

CAMPYLOBACTER CHEK™

An Enzyme Immunoassay for the Qualitative Detection of a
Campylobacter-Specific Antigen in Human Fecal Specimens
Catalog No. T31096 (96 Tests)

IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device

Inmunoensayo enzimático para la detección cualitativa de un antígeno
específico de *Campylobacter* en muestras fecales humanas
N.º de catálogo T31096 (96 pruebas)

IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

Enzymimmunoassay für den qualitativen Nachweis eines
Campylobacter-spezifischen Antigens in menschlichen Stuhlproben
Katalognr. T31096 (96 Tests)

IVD Medizinprodukt für die *In-Vitro*-Diagnostik

Un immunodosage enzymatique pour une détection qualitative d'un
antigène spécifique de *Campylobacter* dans les échantillons
de selles humains

Catalogue n° T31096 (96 tests)

IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Made in the USA

Developed and Manufactured by:



TECHLAB®

2001 Kraft Drive

Blacksburg, VA 24060-6358 USA

www.techlab.com

TEL 1-800-832-4522 USA

TEL 1-540-953-1664 Outside USA



EC REP Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

CAMPYLOBACTER CHEK™

INTENDED USE

The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test is an enzyme immunoassay for the qualitative detection of a *Campylobacter*-specific antigen in human fecal specimens. The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test is designed to detect *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis* from patients with signs and symptoms of gastroenteritis. The test is intended for use with preserved fecal specimens in transport media and unpreserved fecal specimens. Test results should be considered in conjunction with clinical findings and patient history.

Caution: U.S. Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician

EXPLANATION

Worldwide, *Campylobacter* species are the most common cause of bacterial gastroenteritis, with 400-500 million cases of diarrhea each year (1). Infants in developing countries are at even greater risk, as are travelers to those countries (2). *Campylobacter*-associated gastroenteritis is estimated to affect nearly 1 million people a year in the USA (3). In approximately 1 of 1000 cases, *Campylobacter jejuni* is closely linked to the subsequent development of Guillian-Barre Syndrome, an acute auto-immune paralysis (4). *C. jejuni* infection has also been associated with reactive arthritis in both children and adults (4, 5). When individuals with severe symptoms of gastroenteritis seek medical help, the clinician is faced with multiple possible causes that can present with similar clinical features (e.g., diarrhea, nausea, vomiting, fever, abdominal pain) but that require very different, often conflicting, types of treatment (4).

For *Campylobacter*, the current standard for identification is bacterial culture followed by microscopic examination of the organisms (6). Although this traditional method is straightforward, it has two major limitations. First, pathogenic species of *Campylobacter* are microaerophilic or strictly anaerobic, so that exposure of culture or feces to environmental oxygen leads to death or inactivation of the bacteria (7, 8). Thus, during transport or storage of specimens under aerobic conditions, the number of viable organisms can decrease, leading to potentially inaccurate culture results (9). Second, *Campylobacter* species are slow-growing, requiring from 48-72 hr before reaching a point where the culture can safely be reported as negative. Such delays can leave the clinician in a quandary and the patient with non-specific, ineffective, or even inappropriate treatment.

The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test allows detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*, the species most commonly associated with human disease. Furthermore, the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test does not rely on bacterial viability, and can be performed on the bench-top with samples that have been exposed to air.

PRINCIPLE OF THE TEST

The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test uses antibodies that recognize a *Campylobacter*-specific antigen. The *Microassay Plate* in the kit contains immobilized capture monoclonal antibodies against a *Campylobacter*-specific antigen. The *Conjugate* consists of polyclonal antibodies to a *Campylobacter*-specific antigen conjugated to horseradish peroxidase. In the assay, an aliquot of a diluted fecal specimen is transferred to a microassay well containing the *Conjugate*. If the antigen is present in the specimen, it will bind to the *Conjugate* and to the immobilized capture antibody during the incubation phase. Any unbound material is removed during the washing steps. Following the addition of *Substrate*, a color is detected due to the enzyme-antibody-antigen complexes that formed in the presence of antigen.

MATERIALS PROVIDED

MA	PLT	Microassay Plate – 12 strips, each consisting of 8 wells coated with monoclonal antibodies to a <i>Campylobacter</i> -specific antigen (stored with desiccant)
----	-----	---

CONJ | ENZ

Conjugate (7 mL) – Antibodies to a *Campylobacter*-specific antigen coupled to horseradish peroxidase in a buffered protein solution containing 0.05% ProClin® 300

Signal Word: Warning – 0.05% ProClin® 300

H317: May cause an allergic skin reaction

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



DIL | SPE

Diluent (40 mL) – Buffered protein solution containing 0.05% ProClin® 300. *Diluent* is also to be used as the negative control solution (see TEST PROCEDURE).

Signal Word: Warning – 0.05% ProClin® 300

H317: May cause an allergic skin reaction

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501



CONTROL | +

Positive Control (3.5 mL) – *Campylobacter*-specific antigen in a buffered protein solution containing 0.05% ProClin® 300

Signal Word: Warning – 0.05% ProClin® 300

H317: May cause an allergic skin reaction

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

H₂SO₄ | 0.6N

Stop Solution (7 mL) – 0.6 N sulfuric acid. CAUTION: Avoid contact with skin or eyes; flush with water immediately if contact occurs

Signal Word: Danger

H314: Causes severe skin burns and eye damage

P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353,

P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501



SUBS | REAG

Substrate (14 mL) – solution containing tetramethylbenzidine and peroxide

WASHBUF | 20X

Wash Buffer Concentrate (50 mL) – 20X concentrate containing phosphate buffered saline, detergent, and 0.2% thimerosal

Signal Word: Warning

H373: May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure

H411: Toxic to aquatic life with long lasting effects

P260, P273, P314, P391, P501



contains mercury



ACCESSORIES

100 Disposable plastic transfer pipettes

1 Wash Solution Label

2 Plastic adhesive sheets

50 Wooden Applicator sticks

MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Squirt bottle for wash reagent

Timer

Absorbent paper

950 mL distilled water for diluting wash reagent

ELISA plate reader capable of reading at 450 nm, 450/620 nm, or 450/630 nm

Small tubes for dilution of fecal specimens (e.g., microcentrifuge tubes)

Vortex mixer

Discard container

Gloves

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of this kit is given on the box label. Expiration dates for each component are listed on the individual labels. The kit should be stored between 2°C and 8°C and should be returned to the refrigerator as soon as possible after use.

PRECAUTIONS

1. Rx Only – Prescription Only
2. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.
3. Each component in the kit should be inspected for any signs of leakage. Upon arrival, the kit should be inspected to ensure that components are not frozen or warm to the touch due to improper shipping conditions.

4. Reagents from different kits should not be mixed. Do not use a kit past the assigned expiration date.
5. Bring all components to ROOM TEMPERATURE BEFORE USE!
6. Do not freeze the reagents. The kit should be stored between 2°C and 8°C.
7. Caps and tips are color-coded; DO NOT mix or interchange!
8. When handling assay wells, avoid scratching the bottom of the wells as this may result in inaccurate absorbance readings.
9. Unused microwells must be placed back inside of the resealable pouch with the desiccant to protect them from moisture.
10. Hold reagent bottles vertically when dispensing to ensure proper drop size and correct volume.
11. Microbial contamination of reagents may decrease the accuracy of the assay. Avoid microbial contamination of reagents by using sterile disposable pipettes if removing aliquots from reagent bottles.
12. All reagents, except for the *Wash Buffer Concentrate*, are supplied in ready-to-use bottles. Reagents can be dispensed directly from the dropper bottles or decanted for use with multichannel pipettes. If excess reagent has been decanted, the excess should be discarded. Do not pour back into the bottle. The *Substrate* should be stored in and used from the light-protected bottle in which it is supplied. If an aliquot is removed from the original bottle for any reason, do not return unused *Substrate* to the original bottle. The *Substrate* is light sensitive and should be protected from direct sunlight or UV sources.
13. Perform the washing procedure as directed to avoid high background reactions.
14. The test has been optimized for sensitivity and specificity. Do not deviate from the specified procedure. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test.
15. Fecal specimens may contain potentially infectious agents and should be handled at "Biosafety Level 2" as recommended in the CDC/NIH Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories."
16. Handle specimens and used microassay wells as if capable of transmitting infectious agents. Do not place specimens or used microassay wells in trash. Wear disposable gloves when doing the test.
17. The *Conjugate*, *Diluent*, and *Positive Control* reagents contain 0.05% ProClin® 300 as a preservative. Although the concentration is low, ProClin® 300 is known to be harmful (skin sensitization may occur). If skin sensitization/irritation or rash occurs, get medical advice/attention. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
18. The *20X Wash Buffer Concentrate* contains 0.2% Thimerosal as a preservative. Once diluted to normal use concentration this solution is classified as non-hazardous. The *Stop Solution* contains 0.6N sulfuric acid. Flush with water immediately if contact occurs. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
19. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations. Do not place in trash, dispose of as hazardous waste.

PRELIMINARY PREPARATIONS

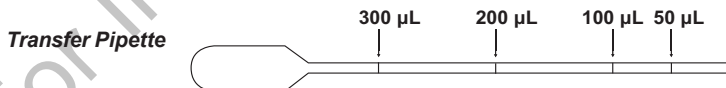
1. **All reagents must be at room temperature prior to use in the assay.**
2. **Prepare 1X Wash Solution.** The *Wash Buffer Concentrate* is supplied as a 20X concentrate (a precipitate may be noticed). It should be diluted to a total volume of 1 liter by adding 50 mL of the concentrate to 950 mL of distilled water. Label the bottle. Store any unused 1X *Wash Solution* between 2°C and 8°C for up to the expiration date of the kit.
3. **Assay Strip Preparation.** Each strip contains 8 wells coated with antibodies specific to *Campylobacter* antigen. Each specimen or control will use one of these coated wells. Determine the number of wells to be used. Avoid contact with the base of the wells. Assay wells not used must be returned to the foil pouch and carefully resealed with desiccant.

COLLECTION, HANDLING, AND STORAGE OF FECAL SPECIMENS

Acceptable Sample Type	Do Not Use
Fresh Fecal Specimen	Fecal specimens in Formalin-based fixative (e.g., sodium acetate formalin, 10% formalin)
Frozen Fecal Specimen	Fecal specimens in alcohol-based fixative (e.g., polyvinyl alcohol)
Specimen in Transport Media (C&S, Cary Blair)	Concentrated Fecal Specimens

Storage Condition	Recommended Storage Time
Fresh Samples Stored between 2°C and 8°C	96 hours
Samples stored in Cary Blair media between 20°C and 30°C	96 hours
Samples stored in C&S media between 20°C and 30°C	96 hours

- Standard collection and handling procedures used in-house for fecal specimens are appropriate. Fresh fecal specimens should be collected in clean, leak-proof containers, stored between 2° and 8°C, and tested within 96 hours of collection. Specimens that cannot be tested within this time should be stored at $\leq -10^{\circ}\text{C}$. Fecal specimens that are stored frozen may be thawed up to 5 times. If using frozen specimens, thaw at room temperature.
- Specimens in transport media may be stored for up to 96 hours between 20°C and 30°C.
- Storing fecal specimens in the *Diluent* is NOT recommended.
- Set up and label one test tube for each sample as necessary.
- Add 200 μL *Diluent* to each tube for unpreserved specimens. For specimens in Cary Blair or C&S Transport media, add 100 μL *Diluent* to each tube.**
- Obtain one disposable plastic transfer pipette (supplied with the kit) for each sample.



- Mix all specimens thoroughly regardless of consistency - it is essential that the samples be evenly suspended before sampling.** For fresh or frozen/thawed specimens, using the disposable plastic transfer pipette, add 50 μL (first graduation mark) of fecal specimen to the tube containing *Diluent* and mix well. If the specimen cannot be pipetted, use an applicator stick to transfer approximately 0.05 g of feces. This is about the size of a cooked grain of rice (about 2mm in diameter). For specimens in **Cary Blair or C&S Transport media**, add 100 μL (second graduation mark) of fecal specimen to the tube containing *Diluent* and mix well.
- Close each tube of diluted sample and mix thoroughly. Proper mixing can be achieved by vortexing for 5 – 20 seconds.
- If using semi-automated or automated washing equipment, well-mixed specimens, once diluted, must be centrifuged (5000 x g for 10 minutes) to remove any particulate matter from the supernatant before transfer to assay wells.

6

TEST PROCEDURE

1. Bring all reagents and the required number of test strips to room temperature before use.
2. **Add 1 drop (50 μ L) of Conjugate (red cap) to each well.** Gently mix the *Conjugate* in the bottle by inverting several times. Be sure to hold each bottle vertically when adding the drops. Use 1 well for each fecal specimen, 1 well for the *Positive Control* and 1 well for the negative control. Identification marks may be written directly on side of well.
3. **Using a transfer pipette, transfer 100 μ L of diluted specimen (or supernatant from the centrifuged diluted sample if using automated washing equipment) to the assay well.** Add 1 drop (50 μ L) of the *Positive Control* (black cap) to the positive control well and 100 μ L of the *Diluent* (negative control) to the negative control well. Tap the sides of the plate to mix.
4. Cut the adhesive plastic sheet to the size necessary to cover the wells. **Cover the wells and incubate them at 37°C $\pm$ 2°C for 50 minutes.**
5. Shake out contents of assay wells into a discard pan.
6. **Wash each well using the 1X Wash Solution in a squirt bottle with a fine-tipped nozzle,** directing the *Wash Solution* to the bottom of the well with force. Fill the wells, and then shake the *Wash Solution* out of the well into a discard pan. Slap the inverted plate on a dry paper towel.
Note: If using semi-automated or automated washing equipment, add 350 μ L of 1X Wash Solution to each well. Wash for a total of 5 times.
7. Repeat step 6 four additional times using a dry paper towel each time. If any particulate matter is seen in the wells, continue washing until all the particulate matter is removed.
8. After washing, completely remove any residual liquid in the wells by striking the plate onto a dry paper towel until no liquid comes out. Dispose of paper towels and specimen containers properly. Wipe the underside of each well.
9. **Add 2 drops (100 μ L) of Substrate (blue cap) to each well.** Gently tap the wells to mix the *Substrate*. Incubate the wells at room temperature for 10 minutes. Gently tap the wells at 5 minutes.
10. **Add 1 drop (50 μ L) of Stop Solution (yellow cap) to each well.** Gently tap the wells and wait 2 minutes before reading. The addition of the *Stop Solution* converts the blue color of the *Substrate* to a yellow color which can be quantitated by measuring the optical density at 450 nm on a microplate ELISA reader. The instrument should be blanked against air. If a dual wavelength reader is used, blank against air at 620 or 630 and read at 450 nm. Wipe the underside of each well before measuring the optical density. If an ELISA reader is unavailable, the test may be read visually in good light against a white background. Read within ten minutes after adding *Stop Solution*.

QUALITY CONTROL

1. Positive and negative controls must be run with each series of test specimens. The positive controls demonstrate that the assay is functioning properly for the detection of *Campylobacter* antigen in fecal specimens. The negative control demonstrates that the assay is not reacting nonspecifically.
2. Positive and negative controls must fall within their respective ranges (below) or the test results are not valid. If these results are not observed, call Technical Services.
 - a) **Positive Control must be a visible yellow color.** If read on a spectrophotometer, the OD at 450 nm or using dual wavelength at 450/620 nm or 450/630 nm must be ≥ 0.500 . Any well that gives a positive reading without visible color should be repositioned, wiped on the underside of the well, and read again.
 - b) **Negative Control must be visually clear.** If read on a spectrophotometer, the OD at 450 nm must be < 0.120 . If read at 450/620 nm or 450/630 nm the absorbance must be < 0.080 . If not, the test is invalid and should be repeated, paying attention to the wash procedure.
3. Visual readings must be taken in good light against a white background.

