev undersøgt. Evalueringen blev gennemført på tarmindehold fra 54 grise, der var en til syv uger gamle. Alle grise havde makroskopiske obduktionsfund på tarmbetændelse, hvor der var påvist hæmolytiske *E. coli* bakterier ved mikrobiologisk dyrkning. *E. coli* isolaterne blev derefter undersøgt for fimbrietyperne F4 og F18 med Landbrug & Fødevarers Veterinært Laboratoriums PCR test og RAINBOW testen.

RAINBOW™ Piglet Scours påviser *E. coli* F18 med god overensstemmelse med PCR testen. I 94 % af prøverne var testkittets resultat for *E. coli* F18 korrekt. Testkittet er væsentligt ringere til påvisning af *E. coli* F4, da kun 59% af prøverne havde korrekt resultat.

Denne laboratoriebaserede evaluering bør følges op af en større undersøgelse af fæces fra grise med og uden diarré for at opnå et mere sikkert resultat.

## Baggrund

Diarré hos grise er et multifaktorielt problem, der kan skyldes foderskift, bakterielle infektioner, virusinfektioner, en kombination af disse eller andre forhold. Der er ofte behov for hurtig og præcis diagnostik, der kan gennemføres i stalden, til at understøtte den kliniske diagnose og bidrage til en vurdering af, om det vil være relevant at give en antibiotikabehandling.

Det meste af antibiotikaforbruget i den danske griseproduktion anvendes til behandling af smågrise. Den langt hyppigste årsag til antibiotikabehandling af grise er mave-tarm-sygdom. En nyere undersøgelse viste, at knap halvdelen af de grise, der udvikler diarré efter fravæning, har en *E. coli*-betinget diarré [1]. Der kan således være behov for diagnostisk undersøgelse af diarréudbrud, så den rigtige behandling og/eller forebyggelse bliver sat i værk hurtigt.

SEGES Gris har i samarbejde med Veterinært Laboratorium, Kjellerup afprøvet en hurtigtest til staldgangsdiagnostik, som kan give dyrlægen et hurtigt svar på smitstoffer i gødning fra grise med diarré. Denne type test betegnes også Point-Of-Care tests (POC tests). På baggrund af et større litteraturstudie af POC test blev der identificeret én POC test, der var relevant at teste imod en valideret diagnostisk metode: RAINBOW™ Piglet Scours, der produceres af Bio-X Diagnostics [2]. Undersøgelsen blev gennemført på det Veterinære Laboratorium, Kjellerup for at sikre, at POC testen blev gennemført standardiseret, og grundlaget for sammenligningen var en valideret diagnostisk PCR test for *E. coli*. Der blev ikke inkluderet prøver fra raske grise, da evalueringen blev udført på diagnostisk materiale indsendt til laboratoriet.

## Materialer og metoder

RAINBOW™ Piglet Scours (RPS) produceres af Bio-X Diagnostics [1] i forskellige udgaver. BIO K-374 inkluderer strips til undersøgelse for Rotavirus A, *E. coli* F4, F5, F18, F41, *C. perfringens* og *C. difficile*. Undersøgelsen omfattede kun *E. coli* F4 og *E. coli* F18, da laboratoriet ikke råder over PCR test for de øvrige smitstoffer.

RPS testen blev evalueret på tarmindehold udtaget fra diagnostisk materiale på det Veterinære Laboratorium, Kjellerup. Tarmindehold blev udtaget fra i alt 54 grise i alderen en til syv uger, der var indsendt til diagnostisk undersøgelse grundet diarré-sygdom eller pludselige dødsfald. Alle grisene havde makroskopiske fund af tarmbetændelse, og der var fundet hæmolytiske *E. coli* bakterier ved mikrobiologisk dyrkning. Isolaterne af *E. coli* bakterier blev derefter undersøgt for *E. coli* fimbriertyperne F4 og F18 med laboratoriets validerede PCR test.

## Fremgangsmåde ved anvendelse af testkit

RAINBOW™ Piglet Scours (RPS) fremgangsmåde er beskrevet her, se også vejledning fra BIO-X [2] som findes i Appendiks:

1. Tag en lille mængde fæces (alternativt en samleprøve af fæces).
2. Opløs fæcesprøven i den medfølgende opløsning i prøverøret "sample tube".
3. Ryst prøverøret, således at opløsningen blandes godt.
4. Bank bunden af prøverøret imod bordet, således at opløsningen samles på bunden af røret.
5. Afriv toppen af aluminiumkuverten og tag selve røret med strips ud.  
OBS: Holdbarheden af røret med strips er begrænset – især i fugtigt miljø.
6. Indsæt prøverøret i røret med strips.
7. Skru toppen på røret med strips. I denne forbindelse skal høres to separate kliklyde som tegn på, at ydersiden og indersiden af skillevægge er perforeret.