INTERPRETATION OF RESULTS

	Spectrophotometric Reading	
	Single Wavelength at 450 nm	Dual Wavelength at 450/620 nm or 450/630 nm
Negative Samples	OD < 0.120	OD < 0.080
Positive Samples	OD ≥ 0.120	OD ≥ 0.080

Visual Interpretation

The negative control well should be colorless or have only a faint yellow color (less than the 1+ yellow color according to the Visual Interpretation guide provided with the kit). The positive control well should give a visible yellow color. If these results are not observed, call Technical Services. A test sample is considered positive if it has an obvious yellow color when compared to the negative control well. It may be less yellow or more yellow than the color observed in the positive control well. A test sample is considered negative if the reaction is colorless or less yellow than the negative control well.

A positive result indicates *Campylobacter* antigen is present in the specimen. A negative result indicates that *Campylobacter* antigen is absent or the level is below the detection limit of the test.

Limitations

1. The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test is used to detect a *Campylobacter*-specific antigen in human fecal specimens. The test confirms the presence of antigen in feces and this information should be taken under consideration by the physician in light of the clinical history and physical examination of the patient.
2. Negative results should not definitively rule-out the presence of *Campylobacter* species in suspected patients. Levels of organism may be present in feces beneath the limit of detection for the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test, and therefore, if *Campylobacter* is suspected, alternative testing should be conducted.
3. Optimal results with the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test are obtained with specimens that are less than 96 hours old. If specimens are not assayed within this time period, they may be frozen.
4. The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test was evaluated using only fresh fecal samples and fecal samples stored in Cary Blair media or C&S media. The performance of fecal samples stored in other transport media (e.g. formalin, polyvinyl alcohol) has not been evaluated and therefore, should not be used.
5. The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test is qualitative. The intensity of the color should not be interpreted quantitatively.
6. No data exists on the effects of colonic washes, barium enemas, laxatives, or bowel preparations on the performance of the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test. All of these procedures can result in extensive dilution or the presence of additives that may affect test performance.
7. Transferring too little specimen, or failure to mix and completely suspend the specimen in the *Diluent*, may result in a false-negative test result.

EXPECTED VALUES

The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test detects the presence of a *Campylobacter*-specific antigen in human fecal specimens. Expected values for a particular population should be established by each laboratory, and will vary depending on local food safety practices, sanitation of water sources, country, and season of year (10). FoodNet, the U.S. Food-Borne Diseases Active Surveillance Network, reported an annual incidence of 13.45 per

100,000 population for *Campylobacter* infection between 1996 to 2012 (11). Globally, incidence rates can reach >400 per 100,000 (12, 13). Reported annual incidence rates in fecal samples submitted for testing range from 1-2% (14, 15). Higher incidence rates (up to 7%) are seen in the summer months and in preschool-aged children (10, 15).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Prospective Study

The performance of the *CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test was evaluated at 4 independent sites. Prospective incoming fecal specimens were collected and tested by culture and the *CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test. The following table shows a summary of the clinical performance of the *CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test for all 4 sites combined. The results of the study show that the *CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test exhibited a sensitivity of 91.4%, and a specificity of 99.1% with culture.

Age and Gender Distribution

Age information was available for 1552 patients. The ages ranged from less than 1 year to 100 years. Of the 1552 patients, 15.7% were ≤ 18 years. The gender identification was 38.7% females and 61.3% males. No difference in test performance was observed based on patient age or gender.

***CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test versus Culture**

N = 1552	Culture Positive	Culture Negative
<i>CAMPYLOBACTER CHEK</i> [™] Positive	32	14*
<i>CAMPYLOBACTER CHEK</i> [™] Negative	3**	1503

	95% Confidence Limits	
Sensitivity	91.4%	77.6% - 97.0%
Specificity	99.1%	98.5% - 99.5%

The 17 discrepant specimens were further characterized by additional testing at TECHLAB. This testing included an FDA-cleared commercial Microassay well EIA, an FDA-cleared commercial molecular test, in-house PCR (detecting the 16s rRNA gene of *Campylobacter* spp., and species-specific identification), and bidirectional sequencing.

* Eight of the 14 specimens that were culture negative and *CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test positive were confirmed to be positive with all tests.

Two of the 14 specimens that were culture negative and *CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test positive were confirmed to be positive with the commercial EIA, in-house PCR, and bidirectional sequencing.

Four specimens that were culture negative and *CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test positive were confirmed to be positive for *C. upsaliensis* by species-specific PCR and sequencing.

** One of the three specimens that were culture positive and *CAMPYLOBACTER CHEK*[™] test negative was confirmed to be negative with all tests.

Retrospective Study

Supplemental testing was performed on 30 retrospective positive specimens. The patient ages ranged from less than 11 months to 74 years. All retrospective specimens were *Campylobacter* spp. culture positive and were further characterized as *Campylobacter* spp. positive by an FDA-cleared commercial Microassay well EIA, an FDA-cleared commercial molecular test, in-house PCR (detecting the 16s rRNA gene of *Campylobacter* spp., and

species-specific identification), and bidirectional sequencing. These specimens were then tested in the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test. All 30 specimens tested positive for *Campylobacter* spp. by all methods, yielding 100% correlation with all test methods.

REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test was determined using 8 human fecal samples coded to prevent their identification during testing. Testing was performed at 2 independent laboratories and on-site at TECHLAB, Inc. The samples were tested twice a day over a 5-day period by multiple technicians at each site using 2 different kit lots. Positive and negative controls were run with each panel of the masked samples. The results from each laboratory were submitted to TECHLAB, Inc. and compared with in-house results. The results were consistent among the different locations and exhibited a correlation of 100%. The samples produced the expected results 100% of the time.

CROSS REACTIVITY

The *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test was evaluated for cross-reactivity with common intestinal organisms and viruses listed below. None of the organisms or viruses were shown to interfere with the performance of the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test.

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Salmonella enterica typhimurium</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (non-toxigenic)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (toxigenic)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia hermannii</i>	
Adenovirus Type 1, 2, 3, 5, 40, 41	Human Coronavirus
Coxsackievirus B2, B3, B4, B5	Human Rotavirus
Echovirus 9, 11, 18, 22, 33	Norovirus
Enterovirus 68, 69, 70, 71	

Campylobacter species that were shown to be reactive with the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test. *C. helveticus* (strain 54661) was found to be positive at 3.14×10^6 CFU/mL (2 x LoD of *C. coli*).

INCLUSIVITY STUDY

The specificity of the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test was evaluated using several strains of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter upsaliensis*. All strains listed generated positive results when tested.

C. coli CCUG strains: 11283, 10956, 17755, 36994, 53138*

C. jejuni sub-species *jejuni* CCUG strains: 11284, 6951, 12081, 29411, 38106

C. jejuni sub-species *doylei* CCUG strain: 24567

C. lari strains: 2013/0823H, 2014/2772, 2015/0519, 2015/0814, 2015/1582, 2015/1657, 2015/2189, 2015/2983, 2016/0235, 2016/1130H

C. upsaliensis strains: 2016/0385, 2016/1931*, 2016/1950, 2016/2697, 2016/2826, 2017/0349, 2017/0506H**, 2017/2584, 2018/0319H, 2018/1669

*Strain 53138 and strain 2016/1931 were positive at 4 x LoD.

**Strain 2017/0506H was positive at 5 x LoD.

C. lari and *C. upsaliensis* strains were obtained from Centre National de Reference des Campylobacters et Helicobacters - Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

INTERFERING SUBSTANCES (U.S. FORMULATION)

The following substances had no effect on positive or negative *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test results analyzed at the concentrations indicated:

Barium sulfate (5% w/v), Benzalkonium Chloride (1% w/v), Ciprofloxacin (0.25% w/v), Ethanol (1% w/v), Hog gastric mucin (3.5% w/v), Human blood (40% v/v), Hydrocortisone (1% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Leukocytes (0.05% w/v), Maalox® Advanced (5% v/v), Mesalazine (10% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Mineral Oil (10% w/v), Mylanta® (4.2 mg/mL), Naproxen Sodium (5% w/v), Nonoxynol-9 (1% w/v), Nystatin (1% w/v), Palmitic Acid/Fecal Fat (40% w/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Phenylephrine (1% w/v), Polyethylene glycol 3350 (10% w/v), Prilosec OTC® (5 µg/mL), Sennosides (1% w/v), Simethicone (10% w/v), Steric Acid/Fecal Fat (40% w/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS® (50 µg/mL), Human Urine (5% v/v), and Vancomycin (0.25% w/v).

PRECISION – INTRA-ASSAY

For the determination of intra-assay performance, 8 fecal samples were analyzed by the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test. The samples included 2 negative, 2 high negative, 2 low positive, and 2 moderate positive samples. Each sample was assayed a total of five times using two different kit lots. Positive specimens consistently tested positive and negative and high negative specimens consistently tested negative. No difference was observed between the results for the single wavelength, dual wavelength and visual reading results. There was 100% agreement between the two kit lots.

PRECISION – INTER-ASSAY

For the determination of inter-assay performance, 8 fecal samples were analyzed by the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test. The samples included 2 negative, 2 high negative, 2 low positive, and 2 moderate positive samples. The samples were tested twice a day by multiple technicians over a 12-day period using 2 different kit lots. All positive samples remained positive and all negative samples remained negative. Visual interpretation of results gave a correlation of 100% with spectrophotometric interpretation. Both kit lots exhibited a correlation of 100%.

ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity of the test was determined by using *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis* whole organism culture preparations in a sample matrix. The concentration of *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis* organisms in fecal matrix at which specimens are positive by the *CAMPYLOBACTER CHEK*™ test 95% of the time is the assay Limit of Detection (LoD).

The Limit of Detection (LoD) for the *CAMPYLOBACTER CHEK*TM test with raw fecal samples was established at 2.10×10^5 CFU/mL (4203 CFU/test) for *C. jejuni*. For specimens in ProtocolTM Cary Blair media, the LoD was established at 8.06×10^5 CFU/mL (10072 CFU/test) for *C. jejuni*. For specimens in ProtocolTM C&S media, the LoD was established at 5.09×10^5 CFU/mL (6357 CFU/test) for *C. jejuni*. The limits of detection are equivalent for both single and dual wavelength readings.

The Limit of Detection (LoD) for the *CAMPYLOBACTER CHEK*TM test with raw fecal samples was established at 1.57×10^6 CFU/mL (31324 CFU/test) for *C. coli*. For specimens in ProtocolTM Cary Blair media, the LoD was established at 3.77×10^6 CFU/mL (47077 CFU/test) for *C. coli*. For specimens in ProtocolTM C&S media, the LoD was established at 5.36×10^6 CFU/mL (66974 CFU/test) for *C. coli*. The limits of detection are equivalent for both single and dual wavelength readings.

The Limit of Detection (LoD) for the *CAMPYLOBACTER CHEK*TM test with raw fecal samples was established at 4.60×10^5 CFU/mL (9200 CFU/test) for *C. lari*. For specimens in ProtocolTM Cary Blair media, the LoD was established at 1.09×10^6 CFU/mL (13625 CFU/test) for *C. lari*. For specimens in ProtocolTM C&S media, the LoD was established at 1.18×10^6 CFU/mL (14750 CFU/test) for *C. lari*. The limits of detection are equivalent for both single and dual wavelength readings.

The Limit of Detection (LoD) for the *CAMPYLOBACTER CHEK*TM test with raw fecal samples was established at 4.65×10^5 CFU/mL (9300 CFU/test) for *C. upsaliensis*. For specimens in ProtocolTM Cary Blair media, the LoD was established at 1.02×10^6 CFU/mL (12750 CFU/test) for *C. upsaliensis*. For specimens in ProtocolTM C&S media, the LoD was established at 1.02×10^6 CFU/mL (12750 CFU/test) for *C. upsaliensis*. The limits of detection are equivalent for both single and dual wavelength readings.

PROZONE

To ensure that a high concentration of *Campylobacter* antigen does not interfere with a positive reaction in the *CAMPYLOBACTER CHEK*TM test, high samples were prepared by spiking a negative fecal pool at a concentration possibly observed in clinical specimens. A total of 5 different dilutions of *C. jejuni* and *C. coli* whole organism culture preparation, up to and including the clinically observed high concentration, were prepared and tested in triplicate. The results demonstrated that there was no overall prozone effect, that elevated levels of antigen did not affect the detection of the antigen.

CAMPYLOBACTER CHEK™ - ESPAÑOL

USO PREVISTO

La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* es un inmunoensayo enzimático para la detección cualitativa de un antígeno específico de *Campylobacter* en muestras fecales humanas. La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* está diseñada para detectar *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* en pacientes con signos y síntomas de gastroenteritis. La prueba está diseñada para utilizarse con muestras fecales conservadas en medios de transporte y con muestras fecales no sometidas a conservación. Los resultados de la prueba deben valorarse conjuntamente con los datos clínicos y la anamnesis del paciente.

Atención: La Ley Federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo o bajo prescripción médica.

FUNDAMENTO

En todo el mundo, las especies de *Campylobacter* son la causa más frecuente de gastroenteritis bacteriana, con 400-500 millones de casos anuales de diarrea (1). La población infantil de los países en vías de desarrollo presenta un riesgo aún mayor, al igual que las personas que viajan a dichos países (2). Se calcula que la gastroenteritis asociada a *Campylobacter* afecta cada año a casi 1 millón de personas en EE. UU. (3). En aproximadamente 1 de cada 1000 casos, *Campylobacter jejuni* está estrechamente relacionado con el posterior desarrollo del síndrome de Guillain-Barré, una parálisis autoinmunitaria aguda (4). La infección por *C. jejuni* también se ha asociado con la artritis reactiva tanto en niños como en adultos (4, 5). Cuando las personas con síntomas graves de gastroenteritis acuden al médico, este se enfrenta a varias causas posibles, que pueden dar lugar a características clínicas similares (por ejemplo, diarrea, náuseas, vómitos, fiebre, dolor abdominal) pero que requieren tipos de tratamiento muy diferentes, a menudo incompatibles entre sí (4).

Actualmente, el método estándar de identificación de *Campylobacter* es el cultivo bacteriano seguido de un examen microscópico de los microorganismos (6). Aunque este método tradicional es sencillo, tiene dos limitaciones importantes. En primer lugar, las especies patógenas de *Campylobacter* son microaerófilas o estrictamente anaerobias, por lo que la exposición del cultivo o las heces al oxígeno ambiental provoca su muerte o inactivación (7, 8). Así pues, durante el transporte o la conservación de muestras en condiciones aerobias, el número de microorganismos viables puede disminuir y, por tanto, es posible que los resultados del cultivo sean incorrectos (9). En segundo lugar, las especies de *Campylobacter* son de crecimiento lento y necesitan de 48 a 72 horas para alcanzar un estado en el que el cultivo pueda considerarse negativo con seguridad. Esta demora puede generar dudas en el médico y hacer que el paciente reciba un tratamiento no específico, ineficaz o incluso inapropiado.

La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* permite detectar *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, las especies que más a menudo están asociadas a una patología humana. Además, la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* no depende de la viabilidad bacteriana y puede realizarse en la mesa de trabajo del laboratorio con muestras que hayan estado expuestas al aire.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* utiliza anticuerpos que reconocen un antígeno específico de *Campylobacter*. La *placa de microanálisis* del kit contiene anticuerpos monoclonales de captura contra un antígeno específico de *Campylobacter* inmovilizados. El *conjugado* consiste en anticuerpos policlonales contra un antígeno específico de *Campylobacter* unidos a peroxidasa de rábano picante. En el ensayo, una alícuota de una muestra fecal diluida se transfiere a un pocillo de microanálisis que contiene el *conjugado*. Si el antígeno está presente en la muestra, se unirá al *conjugado* y al anticuerpo de captura inmovilizado durante la fase de incubación. El material no unido se elimina durante los pasos de lavado. Tras añadir el *sustrato* se observa un color

debido a los complejos de enzima-anticuerpo-antígeno que se formaron en presencia del antígeno.

MATERIALES SUMINISTRADOS

MA	PLT	Placa de microanálisis: 12 tiras, cada una con 8 pocillos recubiertos con anticuerpos monoclonales contra un antígeno específico de <i>Campylobacter</i> (conservadas con desecante)	
CONJ	ENZ	Conjugado (7 ml): anticuerpos contra un antígeno específico de <i>Campylobacter</i> unidos a peroxidasa de rábano picante en una solución proteínica tamponada que contiene un 0,05 % de ProClin® 300 Palabra de advertencia: Advertencia: ProClin® 300 al 0,05 %. H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel	
DIL	SPE	Diluyente (40 ml): solución proteínica tamponada que contiene un 0,05 % de ProClin® 300. El <i>diluyente</i> también se usa como solución de control negativo (véase el apartado PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA). Palabra de advertencia: Advertencia: ProClin® 300 al 0,05 %. H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel	
CONTROL	+	Control positivo (3,5 ml): antígeno específico de <i>Campylobacter</i> en una solución proteínica tamponada que contiene un 0,05 % de ProClin® 300 Palabra de advertencia: Advertencia: ProClin® 300 al 0,05 %. H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel	
H ₂ SO ₄	0.6N	Solución de parada (7 ml): ácido sulfúrico 0,6 N. ATENCIÓN: Evitar el contacto con la piel o los ojos; aclarar con agua inmediatamente en caso de contacto. Indicación de advertencia: Peligro H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves	
SUBS	REAG	Sustrato (14 ml): solución que contiene tetrametilbenzidina y peróxido	
WASHBUF	20x	Concentrado de tampón de lavado (50 ml): concentrado 20x que contiene solución salina tamponada con fosfato, detergente y un 0,2 % de tiomersal Palabra de advertencia: Advertencia P260, P264, P2 H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.	
		P260, P273, P314, P391, P501 contiene mercurio	
		 	

ACCESORIOS

100 pipetas de transferencia de plástico desechables
1 etiqueta de solución de lavado

2 hojas adhesivas de plástico
50 varillas aplicadoras de madera

MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Frasco con rociador para el reactivo de lavado

Mezclador de tipo vortex

Cronómetro

Guantes

Recipiente de residuos

Papel absorbente

950 ml de agua destilada para diluir el reactivo de lavado

Lector de placas de ELISA capaz de leer a 450 nm, 450/620 nm o 450/630 nm

Tubos pequeños para la dilución de las muestras fecales (p. ej., tubos de microcentrifuga)

PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta de la caja. Las fechas de caducidad de los componentes se indican en sus correspondientes etiquetas. El kit debe conservarse entre 2 y 8 °C y debe devolverse a la nevera tan pronto como sea posible después del uso.

PRECAUCIONES

1. Producto sujeto a prescripción médica
2. Para uso diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional.
3. Cada componente del kit debe inspeccionarse por cualquier posible signo de fuga. Al recibirlo, el kit debe inspeccionarse para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
4. No deben mezclarse los reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad asignada.
5. ANTES DEL USO, deje que todos los componentes alcancen la TEMPERATURA AMBIENTE.
6. No congele los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.
7. Los tapones y las puntas están codificados con colores y NO deben mezclarse ni intercambiarse.
8. Cuando se manipulen pocillos de ensayo, debe evitarse rascar el fondo de los pocillos, ya que esto podría dar lugar a lecturas de absorbancia incorrectas.
9. Los micropocillos no utilizados deben volver a introducirse en la bolsa resellable junto con el desecante para protegerlos de la humedad.
10. Al verter los reactivos, sujete los frascos en posición vertical para asegurar el tamaño adecuado de las gotas y el volumen correcto.
11. La contaminación microbiana de los reactivos puede reducir la precisión del análisis. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos utilizando pipetas estériles desechables para extraer partes alícuotas de los frascos de reactivos.
12. Todos los reactivos, a excepción del *concentrado de tampón de lavado*, se suministran en frascos listos para usar. Los reactivos pueden dispensarse directamente de los frascos con gotero o decantarse para su uso con pipetas multicanal. Si se ha decantado una cantidad excesiva de reactivo, deberá desecharse el sobrante. No se reintroducirá en el frasco. El *sustrato* debe almacenarse en el frasco protegido de la luz en el que se suministra y debe utilizarse directamente del frasco. Si, por cualquier motivo, se retira una parte alícuota del frasco original, no debe reintroducirse el *sustrato* no utilizado en el frasco original. El *sustrato* es sensible a la luz y debe protegerse de la luz solar directa o de fuentes de UV.
13. Efectuar el procedimiento de lavado según las indicaciones para evitar reacciones de fondo elevadas.
14. La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. No se desvíe del procedimiento especificado. Las alteraciones del procedimiento especificado o de las condiciones de la prueba pueden afectar a su sensibilidad y especificidad.
15. Las muestras fecales pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manejarse en un "Nivel de Bioseguridad 2", tal como se recomienda en el Manual de los CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories".
16. Manipular las muestras y los pocillos de microanálisis utilizados como potenciales transmisores de agentes infecciosos. No tire a la basura las muestras ni los pocillos de microanálisis usados. Utilice guantes desechables para realizar la prueba.
17. Los reactivos *conjugado*, *diluyente* y *tampón de lavado* contienen ProClin® 300 al 0,05 % como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo (puede producirse sensibilización cutánea). En caso de irritación/ sensibilización o erupción cutánea, consulte a un médico. Quítese las prendas contaminadas y lávelas antes de volver a usarlas. Manipule los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido; consulte al servicio técnico.

18. El *concentrado de tampón de lavado* 20x contiene tiomersal al 0,2 % como conservante. Una vez diluida hasta la concentración de uso normal, esta solución se clasifica como no peligrosa. La *solución de parada* contiene ácido sulfúrico 0,6N. Aclarar inmediatamente con agua en caso de contacto. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Manejar los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido; consultar al servicio técnico.
19. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos. No lo tire a la basura, elimínelo como residuo peligroso.

PREPARACIONES PRELIMINARES

1. **Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente antes de su uso en el análisis.**
2. **Preparación de la *solución de lavado* 1x.** El *concentrado de tampón de lavado* se suministra como un concentrado 20x (es posible que se observe un precipitado). Se debe diluir hasta un volumen total de 1 litro añadiendo 50 ml del concentrado y 950 ml de agua destilada. Etiquetar el frasco. Conserve toda la *solución de lavado* 1x no utilizada entre 2 °C y 8 °C como máximo hasta la fecha de caducidad del kit.
3. **Preparación de la tira de ensayo.** Cada tira contiene 8 pocillos recubiertos con anticuerpos específicos contra un antígeno de *Campylobacter*. Se empleará uno de estos pocillos recubiertos para cada muestra o control. Determinar el número de pocillos que se van a utilizar. Evitar el contacto con la base de los pocillos. Los pocillos de análisis no utilizados deben volver a colocarse en la bolsa de aluminio y resellarse con cuidado con el desecante.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS FECALES

Tipo de muestra aceptable	No utilizar
Muestras fecales recientes	Muestras fecales con fijador basado en formol (p. ej., acetato sódico-formol, formol al 10 %)
Muestra fecal congelada	Muestras fecales con fijador basado en alcohol (p. ej., alcohol polivinílico)
Muestras en medios de transporte (C&S, Cary Blair)	Muestras fecales concentradas

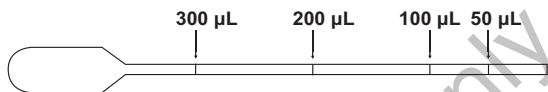
Condiciones de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento recomendado
Muestras frescas conservadas entre 2 °C y 8 °C	96 horas
Muestras almacenadas en medios Cary Blair entre 20 °C y 30 °C	96 horas
Muestras almacenadas en medios C&S entre 20 °C y 30 °C	96 horas

1. Los procedimientos estándar de recogida y transporte de las muestras fecales utilizados a nivel interno se consideran adecuados. Las muestras fecales frescas deben recogerse en recipientes limpios y sin fugas, almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 °C y 8 °C y analizarse en las 96 horas posteriores a la recogida. Las muestras que no

puedan analizarse en este plazo de tiempo deben conservarse a $\leq -10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las muestras fecales que se conservan congeladas pueden descongelarse hasta 5 veces. Si se utilizan muestras congeladas, descongele a temperatura ambiente.

- Las muestras en medios de transporte pueden conservarse como máximo 96 horas entre $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- NO se recomienda conservar las muestras fecales en el *diluyente*.
- Asigne e identifique un tubo de ensayo para cada muestra según sea necesario.
- Añada 200 μL de *diluyente* a cada tubo para las muestras no conservadas. En el caso de muestras en medios de transporte Cary Blair o C&S, añada 100 μL de *diluyente* a cada tubo.**
- Utilice una pipeta de transferencia de plástico desechable (suministradas con el kit) para cada muestra.

Pipeta de transferencia:



- Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia, ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea de las mismas antes de tomar las muestras de análisis.** En el caso de **muestras frescas o congeladas/descongeladas**, use la pipeta de transferencia de plástico desechable para añadir 50 μL (primera marca de graduación) de muestra fecal al tubo que contiene el *diluyente* y mezcle bien. Si la muestra no puede pipetearse, utilizar una varilla aplicadora para transferir aproximadamente 0,05 g de heces. Esta cantidad equivale más o menos al tamaño de un grano de arroz cocido (2 mm de diámetro, aproximadamente). Para las muestras en **medios de transporte Cary Blair o C&S**, añada 100 μL (segunda marca de graduación) de muestra fecal al tubo que contiene el *diluyente* y mezcle bien.
- Cierre todos los tubos de muestra diluida y mézclelos bien. Puede obtenerse una mezcla adecuada agitando con el mezclador tipo vórtex durante 5-20 segundos.
- Si se utiliza un equipo de lavado semiautomático o automático, las muestras bien mezcladas, una vez diluidas, deben centrifugarse ($5000 \times g$ durante 10 minutos) para eliminar las partículas del sobrenadante antes de transferirlas a los pocillos de ensayo.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Espere hasta que todos los reactivos y el número tiras de ensayo que sean necesarios se encuentren a temperatura ambiente antes de su uso.
- Añada 1 gota (50 μL) de *conjugado* (tapón rojo) a cada pocillo.** Mezcle suavemente el *conjugado* del frasco invirtiéndolo varias veces. Asegurarse de sostener el frasco en posición vertical al añadir las gotas. Utilice 1 pocillo para cada muestra fecal, 1 pocillo para el *control positivo* y 1 pocillo para el control negativo. Se pueden escribir marcas de identificación directamente en el lateral del pocillo.
- Mediante una pipeta de transferencia, dispense 100 μL de muestra diluida (o de sobrenadante de la muestra diluida centrifugada si se utiliza un equipo de lavado automático) en el pocillo de ensayo.** Añada 1 gota (50 μL) de *control positivo* (tapón negro) al pocillo del control positivo y 100 μL de *diluyente* (control negativo) al pocillo del control negativo. Golpee suavemente los laterales de la placa para mezclar.
- Recortar la hoja adhesiva de plástico al tamaño necesario para cubrir los pocillos. **Cubrir los pocillos e incubarlos a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 50 minutos.**
- Vaciar el contenido de los pocillos de ensayo en un contenedor de desechos.
- Lave cada pocillo con la *solución de lavado 1x* en un frasco con rociador con boquilla de punta fina**, dirigiendo con fuerza la *solución de lavado* hacia el fondo del pocillo. Llene los pocillos y, a continuación, deseche la ***solución de lavado***

del pocillo en un recipiente de residuos. Golpear la placa invertida sobre un papel absorbente seco.

Nota: Si se utiliza un equipo de lavado semiautomático o automático, añada 350 µl de solución de lavado 1x a cada pocillo. Lavar un total de 5 veces.

7. Repetir la etapa 6 cuatro veces más utilizando cada vez un papel absorbente seco. Si se observan partículas en los pocillos, seguir lavando hasta que se elimine esta materia.
8. Después del lavado, retire completamente cualquier líquido residual de los pocillos golpeando la placa sobre un papel absorbente seco hasta que no salga más líquido. Eliminar adecuadamente el papel absorbente y los contenedores de muestras. Limpie la parte inferior de cada pocillo.
9. **Añada 2 gotas (100 µl) de sustrato (tapón azul) a cada pocillo.** Golpear suavemente los pocillos para mezclar el *sustrato*. Incubar los pocillos durante 10 minutos a temperatura ambiente. Golpear suavemente los pocillos a los 5 minutos.
10. **Añada 1 gota (50 µl) de solución de parada (tapón amarillo) a cada pocillo.** Golpear suavemente los pocillos y esperar 2 minutos antes de la lectura. La adición de la *solución de parada* convierte el color azul del *sustrato* en amarillo, lo que puede cuantificarse determinando la densidad óptica a 450 nm en un lector de microplacas de ELISA. El instrumento debe calibrarse con aire. Si se utiliza un lector de doble longitud de onda, calibre con aire a 620 o 630 nm y lea a 450 nm. Antes de determinar la densidad óptica, limpiar la parte inferior de cada pocillo. Si no se dispone de un lector de placas de ELISA, la prueba se puede leer visualmente en condiciones de iluminación adecuadas frente a un fondo blanco. Lea a los 10 minutos de añadir la *solución de parada*.

CONTROL DE CALIDAD

1. Se efectuarán un control positivo y un control negativo con cada serie de muestras problema. Los controles positivos demuestran que la prueba funciona adecuadamente para la detección del antígeno de *Campylobacter* en muestras fecales. El control negativo demuestra que la prueba no está reaccionando inespecíficamente.
2. Los controles positivo y negativo deben estar dentro de sus rangos respectivos (véase a continuación), pues de lo contrario los resultados de la prueba no serán válidos. Si estos resultados no se cumplen, llame al Servicio Técnico.
 - a) **El control positivo debe tener un color amarillo visible.** Si se lee en un espectrofotómetro, la OD a 450 nm o, cuando se utiliza longitud de onda doble, a 450/620 nm o 450/630 nm debe ser $\geq 0,500$. Todo pocillo que dé una lectura positiva sin color visible deberá ser colocado de nuevo, se deberá limpiar la parte inferior del mismo y se leerá nuevamente.
 - b) **El control negativo debe ser transparente.** Si se lee en un espectrofotómetro, la OD a 450 nm debe ser $< 0,120$. Si se lee a 450/620 nm o a 450/630 nm, la absorbancia debe ser $< 0,080$. En caso contrario, la prueba no es válida y deberá repetirse, prestando atención al procedimiento de lavado.
3. Las lecturas visuales se deben realizar en condiciones adecuadas de iluminación frente a un fondo blanco.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

	Lectura espectrofotométrica	
	Longitud de onda única a 450 nm	Longitud de onda dual a 450/620 nm o 450/630 nm
Muestras negativas	OD $< 0,120$	OD $< 0,080$
Muestras positivas	OD $\geq 0,120$	OD $\geq 0,080$

Interpretación visual

El pocillo de control negativo debe ser incoloro o presentar un color amarillo pálido (más tenue que el color amarillo 1+ según la guía de interpretación visual suministrada con el kit). El pocillo de control positivo debe tener un color amarillo visible. Si estos resultados no se cumplen, llame al Servicio Técnico. Una muestra se considera positiva si tiene un color amarillo evidente en comparación con el pocillo de control negativo. Puede ser más o menos amarillo que el color observado en el pocillo de control positivo. Una muestra se considera negativa si la reacción es incolora o menos amarilla que el pocillo de control negativo.

Un resultado positivo indica la presencia de antígeno de *Campylobacter* en la muestra. Un resultado negativo indica la ausencia de antígeno de *Campylobacter* o su presencia en una concentración inferior al límite de detección de la prueba.