8. Sæt testen vertikal/stående på en flad overflade og afvent i ti minutter.

OBS Hvis opløsningen ikke er blandet tilstrækkeligt, kan bevægelsen af opløsning langs en eller flere strips stoppe. I dette tilfælde bankes på enden af røret på en hård overflade, så bevægelsen startes igen.

9. Når der er gået ti minutter, aflæses resultatet på stripsene.

## Resultater og diskussion

Resultat af RAINBOW™ Piglet Scours (RPS) test for *E. coli* fimbrier F4 og F18 på tarmindehold fra i alt 54 grise er sammenstillet med resultat af PCR test for *E. coli* fimbrier F4 og F18 i hæmolytiske *E. coli* dyrket fra tarmindehold (tabel 1). Diagnostiske tests kan sammenlignes på forskellig vis [3]. Resultatet af PCR test for *E. coli* F4 og F18 er den standard, der sammenlignes med i denne evaluering (tabel 2).

**Tabel 1.** Resultat af RAINBOW™ Piglet Scours (positiv/svag positiv eller negativ) og PCR test

		PCR test af isolat af hæmolytiske <i>E. coli</i>		PCR test af isolat af hæmolytiske <i>E. coli</i>		
		F4 positiv	F4 negativ	F18 positiv	F18 negativ	
RAINBOW™ Piglet Scours (RPS)	F4 positiv	21	4	F18 positiv	7	1
	F4 negativ	18	11	F18 negativ	2	44

**Tabel 2.** Resultat af statistisk evaluering af RAINBOW™ Piglet Scours (RPS) i forhold til PCR test

	<i>E. coli</i> F4		<i>E. coli</i> F18	
	Andel	95% konfidens interval	Andel	95% konfidens interval
Diagnostisk sensitivitet <sup>a</sup>	0,84	0,70-0,98	0,88	0,65-1,00
Diagnostisk specificitet <sup>b</sup>	0,38	0,20-0,56	0,96	0,90-1,00
Positiv prædiktiv værdi <sup>c</sup>	0,54	0,38-0,69	0,78	0,51-1,00
Negativ prædiktiv værdi <sup>d</sup>	0,73	0,51-0,96	0,98	0,93-1,00
Diagnostisk effektivitet <sup>e</sup>	0,59	0,46-0,72	0,94	0,88-1,00

a: Diagnostisk sensitivitet er andelen af sandt positive i RPS testen i forhold til alle positive i RPS testen.

b: Diagnostisk specificitet er andelen af sandt negative i RPS testen i forhold til alle negative i RPS testen.

c: RPS testens positive prædiktive værdi er andelen af sandt positivt svar i forhold til alle positive i PCR.

d: RPS testens negative prædiktive værdi er andelen af sandt negative svar i forhold til alle negative i PCR.

e: Diagnostisk effektivitet er andelen af korrekte RPS resultater ud af alle undersøgte i PCR.

RAINBOW™ Piglet Scours påviser *E. coli* F18 med god overensstemmelse med PCR testen. I 94 % af prøverne var testkittets resultat for *E. coli* F18 korrekt (tabel 1). Testkittet er væsentligt ringere til påvisning af *E. coli* F4, da kun 59 % af prøverne havde korrekt resultat (tabel 1).

Disse resultater er i overensstemmelse med fabrikantens egne opgivne data for positiv prædiktiv værdi (PPV)-værdier for F4 og F18, idet de også finder, at PPV er bedre for F18 end F4 ved PCR. De PPV-værdier, der blev fundet ved denne undersøgelse, var lavere end fabrikantens oplysninger, hvilket bekræfter behovet for validering af testen. Se boks.

Oplysninger fra fabrikanten BIO-X om hurtigtesten ses i boksen. Det er ikke oplyst, hvor mange prøver, der ligger til grund for beregningen af de positive prædiktive værdier (PPV), der nævnes. PPV for *E. coli* F4 oplyses af BIO-X til at være 75 %, hvor vores undersøgelse fandt, at PPV for F4 var 54 %. PPV for *E. coli* F18 oplyses af BIO-X til at være 86 %, hvor vores undersøgelse fandt, at PPV for F18 var 78 %.