Limitaciones

1. La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se utiliza para detectar un antígeno específico de *Campylobacter* en muestras fecales humanas. La prueba confirma la presencia de antígeno en heces y esta información deberá analizarla el médico junto con la anamnesis y la exploración física del paciente.
2. Un resultado negativo no permite descartar completamente la presencia de especies de *Campylobacter* en los pacientes con posibilidad de infección. Las heces pueden contener niveles de microorganismos inferiores al límite de detección de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* y, por tanto, si se sospecha que existe infección por *Campylobacter*, deben realizarse pruebas alternativas.
3. Los resultados óptimos de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se obtienen con muestras que tienen menos de 96 horas. Si las muestras no se pueden analizar en este plazo de tiempo, se pueden congelar.
4. La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se ha evaluado utilizando solo muestras fecales frescas y muestras fecales conservadas en medios de transporte Cary Blair o C&S. El rendimiento de las muestras fecales conservadas en otros medios de transporte (por ejemplo, formol o alcohol polivinílico) no se ha evaluado y, por tanto, no deben utilizarse.
5. La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* es cualitativa. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
6. No existen datos sobre los efectos de los lavados de colon, enemas de bario, laxantes o preparados intestinales en el rendimiento de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™*. Todos estos procedimientos pueden causar una amplia dilución o la presencia de aditivos que pueden afectar al rendimiento de la prueba.
7. Si se transfiere una cantidad insuficiente de muestra, o si esta no se mezcla y se suspende correctamente en la mezcla de *diluyente*, el resultado de la prueba puede ser un falso negativo.

VALORES ESPERADOS

La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* detecta la presencia de un antígeno específico de *Campylobacter* en muestras fecales humanas. Cada laboratorio debe establecer los valores esperados para una población determinada, que variarán según las normas de seguridad alimentaria locales, las condiciones sanitarias del agua potable, el país y la estación del año (10). FoodNet, la Red de Vigilancia Activa de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos de EE. UU., ha comunicado una incidencia anual de 13,45 casos por 100 000 habitantes para la infección por *Campylobacter* entre 1996 y 2012 (11). A nivel mundial, las tasas de incidencia pueden llegar a ser > 400 casos por 100 000 habitantes (12, 13). Las tasas anuales de incidencia notificadas de las muestras fecales enviadas a analizar se encuentran en el intervalo 1-2 % (14, 15). Se observan tasas de incidencia más altas (hasta el 7 %) en los meses de verano y en niños en edad preescolar (10, 15).

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estudio prospectivo

El rendimiento de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se evaluó en 4 laboratorios independientes. Se recogieron las muestras fecales prospectivas recibidas y se analizaron con el método del cultivo y mediante la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™*. La tabla siguiente muestra un resumen del rendimiento clínico de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* para todos los 4 laboratorios combinados. Los resultados del estudio muestran que la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* tuvo una sensibilidad del 91,4 % y una especificidad del 99,1 % con el método del cultivo.

Distribución por edad y sexo

Se disponía de información sobre la edad de 1552 pacientes. Las edades estuvieron comprendidas en el intervalo que va de menos de 1 año a 100 años. De los 1552 pacientes, el 15,7 % tenían ≤ 18 años. El 38,7 % eran mujeres y el 61,3 %, hombres. No se observó ninguna diferencia en el rendimiento de la prueba en función de la edad o el sexo del paciente.

La prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* frente al cultivo

N = 1552	Cultivo positivo	Cultivo negativo
<i>CAMPYLOBACTER CHEK™</i> Positivo	32	14*
<i>CAMPYLOBACTER CHEK™</i> Negativo	3**	1503

		Límites de confianza del 95%
Sensibilidad	91,4%	77,6% - 97,0%
Especificidad	99,1%	98,5% - 99,5%

Las 17 muestras discrepantes se caracterizaron más detalladamente mediante pruebas adicionales en TECHLAB. Dichas pruebas consistieron en un EIA comercial de pocillos de microanálisis aprobado por la FDA, una prueba molecular comercial aprobada por la FDA, una RCP interna (para la detección del gen 16s del ARNr de *Campylobacter* spp. y la identificación a nivel de especie) y una secuenciación bidireccional.

* Ocho de las 14 muestras negativas en el cultivo y positivas en la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se confirmaron como positivas mediante todas las pruebas. Dos de las 14 muestras negativas en el cultivo y positivas en la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se confirmaron como positivas con el EIA comercial, la RCP interna y la secuenciación bidireccional.

Cuatro muestras negativas en el cultivo y positivas en la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se confirmaron como positivas para *C. upsaliensis* mediante la RCP específica de cada especie y la secuenciación.

** Una de las 3 muestras positivas en el cultivo y negativas en la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se confirmó como negativa en todas las pruebas.

Estudio retrospectivo

Se llevaron a cabo pruebas complementarias en 30 muestras positivas retrospectivas. Las edades de los pacientes estuvieron comprendidas en el intervalo que va de menos de 11 meses a 74 años. Todas las muestras retrospectivas fueron positivas en el cultivo de *Campylobacter* spp. y una caracterización adicional determinó que eran positivas para *Campylobacter* spp. en un EIA comercial de pocillos de microanálisis aprobado por la FDA, una prueba molecular comercial aprobada por la FDA, una RCP interna (para la detección

del gen 16s del ARNr de *Campylobacter* spp. y la identificación a nivel de especie) y una secuenciación bidireccional. A continuación, estas muestras se analizaron mediante la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™. Todas las 30 muestras dieron positivo para *Campylobacter* spp. con todos los métodos de análisis y se obtuvo una correlación del 100 % con todos los métodos.

REPRODUCIBILIDAD

Se determinó la reproducibilidad de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™ usando 8 muestras fecales humanas codificadas para impedir su identificación durante el análisis. Las pruebas se realizaron en 2 laboratorios independientes e in situ en TECHLAB, Inc. Las muestras se estudiaron dos veces al día durante un período de 5 días por parte de diversos técnicos en cada centro, usando 2 lotes diferentes del kit. Se realizaron controles positivos y negativos con cada panel de las muestras enmascaradas. Los resultados de cada laboratorio se remitieron posteriormente a TECHLAB, Inc. y se compararon con los resultados internos. Los resultados fueron coherentes entre los diferentes laboratorios y mostraron una correlación del 100 %. Las muestras produjeron los resultados esperados en el 100 % de los casos.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se evaluó la reactividad cruzada de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™ con los microorganismos y virus intestinales habituales que se indican a continuación. Ninguno de los microorganismos y virus mostró interferencia con el funcionamiento de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™.

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Salmonella enterica typhimurium</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Escherichia coli</i> ECEI	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i> ECEP	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan)
<i>Escherichia coli</i> ECET	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (no toxigénica)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (toxigénica)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia hermannii</i>	

Adenovirus tipos 1, 2, 3, 5, 40, 41
 Coronavirus humano
 Virus de Coxsackie B2, B3, B4, B5
 Echovirus 9, 11, 18, 22, 33

Enterovirus 68, 69, 70, 71
 Rotavirus humano
 Norovirus

Especies de *Campylobacter* que reaccionaron con la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™.
C. helveticus (cepa 54661) fue positiva con un nivel de $3,14 \times 10^6$ UFC/ml (2 x LdD de *C. coli*).

ESTUDIO DE INCLUSIVIDAD

La especificidad de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* se evaluó usando varias cepas de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* y *Campylobacter upsaliensis*. Todas las cepas indicadas dieron resultados positivos al analizarlas.

Cepas CCUG de *C. coli*: 11283, 10956, 17755, 36994, 53138*

Cepas CCUG de *C. jejuni* subespecie *jejuni*: 11284, 6951, 12081, 29411, 38106

Cepa CCUG de *C. jejuni* subespecie *doylei*: 24567

Cepas de *C. lari*: 2013/0823H, 2014/2772, 2015/0519, 2015/0814, 2015/1582, 2015/1657, 2015/2189, 2015/2983, 2016/0235, 2016/1130H

Cepas de *C. upsaliensis*: 2016/0385, 2016/1931*, 2016/1950, 2016/2697, 2016/2826, 2017/0349, 2017/0506H**, 2017/2584, 2018/0319H, 2018/1669

* La cepa 53138 y la cepa 2016/1931 fueron positivas con un nivel de 4 x LdD.

** La cepa 2017/0506H fue positiva con un nivel de 5 x LdD.

Las cepas *C. lari* y *C. upsaliensis* se obtuvieron del Centre National de Reference des Campylobacters et Helicobacters - Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

SUSTANCIAS INTERFERENTES (FORMULACIÓN DE EE.UU.)

Las siguientes sustancias no tuvieron ningún efecto en los resultados positivos o negativos de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* analizadas a las concentraciones indicadas:

sulfato de bario (5 % p/v), cloruro de benzalconio (1 % p/v), ciprofloxacino (0,25 % p/v), etanol (1 % p/v), mucina gástrica de cerdo (3,5 % p/v), sangre humana (40 % v/v), hidrocortisona (1 % p/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), leucocitos (0,05 % p/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), mesalazina (10 % p/v), metronidazol (0,25 % p/v), parafina líquida (10 % p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), naproxeno sódico (5 % p/v), nonoxinol-9 (1 % p/v), nistatina (1 % p/v), ácido palmítico/grasa fecal (40 % p/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), fenilefrina (1 % p/v), polietilenglicol 3350 (10 % p/v), Prilosec OTC® (5 µg/ml), senósidos (1 % p/v), simeticona (10 % p/v), ácido esteárico/grasa fecal (40 % p/v), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS® (50 µg/ml), orina humana (5 % v/v) y vancomicina (0,25 % p/v).

PRECISIÓN INTRAANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento intraanalítico se procesaron 8 muestras fecales con la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™*. Se analizaron 2 muestras negativas, 2 muestras con negativo alto, 2 muestras con positivo bajo y 2 muestras moderadamente positivas. Cada muestra se analizó 5 veces en total, utilizando 2 lotes de kit diferentes. Las muestras positivas tuvieron siempre un resultado positivo y las muestras negativas y muy negativas dieron siempre un resultado negativo. No se observó ninguna diferencia entre los resultados obtenidos con la longitud de onda simple, la longitud de onda doble y la lectura visual. Se registró una concordancia del 100 % entre los 2 lotes del kit.

PRECISIÓN INTERANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento intraanalítico se procesaron 8 muestras fecales con la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™*. Se analizaron 2 muestras negativas, 2 muestras con negativo alto, 2 muestras con positivo bajo y 2 muestras moderadamente positivas. Las muestras se analizaron dos veces al día, por parte de varios técnicos, durante un período de 12 días, usando 2 lotes de kit diferentes. Todas las muestras positivas seguían siendo positivas y todas las muestras negativas seguían siendo negativas. La interpretación visual de los resultados presentó una correlación del 100 % con la interpretación espectrofotométrica. Ambos lotes del kit presentaron una correlación del 100 %.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica de la prueba se determinó utilizando cultivos de microorganismos completos de *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* en una matriz de muestras. La concentración de microorganismos de *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* en matriz fecal a la que las muestras son positivas en la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK™* coincide con el límite de detección del ensayo (LdD) el 95 % de las veces.

El límite de detección (LdD) de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™ con muestras fecales sin tratar se estableció en $2,10 \times 10^5$ UFC/ml (4203 UFC/prueba) para *C. jejuni*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en $8,06 \times 10^5$ UFC/ml (10 072 UFC/prueba) para *C. jejuni*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ C&S, el LdD se estableció en $5,09 \times 10^5$ UFC/ml (6357 UFC/prueba) para *C. jejuni*. Los límites de detección son equivalentes en las lecturas con longitud de onda simple y doble.

El límite de detección (LdD) de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™ con muestras fecales sin tratar se estableció en $1,57 \times 10^6$ UFC/ml (31 324 UFC/prueba) para *C. coli*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en $3,77 \times 10^6$ UFC/ml (47 077 UFC/prueba) para *C. coli*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ C&S, el LdD se estableció en $5,36 \times 10^6$ UFC/ml (66 974 UFC/prueba) para *C. coli*. Los límites de detección son equivalentes en las lecturas con longitud de onda simple y doble.

El límite de detección (LdD) de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™ con muestras fecales sin tratar se estableció en $4,60 \times 10^5$ UFC/ml (9200 UFC/prueba) para *C. lari*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en $1,09 \times 10^6$ UFC/ml (13625 UFC/prueba) para *C. lari*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ C&S, el LdD se estableció en $1,18 \times 10^6$ UFC/ml (14750 UFC/prueba) para *C. lari*. Los límites de detección son equivalentes en las lecturas con longitud de onda simple y doble.

El límite de detección (LdD) de la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™ con muestras fecales sin tratar se estableció en $4,65 \times 10^5$ UFC/ml (9300 UFC/prueba) para *C. upsaliensis*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en $1,02 \times 10^6$ UFC/ml (12750 UFC/prueba) para *C. upsaliensis*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ C&S, el LdD se estableció en $1,02 \times 10^6$ UFC/ml (12750 UFC/prueba) para *C. upsaliensis*. Los límites de detección son equivalentes en las lecturas con longitud de onda simple y doble.

PROZONA

Para asegurar que una concentración elevada de antígeno de *Campylobacter* no interfiere con una reacción positiva en la prueba *CAMPYLOBACTER CHEK*™, se prepararon muestras con positivo alto enriqueciendo una mezcla fecal negativa hasta una concentración observable en las muestras clínicas. Se prepararon y se analizaron por triplicado un total de 5 diluciones distintas de un cultivo de microorganismos completos de *C. jejuni* y *C. coli*, cuyas concentraciones ascendían hasta alcanzar la elevada concentración que se observa clínicamente (está incluida). Los resultados indican que no hubo efecto prozona global; un nivel elevado de antígeno no afectó a su detección.

For Informational Use Only

CAMPYLOBACTER CHEK™ - DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Der **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test ist ein Enzymimmunoassay für den qualitativen Nachweis eines *Campylobacter*-spezifischen Antigens in menschlichen Stuhlproben. Der **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test dient zum Nachweis von *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* und *C. upsaliensis* bei Patienten mit Anzeichen und Symptomen einer Gastroenteritis. Der Test ist zur Verwendung mit in Transportmedien konservierten Stuhlproben und nicht konservierten Stuhlproben vorgesehen. Die Testergebnisse sind zusammen mit den klinischen Befunden und der Patientenanamnese zu betrachten.

Achtung: Gemäß US-Bundesgesetz ist der Verkauf dieses Produkts an Ärzte bzw. auf Anordnung eines Arztes beschränkt

ERKLÄRUNG

Die Gattung *Campylobacter* ist die weltweit häufigste Ursache für bakterielle Gastroenteritis. Jedes Jahr werden 400-500 Millionen Fälle einer Diarrhoe verzeichnet (1). Kleinkinder in Entwicklungsländern sind besonders gefährdet, ebenso Reisende in diesen Ländern (2). Schätzungen gehen davon aus, dass jährlich nahezu eine Million Menschen in den USA von einer *Campylobacter*-assoziierten Gastroenteritis betroffen sind (3). In ca. 1 von 1000 Fällen geht *Campylobacter jejuni* mit dem nachfolgenden Auftreten des Guillain-Barré-Syndroms einher, einer akuten Autoimmunparalyse (4). Eine *C. jejuni*-Infektion wird auch mit reaktiver Arthritis bei Kindern und Erwachsenen assoziiert (4, 5). Wenn Personen mit schweren Symptomen einer Gastroenteritis einen Arzt aufsuchen, ist dieser mit einer Vielzahl möglicher Ursachen konfrontiert, die sehr ähnliche klinische Manifestationen aufweisen (z. B. Diarrhoe, Übelkeit, Erbrechen, Fieber, Bauchschmerzen), jedoch ganz unterschiedlich behandelt werden müssen (4).