RAINBOW™ Piglet Scours testkittet påviser fravær af *E. coli* F18 med høj negativ prædiktiv værdi på 98 % (tabel 2). Derimod har RAINBOW™ Piglet Scours en lavere negativ prædiktiv værdi for fravær af *E. coli* F4 på 73 % (tabel 2).

Sammenligningen af de to tests påvirkes af, at forekomsten af F18 var lav i materialet, der var kun 9 positive ud af 54 prøver i PCR testen, svarende til 17 %, mens forekomsten af F4 var meget højere med 72 %.

**PERFORMANCES:**

- Pooling factor:
  - Criteria: similarity of test results of pooled stools (from diarrheic piglets) versus characterized individual stools
  - Validation: the assay allows pooling up to 5 stools (to allow 1 positive to be found) on the following pathogens:
    - Rotavirus
    - *E.coli* F4 / F5 / F18
    - *Clostridium perfringens*
- Comparison with post culture PCR:
  - Criteria: Positive Predictive Value (PPV) with 5 individual stools at farm level, against bacteriology followed by PCR
  - Results on *E.coli* F4:
    - PPV on Rainbow: 75%
    - PPV on post culture PCR: 82%
  - Results on *E.coli* F18:
    - PPV on Rainbow: 86%
    - PPV on post culture PCR: 95%

**RAINBOW™ Piglet Scours testkittet er god til at påvise *E. coli* F18, hvor den i 94 % af prøverne viste samme resultat som PCR testen. Derimod er testkittet væsentlig ringere til påvisning af *E. coli* F4.**

RAINBOW™ Piglet Scours blev evalueret i 54 prøver fra grise med diagnosticeret tarmbetændelse med hæmolytiske *E. coli*. Denne evaluering bør følges op af en større undersøgelse af fæces fra grise med og uden diarré for at belyse, om hurtigtesten giver falskpositive testsvar, når der ikke er smitte med *E. coli* og for at opnå et mere sikkert resultat. Optimalt skal resultater fundet ved undersøgelse under staldforhold og resultater ved undersøgelse på diagnostisk laboratorie sammenholdes.

Testkittet omfatter en række andre tests for bakterier og rotavirus. Disse tests bør også evalueres under praksisforhold. Brug af diagnostiske hurtigtests bør følges op af regelret laboratediagnostik, især hvis resultatet skal danne grundlag for en besætningsdiagnose eller valg af vaccine.

## Konklusion

Der er ofte behov for hurtig og præcis diagnostik, der kan gennemføres i stalden. Hurtig diagnostik af *E. coli* kan understøtte den kliniske diagnose og bidrage til baggrund for valg af korrekt behandling, der kan iværksættes hurtigt. Et eksempel på hurtig diagnostik på staldgangen er RAINBOW™ Piglet Scours testkit. RAINBOW™ Piglet Scours fra Bio-X Diagnostics blev evalueret mod laboratediagnostik på tarmindehold fra 54 grise i alderen en til syv uger. Alle grisene havde tarmbetændelse med dyrkning af hæmolytiske *E. coli* bakterier.

RAINBOW testen var god til påvisning af *E. coli* F18, hvor den i 94 % af prøverne viste samme resultat som laboratoriets PCR test. RAINBOW testen var kun moderat god til påvisning af *E. coli* F4, hvor den fik samme resultat som laboratoriets PCR test i 59 % af prøverne. Denne evaluering bør følges op med undersøgelser af fæces fra grise med og uden diarré, for at belyse, om hurtigtesten

giver falskpositive testsvar, når der ikke er smitte med *E. coli* og for at opnå et mere sikkert resultat. Testkittets andre tests for bakterier og rotavirus bør også evalueres i praksis.

Brug af diagnostiske hurtigtests bør følges op af laboratoriediagnostik, især hvis resultatet skal danne grundlag for en besætningsdiagnose eller valg af vaccine.

Forhandlere af RAINBOW™ Piglet Scours test er Erricomfort.dk og ekoplan.dk, prisen er ca. 140 kr.

## Referencer

- [1] Skade L, Agerlin M V, Bache J K, Christensen AE og KS Pedersen (2020): Smittedynamik og risikofaktorer for e. Coli-betinget fravænningsdiarré. SEGES Meddelelse nr. 1217, Dansk Svineproduktion.
- [2] The RAINBOW™ Piglet Scours test Bio-X DIAGNOSTICS [www.biox.com](http://www.biox.com)
- [3] Šimundić A. M. (2009). Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. EJIFCC, 19(4), 203–211.