Der derzeitige Standard zur Identifizierung von *Campylobacter* ist Bakterienkultur mit anschließender mikroskopischer Untersuchung der Organismen (6). Auch wenn diese herkömmliche Methode einfach durchzuführen ist, weist sie zwei wesentliche Einschränkungen auf. Erstens handelt es sich bei den pathogenen *Campylobacter*-Stämmen um mikroaerophile bzw. streng anaerobe Spezies, sodass die Exposition von Kultur bzw. Stuhlproben gegenüber Umgebungssauerstoff zum Absterben bzw. zur Inaktivierung der Bakterien führt (7, 8). Daher kann sich während des Transports bzw. der Lagerung von Proben unter aeroben Bedingungen die Anzahl der lebensfähigen Organismen verringern, was möglicherweise zu ungenauen Kulturergebnissen führt (9). Zweitens wachsen *Campylobacter*-Stämme langsam und benötigen 48 bis 72 Stunden, bevor die Kultur sicher als negativ berichtet werden kann. Eine derartige Verzögerung kann den Arzt in ein Handlungsdilemma bringen und der Patient erhält eine unspezifische, unwirksame oder sogar ungeeignete Behandlung.

Der **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test ermöglicht den Nachweis von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli*, den beiden Spezies, die am häufigsten mit Erkrankungen beim Menschen in Verbindung gebracht werden. Zudem ist die Lebensfähigkeit der Bakterien nicht ausschlaggebend für den **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test und er kann auf dem Arbeitstisch mit Proben durchgeführt werden, die der Luft ausgesetzt wurden.

TESTPRINZIP

Der **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test stützt sich auf Antikörper, die ein *Campylobacter*-spezifisches Antigen erkennen. Die *Mikrotiterplatte* des Kits enthält immobilisierte monoklonale Fänger-Antikörper gegen ein *Campylobacter*-Antigen. Das *Konjugat* besteht aus an Meerrettich-Peroxidase gebundenen polyklonalen Antikörpern gegen ein *Campylobacter*-spezifisches Antigen. Bei dem Test wird ein Aliquot einer verdünnten Stuhlprobe in eine Kavität der Mikrotiterplatte mit *Konjugat* übertragen. Ist das Antigen in der Probe vorhanden, bindet es während der Inkubationsphase an das *Konjugat* und den immobilisierten Fänger-Antikörper. Nicht gebundenes Material wird während

der Waschschrirte entfernt. Nach der Zugabe von *Substrat* wird aufgrund der Enzym-Antikörper-Antigen-Komplexe, die sich in Gegenwart von Antigen gebildet haben, eine Färbung nachgewiesen.

PACKUNGSIÑHALT

MA	PLT	Mikrotiterplatte – 12 Streifen mit je 8 Vertiefungen, die mit monoklonalem Antikörper gegen ein <i>Campylobacter</i> -spezifisches Antigen beschichtet sind (mit Trockenmittel gelagert)	
CONJ	ENZ	Konjugat (7 mL) – Antikörper gegen ein <i>Campylobacter</i> -spezifisches Antigen, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,05 % ProClin® 300 Signalwort: Warnung – 0,05 % ProClin® 300 H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501	
DIL	SPE	Verdünnungspuffer (40 mL) – Gepufferte Proteinlösung mit 0,05 % ProClin® 300*. Der <i>Verdünnungspuffer</i> wird auch als negative Kontrolllösung verwendet (siehe TESTVERFAHREN). Signalwort: Warnung – 0,05 % ProClin® 300 H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501	
CONTROL	+	Positive Kontrolle (3,5 mL) – <i>Campylobacter</i> -spezifisches Antigen in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,05 % ProClin® 300 Signalwort: Warnung – 0,05 % ProClin® 300 H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501	
H ₂ SO ₄	0,6N	Stopplösung, (7 mL) – 0,6 N Schwefelsäure. VORSICHT: Kontakt mit der Haut vermeiden; im Fall eines Hautkontakts sofort mit Wasser abspülen Signalwort: Gefahr H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501	
SUBS	REAG	Substrat (14 mL) – Lösung aus Tetramethylbenzidin und Peroxid	
WASHBUF	20X	Waschpufferkonzentrat (50 mL) – 20 faches Konzentrat mit phosphatgepufferten Kochsalzlösung, Detergens und 0,2 % Thimerosal Signalwort: Warnung H373: Kann bei längerer oder wiederholter Exposition die Organe schädigen H411: Giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung. P260, P273, P314, P391, P501	
		Enthält Quecksilber	 

ZUBEHÖR

100 *Einweg-Transferpipetten aus Kunststoff*
1 Waschlösungsetikett

2 Kunststoffklebefolien
50 *Applikatorstäbchen aus Holz*

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT ENTHALTEN)

Spritzflasche für das Waschreagens

Vortex-Schüttler

Timer

Abfallbehälter

Handschuhe

Saugpapier

950 mL destilliertes Wasser zur Verdünnung des Waschreagens

ELISA-Plattenreader für eine Wellenlänge von 450 nm, 450/620 oder 450/630 nm

Reagenzröhrchen zur Stuhlprobenverdünnung (z. B. Mikrozentrifugenröhrchen)

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum dieses Testkits ist auf dem Packungsetikett angegeben. Das Verfallsdatum für die einzelnen Bestandteile ist auf den jeweiligen Etiketten angegeben. Das Kit muss zwischen 2 °C und 8 °C gelagert und nach dem Gebrauch so schnell wie möglich wieder in den Kühlschrank gegeben werden.

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Verschreibungspflichtig
2. *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.
3. Sämtliche Bestandteile des Kits müssen auf Anzeichen für Undichtigkeit untersucht werden. Bei Erhalt muss das Kit darauf untersucht werden, dass die Komponenten nicht wegen unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind.
4. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen. Verwenden Sie das Testkit nicht nach dem angegebenen Verfallsdatum.
5. Lassen Sie alle Bestandteile VOR DER VERWENDUNG RAUMTEMPERATUR annehmen!
6. Reagenzien nicht einfrieren. Das Kit muss zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.
7. Verschlüsse und Spitzen sind farbkodiert; NICHT vertauschen!
8. Achten Sie bei der Handhabung der Kavitäten darauf, diese nicht zu verkratzen, da dies zu ungenauen Absorptionsmesswerten führen kann.
9. Ungebrauchte Kavitäten der Mikrotiterplatte müssen mit Trockenmittel zurück in den wiederverschließbaren Beutel gegeben werden, damit sie vor Feuchtigkeit geschützt sind.
10. Halten Sie die Reagenzflaschen bei der Reagenzienabgabe senkrecht, um eine angemessene Tropfengröße und korrekte Menge sicherzustellen.
11. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien kann die Genauigkeit des Tests beeinträchtigen. Vermeiden Sie mikrobielle Kontaminationen der Reagenzien durch Verwendung steriler Einweg-Pipetten für die Reagenzienentnahme aus den Flaschen.
12. Mit Ausnahme des *Waschpufferkonzentrats* werden alle Reagenzien in gebrauchsfertigen Flaschen geliefert. Die Reagenzien können direkt aus den Tropfflaschen dispensiert oder für Mehrkanalpipetten dekantiert werden. Wenn überschüssiges Reagens dekantiert wird, muss der Überschuss entsorgt werden. Nicht zurück in die Flasche gießen. Das *Substrat* muss in der lichtgeschützten Flasche, in der es geliefert wurde, gelagert und direkt aus dieser verwendet werden. Wenn aus der Originalflasche aus irgendeinem Grund ein Aliquot entnommen wurde, darf nicht verwendetes *Substrat* nicht wieder zurück in die Originalflasche gegeben werden. Das *Substrat* ist lichtempfindlich und muss vor direktem Sonnenlicht und UV-Quellen geschützt werden.
13. Führen Sie das Waschverfahren nach Anweisung durch, um starke Hintergrundreaktionen zu vermeiden.
14. Der Test wurde hinsichtlich seiner Sensitivität und Spezifität optimiert. Halten Sie sich genau an die Anweisungen. Abweichungen vom angegebenen Verfahren und/oder Änderungen der Testbedingungen können die Sensitivität und Spezifität des Tests beeinflussen.
15. Stuhlproben können potenzielle Infektionserreger enthalten und sind, wie im CDC/NIH-Handbuch „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ (Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Labors) empfohlen, nach „Biosicherheitsstufe 2“ zu handhaben.
16. Behandeln Sie die Proben und gebrauchten Kavitäten als infektiöses Material. Proben bzw. gebrauchte Kavitäten nicht über den Mülleimer entsorgen. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
17. Das *Konjugat*, der *Verdünnungspuffer* und der *Waschpuffer* enthalten 0,05% ProClin® 300 als Konservierungstoff. Auch wenn die Konzentration gering ist, ist ProClin® 300 als schädlich bekannt (Hautsensibilisierung kann auftreten). Bei Hautsensibilisierung/-reizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den Kundendienst.

18. Das 20-fache *Waschpufferkonzentrat* enthält 0,2 % Thimerosal als Konservierungsstoff. Sobald sie auf normale Gebrauchskonzentration verdünnt ist, wird diese Lösung als ungefährlich eingestuft. Die *Stopplösung* enthält 0,6N Schwefelsäure. Bei Kontakt sofort mit Wasser abspülen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den Kundendienst.
19. Befolgen Sie alle geltenden nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung. Nicht zum Hausmüll geben, als gefährlichen Abfall entsorgen.

VORBEREITUNGEN

1. **Vor der Verwendung müssen alle Reagenzien Raumtemperatur angenommen haben.**
2. **Bereiten Sie die einfach konzentrierte (1x) Waschlösung zu.** Das *Waschpufferkonzentrat* wird als 20-faches Konzentrat geliefert (möglicherweise ist ein Präzipitat sichtbar). Verdünnen Sie es auf ein Gesamtvolumen von 1 Liter, indem Sie 50 mL Konzentrat 950 mL destilliertem Wasser hinzufügen. Beschriften Sie die Flasche. Lagern Sie nicht gebrauchte 1x-*Waschlösung* bis zum Verfalldatum des Kits zwischen 2 °C und 8 °C.
3. **Vorbereitung der Teststreifen** Jeder Streifen enthält 8 Kavitäten, die mit spezifischen Antikörpern gegen *Campylobacter*-Antigenen beschichtet sind. Für jede Probe bzw. Kontrolle ist eine dieser beschichteten Kavitäten erforderlich. Legen Sie die Anzahl der zu verwendenden Kavitäten fest. Vermeiden Sie eine Berührung des Bodens der Kavitäten. Nicht verwendete Kavitäten müssen zurück in den Folienbeutel gegeben und mit Trockenmittel gut verschlossen werden.

ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG VON STUHLPROBEN

Akzeptabler Probenotyp	Nicht verwenden
Frische Stuhlproben	Stuhlproben in Fixiermittel auf Formalinbasis (z. B. Natriumacetat-Formalin, Formalin 10 %)
Gefrorene Stuhlproben	Stuhlproben in Fixiermittel auf Alkoholbasis (z. B. Polyvinylalkohol)
Proben in Transportmedien (C&S, Cary Blair)	Konzentrierte Stuhlproben

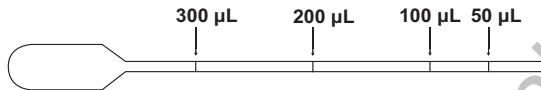
Lagerungsbedingungen	Empfohlene Lagerungszeit
Frische Proben bei Lagerung zwischen 2°C und 8°C	96 Stunden
Proben in Cary Blair Medien bei Lagerung zwischen 20°C und 30°C	96 Stunden
Proben in C&S Medien bei Lagerung zwischen 20°C und 30°C	96 Stunden

1. Die üblichen Methoden zur Entnahme und Handhabung von Stuhlproben sind geeignet. Für die Entnahme der frischen Stuhlproben sind saubere, dichte Behälter zu verwenden. Die Proben müssen zwischen 2° und 8 °C gelagert und innerhalb von 96 Stunden nach der Entnahme getestet werden. Proben, die nicht innerhalb

dieses Zeitraums getestet werden können, sind bei $\leq -10\text{ °C}$ zu lagern. Eingefrorene Stuhlproben können bis zu 5 Mal aufgetaut werden. Gefrorene Proben bei Raumtemperatur auftauen.

2. Proben in Transportmedien können bis zu 96 Stunden zwischen 20 °C und 30 °C gelagert werden.
3. Stuhlproben sollten NICHT im *Verdünnungspuffer* gelagert werden.
4. Verwenden Sie für jede Stuhlprobe ein eigenes Reagenzglas und kennzeichnen Sie es.
5. **Geben Sie 200 μL *Verdünnungspuffer* in jedes Reagenzglas für nicht konservierte Proben. Bei Proben in Cary Blair oder C&S Transportmedien geben Sie 100 μL *Verdünnungspuffer* in jedes Reagenzglas.**
6. Sie benötigen 1 Einweg-Kunststofftransferpipette (im Lieferumfang enthalten) für jede Probe.

Transferpipette



7. **Mischen Sie alle Proben unabhängig von ihrer Konsistenz gründlich durch – eine gleichmäßige Suspension der Proben vor dem Übertragen ist unbedingt erforderlich. Frische bzw. gefrorene/aufgetaute Proben** – Geben Sie mithilfe der Einweg-Kunststofftransferpipette 50 μL (1. Markierung) Stuhlprobe in das Reagenzglas mit dem *Verdünnungspuffer* und mischen Sie gut. Wenn die Probe nicht pipettiert werden kann, übertragen Sie etwa 0,05 g Stuhl mit einem Applikatorstäbchen. Dies entspricht etwa der Größe eines gekochten Reiskornes (Durchmesser ca. 2 mm). **Proben in Cary Blair oder C&S Transportmedien** – Geben Sie 100 μL (2. Markierung) Stuhlprobe in das Reagenzglas mit dem *Verdünnungspuffer* und mischen Sie gut.
8. Verschließen Sie alle Reagenzgläser mit den verdünnten Proben, und mischen Sie gründlich. Gründliches Mischen erzielen Sie durch Vortexen für 5 – 20 Sekunden.
9. Bei Verwendung halbautomatischer oder automatischer Waschgeräte müssen die verdünnten Proben zur Entfernung von Partikeln aus dem Überstand vor dem Übertragen in die Kavitäten zentrifugiert werden ($5000 \times g$ – 10 Minuten).

TESTVERFAHREN

1. Lassen Sie alle Reagenzien und die erforderliche Anzahl von Teststreifen vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen.
2. **Geben Sie 1 Tropfen (50 μL) *Konjugat* (roter Verschluss) in jede Kavität.** Mischen Sie das *Konjugat* vorsichtig, indem Sie die Flasche mehrmals umdrehen. Achten Sie darauf, dabei jede Flasche senkrecht zu halten. Verwenden Sie 1 Vertiefung je Stuhlprobe, 1 Vertiefung für die *Positive Kontrolle* und 1 Vertiefung für die negative Kontrolle. Die Kavitäten können zur Identifizierung direkt auf der Seite beschriftet werden.
3. **Übertragen Sie mithilfe einer Transferpipette 100 μL verdünnte Probe (oder Überstand aus der zentrifugierten verdünnten Probe bei Verwendung eines Waschautomaten) in die Testkavität.** Geben Sie 1 Tropfen (50 μL) der *Positiven Kontrolle* (schwarzer Verschluss) in die für die positive Kontrolle vorgesehene Kavität sowie 100 μL *Verdünnungspuffer* (negative Kontrolle) in die für die negative Kontrolle vorgesehene Kavität. Klopfen Sie zum Mischen gegen die Plattenseiten.
4. Schneiden Sie die Kunststoffklebefolie so zurecht, dass sie die Kavitäten abdeckt.
5. **Decken Sie die Kavitäten ab und inkubieren Sie sie bei $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ für 50 Minuten.**
6. **Schütteln Sie den Inhalt der Testkavitäten in eine Abfallschale aus.**
7. **Spülen Sie jede Kavität mit der 1x *Waschlösung* aus einer Spritzflasche mit feiner Düse,** indem Sie den Strahl der *Waschlösung* jeweils kräftig auf den Boden der Kavität richten. Füllen Sie die Kavitäten und schütteln Sie die *Waschlösung* aus der Kavität in eine Abfallschale aus. Klopfen Sie die umgedrehte Platte auf einem trockenen Papiertuch aus.

Hinweis: Bei Verwendung eines halbautomatischen bzw. automatischen Waschgeräts geben Sie 350 μL 1x *Waschlösung* in jede Kavität. Insgesamt fünf Mal waschen.

7. Wiederholen Sie Schritt 6 vier Mal, und verwenden Sie dabei jedes Mal ein trockenes Papiertuch. Wenn in den Kavitäten Partikel sichtbar sind, fahren Sie mit dem Waschen fort, bis alle Partikel beseitigt sind.
8. Entfernen Sie nach dem Waschen sämtliche Flüssigkeitsreste aus den Kavitäten, indem Sie die Platte auf einem trockenen Papiertuch ausklopfen, bis keine Flüssigkeit mehr austritt. Entsorgen Sie die Papiertücher und Probenbehälter ordnungsgemäß. Wischen Sie die Unterseite einer jeden Kavität trocken.
9. **Geben Sie 2 Tropfen (100 µL) Substrat (blauer Verschluss) in jede Kavität.** Klopfen Sie zum Mischen des *Substrats* sanft gegen die Kavitäten. Inkubieren Sie die Kavitäten 10 Minuten lang bei Raumtemperatur. Klopfen Sie nach 5 Minuten sanft gegen die Kavitäten.
10. **Geben Sie 1 Tropfen (50 µL) Stopplösung (gelber Verschluss) in jede Kavität.** Klopfen Sie sanft gegen die Kavitäten und warten Sie 2 Minuten bis zum Ablesen. Durch Zugabe der *Stopplösung* wandelt sich die blaue Färbung des *Substrats* in eine gelbe Färbung um. Dieser Effekt kann quantifiziert werden, indem die optische Dichte bei 450 nm mit einem ELISA-Plattenreader gemessen wird. Für das Instrument muss der Leerwert gegen Luft ermittelt werden. Wenn Sie einen Reader für zwei Wellenlängen benutzen, messen Sie den Leerwert bei 620 bzw. 630 nm und lesen Sie bei 450 nm ab. Wischen Sie vor der Messung der optischen Dichte die Unterseite jeder Kavität ab. Sollte kein ELISA-Reader verfügbar sein, kann das Testergebnis bei guten Lichtverhältnissen vor einem weißen Hintergrund visuell abgelesen werden. Lesen Sie innerhalb von zehn Minuten nach Zugabe der *Stopplösung* ab.

QUALITÄTSKONTROLLE

1. Bei jeder Testprobenserie müssen eine positive und eine negative Kontrolle mitgetestet werden. Die positiven Kontrollen zeigen, dass der Test für den Nachweis von *Campylobacter*-Antigen in Stuhlproben ordnungsgemäß funktioniert. Die negative Kontrolle zeigt, dass der Test nicht unspezifisch reagiert.
2. Die positiven und negativen Kontrollen müssen in ihrem jeweiligen Bereich (siehe unten) liegen, andernfalls sind die Testergebnisse ungültig. Wenden Sie sich an den technischen Kundendienst, wenn Sie diese Ergebnisse nicht erzielen.
 - a) **Die positive Kontrolle muss eine sichtbare gelbe Färbung aufweisen.** Wenn mit einem Spektrophotometer abgelesen wird, muss die optische Dichte bei 450 bzw. 450/620 oder 450/630 $\geq 0,500$ sein. Kavitäten, die einen positiven Messwert, aber keine sichtbare Färbung ergeben, müssen neu positioniert, an der Unterseite abgewischt und nochmals abgelesen werden.
 - b) **Die negative Kontrolle muss optisch farblos sein.** Wenn mit einem Spektrophotometer abgelesen wird, muss die optische Dichte bei 450 $< 0,120$ sein. Wenn bei 450/620 bzw. 450/630 abgelesen wird, muss die Absorption $< 0,080$ sein. Andernfalls ist der Test ungültig und muss unter besonderer Beachtung des Waschverfahrens wiederholt werden.
3. Visuelles Ablesen muss bei gutem Licht gegen einen weißen Hintergrund durchgeführt werden.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

	Spektrophotometrische Messwerte	
	Bei einer Wellenlänge von 450 nm	Bei zwei Wellenlängen von 450/620 nm bzw. 450/630 nm
Negative Proben	OD $< 0,120$	OD $< 0,080$
Positive Proben	OD $\geq 0,120$	OD $\geq 0,080$

Visuelle Auswertung

Die negative Kontrolle sollte keine oder nur eine schwache Gelbfärbung aufweisen (weniger als die 1+ Gelbfärbung nach dem im Kit enthaltenen Leitfaden für die visuelle Auswertung). Die Kavität der positiven Kontrolle muss eine sichtbare gelbe Färbung aufweisen. Wenden Sie sich an den technischen Kundendienst, wenn Sie diese Ergebnisse nicht erzielen. Eine Testprobe gilt als positiv, wenn sie eine sichtbare gelbe Färbung im Vergleich zur Kavität der negativen Kontrolle aufweist. Sie kann eine schwächere oder eine intensivere gelbe Färbung als jene in der Kavität der positiven Kontrolle haben. Eine Testprobe gilt als negativ, wenn die Reaktion keine Färbung oder eine geringere Gelbfärbung als die negative Kontrolle aufweist.

Ein positives Testergebnis weist darauf hin, dass *Campylobacter*-Antigen in der Probe vorhanden ist. Ein negatives Ergebnis weist darauf hin, dass kein *Campylobacter*-Antigen vorhanden ist bzw. die Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests liegt.

Grenzen des Verfahrens

1. Der *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test dient zum Nachweis eines *Campylobacter*-spezifischen Antigens in menschlichen Stuhlproben. Der Test bestätigt das Vorhandensein von Antigen im Stuhl. Diese Information muss vom Arzt unter Berücksichtigung der Patientenanamnese und einer körperlichen Untersuchung des Patienten interpretiert werden.
2. Negative Ergebnisse sollten das Vorhandensein von *Campylobacter*-Spezies bei verdächtigen Patienten nicht definitiv ausschließen. Es könnten Konzentrationen des Organismus unter der Nachweisgrenze des *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Tests vorhanden sein. Bei Verdacht auf *Campylobacter* sollten daher alternative Tests durchgeführt werden.
3. Optimale Ergebnisse werden beim *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test mit Proben erzielt, die weniger als 96 Stunden alt sind. Wenn die Proben nicht innerhalb dieses Zeitraums getestet werden, können sie eingefroren werden.
4. Der *CAMPYLOBACTER CHEK*™ wurde nur mit frischen Stuhlproben sowie in Cary Blair Medien oder C&S Medien gelagerten Stuhlproben evaluiert. Die Testleistung wurde nicht mit Stuhlproben, die in anderen Transportmedien (z. B. Formalin, Polyvinylalkohol) gelagert wurden, evaluiert. Daher sollten derartige Proben nicht verwendet werden.
5. Der *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test ist qualitativ. Die Farbtintensität darf nicht quantitativ interpretiert werden.
6. Es liegen keine Daten zur Wirkung von Darmspülungen, Bariumeinläufen, Laxativen oder Darmpräparationen auf die Leistung des *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Tests vor. Alle diese Verfahren können zu einer signifikanten Verdünnung oder dem Vorhandensein von Zusatzstoffen führen, die sich auf die Testleistung auswirken.
7. Ist die übertragene Probenmenge zu gering oder wird die Probe im *Verdünnungspuffer* nicht ausreichend gemischt und vollständig suspendiert, kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen.

ERWARTUNGSWERTE

Der *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test weist ein *Campylobacter*-spezifisches Antigen in menschlichen Stuhlproben nach. Jedes Labor sollte eigene Erwartungswerte für eine bestimmte Population festlegen. Diese hängen von den örtlichen Verfahren der Lebensmittelsicherheit, Wasseraufbereitung, dem Land und der Jahreszeit ab (10). FoodNet, das US-amerikanische Netzwerk zur Überwachung von lebensmittelbedingten Erkrankungen, berichtete von einer jährlichen *Campylobacter*-Infektionsinzidenz von 13,45 pro 100.000 Personen zwischen 1996 und 2012 (11). Weltweite Inzidenzraten können über 400 pro 100.000 Personen liegen (12, 13). Die berichtete jährliche Inzidenzrate bei Stuhlproben, die für Tests eingesandt wurden, liegt bei 1-2 % (14, 15). Höhere Inzidenzraten (bis zu 7 %) werden in den Sommermonaten und bei Kindern im Vorschulalter beobachtet (10, 15).

LEISTUNGSDATEN

Prospektive Studie

Die Leistung des *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Tests wurde an 4 unabhängigen Standorten beurteilt. Prospektive eingehende Stuhlproben wurden mittels Kultur und dem *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test getestet. Die folgende Tabelle gibt eine Gesamtübersicht über die klinische Leistung des *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Tests an den 4 Standorten. Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass der *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test eine Sensitivität von 91,4 % und eine Spezifität von 99,1 % bei der Kultur aufweist.

Alters- und Geschlechtsverteilung

Daten zum Alter waren für 1552 Patienten verfügbar. Die Altersspanne reichte von unter 1 Jahr bis 100 Jahre. Von den 1552 Patienten waren 15,7% im Alter von ≤ 18 Jahren. Das Geschlechterverhältnis betrug 38,7 % Frauen und 61,3 % Männer. Es wurden keine Unterschiede bei der Testleistung hinsichtlich des Patientenalters oder Geschlechts beobachtet.

CAMPYLOBACTER CHEK™ Test im Vgl. zu Kultur

N = 1552	Kultur positiv	Kultur negativ
<i>CAMPYLOBACTER CHEK</i>™ Positiv	32	14*
<i>CAMPYLOBACTER CHEK</i>™ Negativ	3**	1503

	95%-Konfidenzgrenzen	
Sensitivität	91,4%	77,6% - 97,0%
Spezifität	99,1%	98,5% - 99,5%

Die 17 abweichenden Proben wurden anhand von zusätzlichen Tests bei TECHLAB weiter charakterisiert. Zu diesen Tests gehörten ein von der FDA zugelassener handelsüblicher EIA, ein von der FDA zugelassener handelsüblicher Molekultartest, interne PCR (Nachweis des 16s rRNA-Gens der *Campylobacter* spp. und speziesspezifische Identifizierung) sowie bidirektionale Sequenzierung.

* Acht der 14 Proben, die bei der Kultur negativ und beim *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test positiv waren, wurden in allen Tests als positiv bestätigt.

Zwei der 14 Proben, die bei der Kultur negativ und beim *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test positiv waren, wurden im handelsüblichen EIA, der internen PCR sowie bidirektionalen Sequenzierung als positiv bestätigt.

Vier Proben, die bei der Kultur negativ und beim *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test positiv waren, wurden als positiv für *C. upsaliensis* mittels speziesspezifischer PCR und Sequenzierung bestätigt.

** Eine der drei Proben, die bei der Kultur positiv und beim *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test negativ war, wurde in allen Tests als negativ bestätigt.

Retrospektive Studie

Mit 30 retrospektiven positiven Proben wurden ergänzende Tests durchgeführt. Die Altersspanne der Patienten reichte von unter 11 Monaten bis 74 Jahre. Alle retrospektiven Proben waren positiv für *Campylobacter* spp. mittels Kultur und wurden mit einem von der FDA zugelassenen handelsüblichen EIA, einem von der FDA zugelassenen handelsüblichen Molekultartest, interner PCR (Nachweis des 16s rRNA-Gens der *Campylobacter* spp. und speziesspezifische Identifizierung) sowie bidirektionaler Sequenzierung ebenfalls als positiv für *Campylobacter* spp. charakterisiert. Diese Proben wurden dann mit dem *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test getestet. Alle 30 Proben lieferten

bei allen Methoden ein positives Ergebnis für *Campylobacter* spp., was einer Korrelation von 100 % bei allen Testmethoden entspricht.

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Tests wurde anhand von 8 menschlichen Stuhlproben bestimmt, die zur Identifikationsverhinderung während des Tests kodiert wurden. Die Tests wurden in 2 unabhängigen Labors und intern bei TECHLAB, Inc durchgeführt. Die Proben wurden über einen Zeitraum von 5 Tagen zweimal täglich von mehreren Laborkräften an den einzelnen Standorten getestet. Es wurden jeweils 2 verschiedene Kitchargen verwendet. Mit jeder maskierten Probenreihe wurden eine positive und eine negative Kontrolle mitgetestet. Die Ergebnisse der einzelnen Labors wurden anschließend an TECHLAB, Inc. übermittelt und mit den internen Ergebnissen verglichen. Die Ergebnisse der verschiedenen Standorte waren durchgehend konsistent und ergaben eine Korrelation von 100 %. Die Proben lieferten zu 100 % die erwarteten Ergebnisse.

KREUZREAKTIVITÄT

Der *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test wurde auf Kreuzreaktivität mit den folgenden weit verbreiteten Darmorganismen und -viren geprüft. Keiner dieser Organismen bzw. keines dieser Viren zeigte eine Kreuzreaktivität mit dem *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test.

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Salmonella enterica typhimurium</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (nicht-toxigen)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (toxigen)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia hermannii</i>	
Adenovirus Type 1, 2, 3, 5, 40, 41	Humanes Coronavirus
Coxsackievirus B2, B3, B4, B5	Humanes Rotavirus
Echovirus 9, 11, 18, 22, 33	Norovirus
Enterovirus 68, 69, 70, 71	

Campylobacter-Spezies, die sich als reaktiv mit dem *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test erwiesen haben. *C. helveticus* (Stamm 54661) erwies sich als positiv bei $3,14 \times 10^6$ CFU/ mL ($2 \times \text{LoD}$ von *C. coli*).

INKLUSIVITÄTSSTUDIE

Die Spezifität des *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Tests wurde anhand verschiedener Stämme von *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* und *Campylobacter upsaliensis* evaluiert. Alle aufgelisteten Stämme ergaben bei den Tests positive Ergebnisse.

C. coli CCUG Stämme: 11283, 10956, 17755, 36994, 53138*

C. jejuni Subspezies *jejuni* CCUG Stämme: 11284, 6951, 12081, 29411, 38106

C. jejuni Subspezies *doylei* CCUG Stamm: 24567

C. lari Stämme: 2013/0823H, 2014/2772, 2015/0519, 2015/0814, 2015/1582, 2015/1657, 2015/2189, 2015/2983, 2016/0235, 2016/1130H

C. upsaliensis Stämme: 2016/0385, 2016/1931*, 2016/1950, 2016/2697, 2016/2826, 2017/0349, 2017/0506H**, 2017/2584, 2018/0319H, 2018/1669

*Stamm 53138 und Stamm 2016/1931 waren positiv bei 4 x LoD.

**Stamm 2017/0506H war positiv bei 5 x LoD.

Die *C. lari* und *C. upsaliensis* Stämme stammen aus dem Centre National de Reference des Campylobacters et Helicobacters - Universitätsklinikum Bordeaux.