## Deltagere

Statistikker: Mai Britt Friis Nielsen

Andre deltagere: Kasper Pedersen, Tina Sørensen, Nicolai Weber

Afprøvning nr. 1787

NAV nr.: 1305

//KMY//

Dyregruppe: pattegrise og smågrise

Fagområde: sundhed

Nøgleord: diarre, diagnostik, *E. coli*, hurtigtest

# Appendiks

RAINBOW™ Piglet Scours fremgangsmåde producenten BIO-X:

## **RAINBOW PIGLET** (5 DEVICES)

**STRIPS FOR DETECTION OF  
VARIOUS PATHOGENS IN  
PIGLET FAECES**



**HOW TO PROCEED**



1 Take the faeces directly from the rectum of the piglet. If the samples are liquid, take a spoonful.



2 If faeces are solid, remove the excess amount using a spatula.



3 Dilute its content in the liquid of the small tube called sample tube.



4 Shake the sample tube to homogenize well.



5 Tap the sample tube on a hard surface so that all the liquid is collected at the bottom of the tube.



6 Tear the aluminium envelope open at the notch. Once the device has been taken out of the envelope its stability is of short duration, especially in a humid environment.



7 Insert the sample tube into the strip tube.



8

■ Screw the top of the strip tube.

You must hear two separate clicks, for perforation of superior and inferior septa of the sample tube.

Leave the device **vertically on a flat surface** and wait for 10 minutes.

The liquid contained in the sample tube moves to the strip tube and slowly migrates along the strips.



9

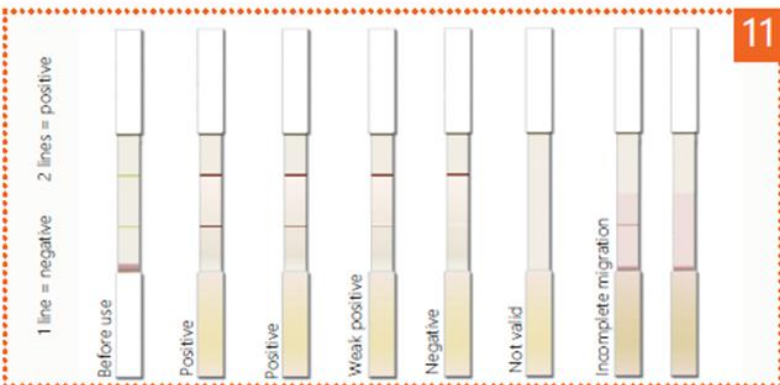
■ Sometimes, especially when the sample isn't homogenized, liquid migration can stop on one or more strips. In that case, tap the end of the strip tube on hard surface to allow migration to start again.



10

■ After 10 minutes, read the results using picture 11 as standard.

For *Clostridium perfringens* interpretation use picture 12.



11

1 line = negative 2 lines = positive

Before use

Positive

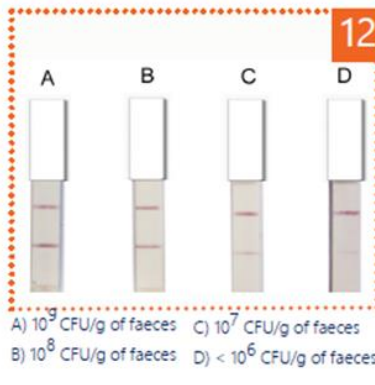
Positive

Weak positive

Negative

Not valid

Incomplete migration



12

A)  $10^3$  CFU/g of faeces B)  $10^8$  CFU/g of faeces C)  $10^7$  CFU/g of faeces D)  $< 10^6$  CFU/g of faeces

**SEGES**  
INNOVATION

Tlf.: 87 40 50 00

[info@seges.dk](mailto:info@seges.dk)

Ophavsretten tilhører SEGES Innovation P/S. Informationerne fra denne hjemmeside må anvendes i anden sammenhæng med kildeangivelse.

Ansvar: Informationerne på denne side er af generel karakter og søger ikke at løse individuelle eller konkrete rådgivningsbehov.

SEGES Innovation P/S er således i intet tilfælde ansvarlig for tab, direkte såvel som indirekte, som brugere måtte lide ved at anvende de indlagte informationer.