STÖRSUBSTANZEN (US-FORMULIERUNGEN)

Die folgenden Substanzen hatten in den angegebenen Konzentrationen keinen Einfluss auf die positiven oder negativen Testergebnisse des *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Tests:

Bariumsulfat (5 % Gew./Vol.), Benzalkoniumchlorid (1 % Gew./Vol.), Ciprofloxacin (0,25 % Gew./Vol.), Ethanol (1 % Gew./Vol.), Mucin aus dem Schweinemagen (3,5 % Gew./Vol.), Humanblut (40 % Vol./Vol.), Hydrocortison (1 % Gew./Vol.), Imodium® (5 % Vol./Vol.), Kaopectate® (5 % Vol./Vol.), Leukozyten (0,05 % Gew./Vol.), Maalox® Advanced (5 % Vol./Vol.), Mesalazin (10 % Gew./Vol.), Metronidazol (0,25 % Gew./Vol.), Mineralöl (10 % Gew./Vol.), Mylanta® (4,2 mg/mL), Naproxen-Natrium (5 % Gew./Vol.), Nonoxynol-9 (1 % Gew./Vol.), Nystatin (1 % Gew./Vol.), Palmitinsäure/Stuhlfett (40 % Gew./Vol.), Pepto-Bismol® (5 % Vol./Vol.), Phenylephrin (1 % Gew./Vol.), Polyethylenglykol 3350 (10 % Gew./Vol.), Prilosec OTC® (5 µg/mL), Sennoside (1 % Gew./Vol.), Simeticon (10 % Gew./Vol.), Stearinsäure/Stuhlfett (40 % Gew./Vol.), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS® (50 µg/mL), Humanurin (5 % Vol./Vol.) und Vancomycin (0,25 % Gew./Vol.).

INTRA-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Intra-Assay-Präzision wurden 8 Stuhlproben mit dem *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test untersucht. Die Proben umfassten 2 negative Proben, 2 stark negative Proben, 2 schwach positive Proben und 2 mäßig positive Proben. Jede Probe wurde insgesamt 5 Mal anhand von zwei verschiedenen Kitchargen getestet. Alle positiven Proben lieferten durchgehend ein positives Ergebnis und alle negativen Proben durchgehend ein negatives Ergebnis. Es wurde kein Unterschied zwischen den Ergebnissen bei einer Wellenlänge, zwei Wellenlängen und den Ergebnissen der visuellen Ablesung festgestellt. Die Übereinstimmung zwischen den beiden Kitchargen betrug 100 %.

INTER-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Inter-Assay-Präzision wurden 8 Stuhlproben mit dem *CAMPYLOBACTER CHEK*™ Test untersucht. Die Proben umfassten 2 negative Proben, 2 stark negative Proben, 2 schwach positive Proben und 2 mäßig positive Proben. Die Proben wurden über einen Zeitraum von 12 Tagen 2 x täglich von mehreren Laborkräften mit 2 verschiedenen Kitchargen getestet. Alle positiven Proben blieben positiv und alle negativen Proben negativ. Die visuelle Auswertung der Ergebnisse ergab eine Korrelation von 100 % mit der spektrophotometrischen Auswertung. Beide Kitchargen wiesen eine Korrelation von 100 % auf.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die analytische Sensitivität des Tests wurde anhand von Kulturpräparaten aus *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, und *C. upsaliensis* Organismen in einer Probenmatrix bestimmt. Die

Konzentration an *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, und *C. upsaliensis* Organismen in Stuhlmatrix, bei der die Proben beim **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test in 95 % der Fälle positiv waren, ist die Nachweisgrenze (LoD) des Tests.

Die Nachweisgrenze (LoD) für den **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test mit frischen Stuhlproben wurde bei $2,10 \times 10^5$ CFU/mL (4203 CFU/Test) für *C. jejuni* festgelegt. Für Proben in Protocol™ Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei $8,06 \times 10^5$ CFU/mL (10072 CFU/Test) für *C. jejuni* festgelegt. Für Proben in Protocol™ C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei $5,09 \times 10^5$ CFU/mL (6357 CFU/Test) für *C. jejuni* festgelegt. Die Nachweisgrenzen sind gleich für Messwerte bei einer Wellenlänge und zwei Wellenlängen.

Die Nachweisgrenze (LoD) für den **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test mit frischen Stuhlproben wurde bei $1,57 \times 10^6$ CFU/mL (31324 CFU/Test) für *C. coli* festgelegt. Für Proben in Protocol™ Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei $3,77 \times 10^6$ CFU/mL (47077 CFU/Test) für *C. coli* festgelegt. Für Proben in Protocol™ C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei $5,36 \times 10^6$ CFU/mL (66974 CFU/Test) für *C. coli* festgelegt. Die Nachweisgrenzen sind gleich für Messwerte bei einer Wellenlänge und zwei Wellenlängen.

Die Nachweisgrenze (LoD) für den **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test mit frischen Stuhlproben wurde bei $4,60 \times 10^5$ CFU/mL (9200 CFU/Test) für *C. lari* festgelegt. Für Proben in Protocol™ Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei $1,09 \times 10^6$ CFU/mL (13625 CFU/Test) für *C. lari* festgelegt. Für Proben in Protocol™ C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei $1,18 \times 10^6$ CFU/mL (14750 CFU/Test) für *C. lari* festgelegt. Die Nachweisgrenzen sind gleich für Messwerte bei einer Wellenlänge und zwei Wellenlängen.

Die Nachweisgrenze (LoD) für den **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test mit frischen Stuhlproben wurde bei $4,65 \times 10^5$ CFU/mL (9300 CFU/Test) für *C. upsaliensis* festgelegt. Für Proben in Protocol™ Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei $1,02 \times 10^6$ CFU/mL (12750 CFU/Test) für *C. upsaliensis* festgelegt. Für Proben in Protocol™ C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei $1,02 \times 10^6$ CFU/mL (12750 CFU/Test) für *C. upsaliensis* festgelegt. Die Nachweisgrenzen sind gleich für Messwerte bei einer Wellenlänge und zwei Wellenlängen.

PROZONENEFFEKT

Um eine Interferenz hoher *Campylobacter*-Antigenkonzentrationen mit einer positiven Reaktion im **CAMPYLOBACTER CHEK™** Test auszuschließen, wurden Proben mit einer hohen Antigenkonzentration vorbereitet, indem ein negatives Probenpool mit einer potenziell bei klinischen Proben beobachteten Konzentration versetzt wurde. Insgesamt wurden 5 verschiedene Verdünnungen des Kulturpräparats aus *C. jejuni*- und *C. coli*-Organismen bis zur klinisch beobachteten Höchstkonzentration vorbereitet und in Dreifachbestimmung getestet. Die Ergebnisse zeigten, dass es zu keinem Prozoneneffekt kam und hohe Antigenkonzentrationen den Nachweis des Antigens nicht beeinträchtigten.

For Informational Use Only

CAMPYLOBACTER CHEK™ - FRANÇAIS

UTILISATION PRÉVUE

CAMPYLOBACTER CHEK™ est un immunodosage enzymatique pour une détection qualitative de l'antigène spécifique de *Campylobacter* dans les échantillons de selles humains. Le test **CAMPYLOBACTER CHEK™** est conçu pour détecter les bactéries *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, et *C. upsaliensis* chez les patients présentant des signes et des symptômes de gastroentérite. Le test est destiné à être utilisé avec des échantillons de selles préservés dans un milieu de transport et avec des échantillons de selles non préservés. Les résultats obtenus doivent être évalués en association avec les conclusions cliniques et le dossier médical du patient.

Attention : selon la loi fédérale des États-Unis, ce dispositif ne peut être vendu que par un médecin ou sur ordonnance.

EXPLICATION

Dans le monde entier, les bactéries du genre *Campylobacter* sont la cause la plus courante de gastroentérite bactérienne, avec 400 à 500 millions de cas de diarrhée chaque année (1). Les nourrissons dans les pays en développement sont particulièrement touchés, de même que les voyageurs se rendant dans ces régions (2). On estime que la gastroentérite liée à *Campylobacter* affecte près d'un million de personnes par an aux États-Unis (3). Dans près de 1 cas sur 1 000, la bactérie *Campylobacter jejuni* est étroitement associée au développement consécutif du syndrome de Guillain-Barré, une maladie auto-immune aiguë provoquant une paralysie (4). Les infections à *C. jejuni* sont également associées à des cas d'arthrite réactive chez l'enfant et l'adulte (4, 5). Quand les personnes présentant des symptômes graves de gastroentérite demandent un avis médical, les médecins doivent distinguer différentes causes possibles aux caractéristiques cliniques similaires (diarrhée, nausées, vomissements, fièvre, douleur abdominale...), mais qui nécessitent des traitements très différents et souvent opposés (4).

Pour *Campylobacter*, la procédure d'identification standard actuellement en vigueur se compose d'une culture bactérienne suivie d'un examen au microscope des organismes (6). Cette méthode traditionnelle est simple, mais elle présente deux grandes restrictions. Tout d'abord, les espèces pathogènes du genre *Campylobacter* sont microaérophiles ou strictement anaérobies, avec pour conséquence la mort ou la désactivation des bactéries en cas d'exposition de la culture ou des selles à l'oxygène environnemental (7, 8). Ainsi, pendant le transport ou le stockage d'échantillons dans des conditions aérobies, le nombre d'organismes viables peut diminuer et entraîner des résultats de culture potentiellement inexacts (9). Ensuite, les espèces du genre *Campylobacter* prolifèrent lentement, et un délai de 48 à 72 heures est nécessaire avant qu'une culture puisse être considérée comme clairement négative. Un tel délai peut s'avérer problématique pour le médecin et favoriser la prescription d'un traitement non spécifique, inefficace ou même inapproprié pour le patient.

Le test **CAMPYLOBACTER CHEK™** permet de détecter les espèces *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, qui sont les bactéries plus communément associées aux maladies chez l'homme. En outre, le test **CAMPYLOBACTER CHEK™** ne dépend pas de la viabilité bactérienne et peut être réalisé sur un plan de travail avec des échantillons exposés à l'air.

PRINCIPE DU TEST

Le test **CAMPYLOBACTER CHEK™** utilise des anticorps capables de reconnaître l'antigène spécifique à *Campylobacter*. La microplaque du kit contient des anticorps monoclonaux de capture immobilisés contre l'antigène spécifique de *Campylobacter*. Le *Conjugué* est composé d'anticorps polyclonaux contre l'antigène spécifique de *Campylobacter* conjugués à de la peroxydase de raifort. Lors de l'analyse, une quantité aliquote de selles diluées est introduite dans la microplaque contenant le *Conjugué*. Si l'antigène est présent dans l'échantillon, il se liera au *Conjugué* et aux anticorps de capture immobilisés lors de la phase d'incubation. Toute substance non liée est éliminée lors du

processus de lavage. L'adjonction du *Substrat* entraîne une modification de la coloration suite à la formation d'un complexe enzyme-anticorps-antigène en présence d'antigène.

MATÉRIEL FOURNI

MA	PLT	Micropaque – 12 bandes, chacune présentant 8 micropuits enduits d'anticorps monoclonaux contre l'antigène spécifique de <i>Campylobacter</i> (sous emballage contenant un produit dessiccant).	
CONJ	ENZ	Conjugué (7 mL) – Anticorps contre l'antigène spécifique de <i>Campylobacter</i> conjugués à de la peroxydase de raifort dans une solution tamponnée et protéinée contenant du ProClin® 300 à 0,05 %.	
		Mention d'avertissement : Avertissement – ProClin® 300 à 0,05 % H317 : Peut provoquer une allergie cutanée	
DIL	SPE	Diluant (40 mL) – Solution tamponnée et protéinée contenant du ProClin® 300 à 0,05 %. Le <i>Diluant</i> est également utilisé comme solution de contrôle négatif (voir PROCÉDURE DE TEST).	
		Mention d'avertissement : Avertissement – ProClin® 300 à 0,05 % H317 : Peut provoquer une allergie cutanée P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501	
CONTROL	+	Contrôle positif (3,5 mL) – Antigène spécifique de <i>Campylobacter</i> dans une solution tamponnée et protéinée contenant du ProClin® 300 à 0,05 %.	
		Mention d'avertissement : Avertissement – ProClin® 300 à 0,05 % H317 : Peut provoquer une allergie cutanée P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501	
H ₂ SO ₄	0.6N	Solution d'arrêt (7 mL) – 0,6 N d'acide sulfurique. ATTENTION : éviter tout contact avec la peau ou les yeux ; en cas de contact, rincer immédiatement avec de l'eau	
		Mention d'avertissement : Danger H314: Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501	
SUBS	REAG	Substrat (14 mL) – Solution contenant du tétraméthylbenzidine et du peroxyde	
WASHBUF	20X	Tampon de lavage concentré (50 mL) – Concentré à 20X contenant un tampon salin phosphaté, un détergent et 0,2 % de thimérosal	
		Mention d'avertissement : Avertissement H373: Peut endommager les organes en cas d'exposition prolongée ou répétée H411: Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.	
		P260, P273, P314, P391, P501	
		contient du mercure	 

ACCESSOIRES

100 pipettes de transfert en plastique jetables
1 étiquette de la solution de lavage

2 films adhésifs en plastique
50 écouvillons en bois

MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENTS NÉCESSAIRES, MAIS NON FOURNIS

Pulvérisateur pour le réactif de lavage

Agitateur vortex

Minuteur

Réceptacle à déchets

Gants

Papier absorbant

950 mL d'eau distillée pour diluer le réactif de lavage

Lecteur de plaque ELISA capable d'effectuer une lecture à 450 nm, 450/620 nm ou 450/630 nm

Petits tubes pour la dilution d'échantillons de selles (par exemple, des microtubes de centrifugation)

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date de péremption du kit est indiquée sur l'emballage. La date d'expiration de chaque composant est indiquée sur chaque étiquette. Le kit doit être stocké à une température comprise entre 2 et 8 °C et remis au réfrigérateur aussitôt que possible après utilisation.

PRÉCAUTIONS

1. Rx uniquement – Uniquement sur ordonnance
2. Pour une utilisation diagnostique *in vitro*. Uniquement à usage professionnel.
3. Contrôler tous les éléments du kit afin de vérifier l'absence de fuites. Examiner le kit dès réception afin de vérifier que les éléments ne sont ni glacés ni chauds au toucher suite à des conditions de transports inadéquates.
4. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés. Ne pas utiliser le kit si sa date de péremption est dépassée.
5. Placer tous les composants à TEMPÉRATURE AMBIANTE AVANT UTILISATION !
6. Ne pas congeler les réactifs. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.
7. Les capsules et les embouts sont classés par couleur. Il convient de NE PAS les mélanger ni les échanger !
8. Lors des manipulations, éviter d'érafler le fond des micropuits, toute dégradation pouvant entraîner un relevé d'absorbance inexact.
9. Les micropuits non utilisés doivent être placés dans l'emballage refermable contenant un agent de dessiccation pour les protéger de l'humidité.
10. Verser les réactifs en tenant les flacons à la verticale de façon à instiller une goutte de taille adéquate et des volumes corrects.
11. La contamination microbienne des réactifs peut réduire l'exactitude de l'analyse. Éviter la contamination microbienne des réactifs en utilisant des pipettes stériles jetables pour extraire les aliquots des flacons à réactifs.
12. Tous les réactifs, excepté le *Tampon de lavage concentré*, sont fournis dans des flacons prêts à l'emploi. Les réactifs peuvent être dispensés directement à l'aide des compte-gouttes ; ils peuvent également être transvasés puis dispensés à l'aide de pipettes multicanaux. Après transvasement, tout surplus de réactif devra être éliminé. Ne pas réintroduire dans le flacon original. Le *Substrat* doit être conservé dans son récipient opaque d'origine et extrait de ce récipient suivant les besoins. Après extraction, le *Substrat* inutilisé ne doit pas être réintroduit dans son récipient d'origine. Le *Substrat* est photosensible et ne doit pas être directement exposé à la lumière solaire ou à une source de rayons UV.
13. Le lavage doit être réalisé suivant les consignes indiquées afin d'éviter toute réaction hors essai.
14. Le test a été optimisé dans le sens de la sensibilité et de la spécificité. Procéder conformément à la procédure spécifiée. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test.
15. Les échantillons de selles peuvent contenir des agents potentiellement infectieux et doivent être manipulés selon le « Niveau de biosécurité 2 », comme le recommande le manuel du CDC/NIH, « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ».
16. Manipuler les échantillons et micropuits utilisés comme tout facteur potentiel de transmission d'agents infectieux. Ne pas jeter les échantillons et les micropuits utilisés avec les déchets ménagers. S'équiper de gants jetables pendant le test.
17. Les réactifs du *Conjugué*, *Diluant* et *Tampon de lavage* contiennent 0,05 % de ProClin® 300 comme conservateur. Même si la concentration est faible, le ProClin® 300 est connu pour sa nocivité (risque de sensibilisation de la peau). En cas de sensibilisation/irritation de la peau ou d'éruption cutanée, consulter un médecin. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique..

18. Le *Tampon de lavage concentré 20X* contient du thimérosal à 0,2 % comme conservateur. Une fois diluée à une concentration normale d'utilisation, cette solution est classée comme non dangereuse. La *Solution d'arrêt* contient 0,6N d'acide sulfurique. En cas de contact, rincer immédiatement à l'eau. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
19. Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets. Ne pas les jeter avec les déchets ménagers mais avec les matières dangereuses.

PRÉPARATIONS PRÉLIMINAIRES

1. **Tous les réactifs doivent se trouver à température ambiante avant application dans l'essai.**
2. **Préparer la *Solution de lavage 1X*.** Le *Tampon de lavage concentré* est fourni sous forme de concentré à 20X (un précipité peut être observé). Verser 50 mL de concentré dans 950 mL d'eau distillée pour obtenir un volume total de 1 L. Étiqueter la bouteille. Stocker toute *solution de lavage 1X* entre 2 °C et 8 °C jusqu'à la date de péremption du kit.
3. **Préparation de la bande d'essai.** Chaque bande contient 8 micropuits enduits d'anticorps spécifiques à l'antigène de *Campylobacter*. Chaque échantillon ou solution de contrôle nécessite l'un de ces micropuits enduits. Déterminer le nombre de micropuits à utiliser. Éviter tout contact avec la base des puits. Les puits inutilisés doivent être remis dans l'emballage et ce dernier doit être fermé hermétiquement avec l'agent de dessiccation.

PRÉLÈVEMENT, MANIPULATION ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES

Type d'échantillon acceptable	Ne pas utiliser
Échantillon de selles frais	Échantillons de selles fixés au formol (p. ex. formol à base d'acétate de sodium, formol à 10 %)
Échantillons de selles congelés	Échantillons de selles fixés à l'alcool (p. ex. alcool de polyvinyle)
Échantillons en milieu de transport (C&S, Cary Blair)	Échantillons de selles concentrés

Conditions de stockage	Durée de conservation recommandée
Échantillons frais stockés entre 2 °C et 8 °C	96 heures
Échantillons stockés dans un milieu Cary Blair entre 20 °C et 30 °C	96 heures
Échantillons stockés dans un milieu C&S entre 20 °C et 30 °C	96 heures

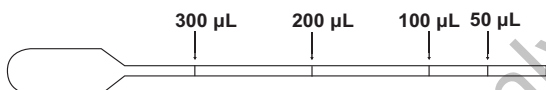
1. Les procédures standard utilisées sur place pour le prélèvement et la manipulation des échantillons de selles sont appropriées. Les échantillons de selles frais doivent être collectés dans des conteneurs propres et étanches, stockés à une température située entre 2 et 8 °C et testés dans les 96 heures suivant leur prélèvement. Les échantillons

ne pouvant pas être testés pendant cette période doivent être stockés à $\leq -10^{\circ}\text{C}$.

Les échantillons de selles congelés peuvent être décongelés jusqu'à 5 fois. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler à température ambiante.

2. Les échantillons dans un milieu de transport peuvent être stockés pendant une durée maximale de 96 heures entre 20°C et 30°C .
3. Le stockage des échantillons de selles dans le *Diluant* est déconseillé.
4. Préparer et étiqueter un tube à essai pour chaque échantillon si nécessaire.
5. **Dans le cas d'échantillons non conditionnés, ajouter 200 μL de *Diluant* dans chaque tube. Dans le cas d'échantillons conservés dans le milieu de transport Cary Blair ou C&S, ajouter 100 μL de *Diluant* dans chaque tube.**
6. Se munir d'une pipette de transfert en plastique jetable (fournie dans le kit) pour chaque échantillon.

Pipette de transfert



7. **Mélanger complètement tous les échantillons indépendamment de leur consistance. Les échantillons doivent tous être parfaitement mis en suspension avant échantillonnage.** Dans le cas d'échantillons frais ou congelés/décongelés, avec la pipette de transfert jetable en plastique, ajouter 50 μL (premier repère gradué) d'échantillon de selles dans le tube contenant le *Diluant*, puis bien mélanger. Si l'échantillon ne peut pas être transféré à l'aide d'une pipette, prélever environ 0,05 g de matière fécale à l'aide d'un écouvillon. Cette quantité équivaut plus ou moins à la taille d'un grain de riz cuit (environ 2 mm de diamètre). Dans le cas d'échantillons conservés dans le milieu de transport **Cary Blair** ou **C&S**, ajouter 100 μL (deuxième repère gradué) d'échantillon de selles dans le tube contenant le *Diluant*, puis bien mélanger.
8. Fermer chaque tube d'échantillon dilué et bien mélanger. Pour obtenir un mélange approprié, procéder par agitation pendant 5 à 20 secondes.
9. Avec un équipement de lavage semi-automatique ou automatique, les échantillons mélangés et dilués doivent être centrifugés ($5\,000 \times g$ pendant 10 minutes) pour retirer les particules du liquide surnageant avant de les transférer dans les micropuits.

PROCÉDURE DE TEST

1. Placer tous les réactifs et le nombre de bandelettes nécessaires à température ambiante avant de les utiliser.
2. **Ajouter 1 goutte (50 μL) de *Conjugué* (bouchon rouge) dans chaque micropuits.** Mélanger doucement le *Conjugué* dans la bouteille en la retournant plusieurs fois. Veiller à maintenir chaque flacon à la verticale lors de l'ajout des gouttes. Utiliser 1 puits pour chaque échantillon de selles, 1 puits pour le *Contrôle positif* et 1 puits pour le contrôle négatif. Les marques d'identification peuvent être écrites directement sur le côté du micropuits.
3. **À l'aide d'une pipette de transfert, transférer 100 μL d'échantillon dilué (ou du liquide surnageant de l'échantillon dilué centrifugé en cas d'utilisation d'un équipement de lavage automatique) dans le micropuits.** Ajouter 1 goutte (50 μL) du *Contrôle positif* (bouchon noir) dans le puits de contrôle positif et 100 μL du *Diluant* (contrôle négatif) dans le puits de contrôle négatif. Tapoter les côtés de la plaque pour mélanger.
4. Couper le film adhésif plastique à la taille nécessaire pour couvrir les puits. **Couvrir les puits et les laisser incuber à $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 50 minutes.**
5. Agiter le contenu hors des micropuits dans un réceptacle à déchets.
6. **Nettoyer les micropuits en projetant énergiquement la *Solution de lavage 1X* à l'aide d'un pulvérisateur à jet continu** vers le fond de chaque micropuits. Remplir les puits, puis agiter la *Solution de lavage* hors du puits dans un réceptacle à déchets. Rabattre la plaque à l'envers sur une serviette en papier sèche.

Remarque : avec un équipement de lavage semi-automatique ou automatique, ajouter 350 μL de Solution de lavage 1X dans chaque micropuits. Laver 5 fois.

7. Répéter l'étape 6 quatre fois supplémentaires avec une serviette en papier sèche à chaque fois. Si des particules sont visibles dans les micropuits, continuer le lavage jusqu'à disparition complète de ces dernières.
8. Après lavage, éliminer complètement tout liquide résiduel pouvant rester dans les micropuits en rabattant énergiquement la plaque sur une serviette en papier sèche de façon à effacer toute trace de liquide. Éliminer les serviettes en papier et les récipients ayant contenu des échantillons de façon appropriée. Essuyer le dessous de chaque micropuits.
9. **Ajouter 2 gouttes (100 μL) de Substrat (bouchon bleu) dans chaque micropuits.** Tapoter légèrement les micropuits pour mélanger le substrat. Laisser incuber les micropuits à température ambiante pendant 10 minutes. Tapoter doucement les puits au bout de 5 minutes.
10. **Ajouter 1 goutte (50 μL) de Solution d'arrêt (bouchon jaune) dans chaque micropuits.** Tapoter légèrement les micropuits et attendre 2 minutes avant de procéder au relevé. Lors de l'adjonction de Solution d'arrêt, la couleur bleue du Substrat vire au jaune. Cette modification peut être quantifiée en mesurant la densité optique à 450 nm sur un lecteur de microplaques ELISA. Le zéro d'absorbance de l'instrument doit être ajusté à l'air. Pour les lecteurs à double longueur d'onde, ajuster le zéro à l'air à 620 ou 630 nm et effectuer la lecture à 450 nm. Essuyer le dessous de chaque micropuits avant de mesurer la densité optique. Si aucun lecteur ELISA n'est disponible, le test peut être lu à l'œil nu avec un bon éclairage sur fond blanc. Effectuer la lecture dans les dix minutes qui suivent l'adjonction de Solution d'arrêt.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

1. Les contrôles positifs et négatifs doivent être effectués sur chaque série d'analyses d'échantillons. Les contrôles positifs permettent de démontrer le bon fonctionnement du test de dépistage de l'antigène de *Campylobacter* dans des échantillons de selles, tandis que le contrôle négatif démontre que le test réagit de façon spécifique.
2. Les contrôles positifs et négatifs doivent figurer dans les plages respectives (ci-dessous), sinon les résultats du test sont invalides. Si des résultats différents sont observés, contacter nos Services techniques.
 - a) **Le contrôle positif doit être de couleur jaune.** Lue sur un spectrophotomètre, la DO à 450 nm ou avec une onde double à 450/620 nm ou 450/630 nm doit être $\geq 0,500$. Si un micropuits donne une lecture positive sans présenter une couleur parfaitement perceptible, le repositionner, essuyer le dessous du micropuits et effectuer une nouvelle lecture.
 - b) **Le contrôle négatif doit être visuellement clair.** Lue sur un spectrophotomètre, la DO à 450 nm doit être $< 0,120$. Lue à 450/620 nm ou 450/630 nm, l'absorbance doit être $< 0,080$. Si ce n'est pas le cas, le test ne peut pas être considéré comme valide et doit être répété en veillant à effectuer correctement la procédure de lavage.
3. Les relevés visuels doivent être pris dans de bonnes conditions d'éclairage sur fond blanc.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

	Mesure spectrophotométrique	
	Longueur d'onde simple à 450 nm	Longueur d'onde double à 450/620 nm ou 450/630 nm
Échantillons négatifs	DO $< 0,120$	DO $< 0,080$
Échantillons positifs	DO $\geq 0,120$	DO $\geq 0,080$

Interprétation visuelle

Le micropuits de contrôle négatif doit être incolore ou de couleur jaune clair (valeur inférieure à la couleur jaune +1 selon le guide d'interprétation visuelle fourni avec le kit). Le micropuits de contrôle positif doit présenter une couleur jaune nette. Si des résultats différents sont observés, contacter nos Services techniques. Un échantillon d'essai est considéré comme positif s'il est de couleur bien jaune par rapport au micropuits de contrôle négatif. Il peut être plus ou moins jaune que la couleur observée dans le micropuits de contrôle positif. Un échantillon d'essai est considéré comme négatif si la réaction est incolore ou moins jaune que le micropuits de contrôle négatif.

Un résultat positif indique que l'antigène *Campylobacter* est présent dans l'échantillon. Un résultat négatif indique que l'antigène *Campylobacter* est absent ou que le niveau est inférieur à la limite de détection du test.

Limites

1. Le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* est utilisé pour détecter l'antigène spécifique de *Campylobacter* dans les échantillons de selles humains. Il confirme la présence d'antigènes dans les selles et ces informations doivent être examinées par le médecin avec le dossier médical du patient et l'examen physique de ce dernier.
2. Des résultats négatifs ne doivent pas exclure définitivement la présence de souches de *Campylobacter* chez les patients susceptibles d'en être atteints. Des niveaux de l'organisme peuvent être présents dans les selles en deçà de la limite de détection du test *CAMPYLOBACTER CHEK™*. Par conséquent, si la présence de *Campylobacter* est suspectée, d'autres tests doivent être effectués.
3. Le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* permet d'obtenir des résultats optimaux si les échantillons de selles ont été prélevés moins de 96 heures à l'avance. Si les échantillons ne sont pas testés pendant cette période, ils peuvent être congelés.
4. Le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* a uniquement été évalué avec des échantillons de selles frais et des échantillons de selles stockés dans un milieu Cary Blair ou C&S. La performance sur des échantillons de selles conservés dans d'autres milieux de transport (par exemple, formol, alcool de polyvinyle) n'a pas été évaluée et ces derniers ne doivent donc pas être utilisés.
5. Le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* est un test qualitatif. L'intensité de la couleur ne doit pas être interprétée en termes quantitatifs.
6. Aucune donnée n'est disponible sur les effets des lavages coliques, des lavements barytés, des laxatifs ou des préparations de selles sur la performance du test *CAMPYLOBACTER CHEK™*. Toutes ces procédures peuvent provoquer une dilution extensive ou la présence d'adjuvants susceptibles d'affecter la performance du test.
7. Si l'échantillon transféré est trop petit, si le mélange est défectueux ou si l'échantillon n'est pas complètement suspendu dans le *Diluant*, les résultats obtenus peuvent se révéler faussement négatifs.

VALEURS MOYENNES

Le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* détecte la présence de l'antigène spécifique à *Campylobacter* dans les échantillons de selles humains. Les valeurs moyennes pour une population donnée doivent être établies par chaque laboratoire. Elles varient selon les pratiques locales de sécurité alimentaire, la pureté des sources d'eau, le pays et la saison (10). FoodNet, le réseau américain de surveillance active des maladies à transmission alimentaire, signale une incidence annuelle de 13,45 cas sur 100 000 personnes pour les infections à *Campylobacter* entre 1996 et 2012 (11). À l'échelle mondiale, les taux d'incidence peuvent dépasser les 400 cas sur 100 000 personnes (12, 13). Les taux d'incidence annuels signalés pour les échantillons de selles présentés pour examen vont de 1 à 2 % (14, 15). Des taux d'incidence plus élevés (jusqu'à 7 %) sont constatés pendant l'été et chez les enfants en âge d'aller à la maternelle (10, 15).

EFFICACITÉ DU TEST

Étude prospective

L'efficacité du test *CAMPYLOBACTER CHEK™* a été évaluée sur 4 sites indépendants. De nouveaux échantillons de selles prospectifs ont été prélevés et testés au moyen d'une culture bactérienne et du test *CAMPYLOBACTER CHEK™*. Le tableau suivant présente un résumé de la performance clinique du test *CAMPYLOBACTER CHEK™* pour l'ensemble des 4 sites. Les résultats de l'étude révèlent que le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* a présenté une sensibilité de 91,4 % et une spécificité de 99,1 % avec les cultures bactériennes.

Répartition des âges et des sexes

Les données relatives à l'âge étaient disponibles pour 1552 patients. L'âge des patients allait de moins de 1 an jusqu'à 100 ans. Parmi ces 1 552 patients, 15,7 % avaient 18 ans ou moins. Les données relatives au sexe indiquaient 38,7 % de femmes et 61,3 % d'hommes. Aucune différence n'a été constatée au niveau des performances du test en fonction de l'âge ou du sexe des patients.

Test *CAMPYLOBACTER CHEK™* comparé à une culture bactérienne

N = 1552	Culture positive	Culture négative
<i>CAMPYLOBACTER CHEK™</i> Positif	32	14*
<i>CAMPYLOBACTER CHEK™</i> Négatif	3**	1503
Indice de confiance de 95 %		
Sensibilité	91,4%	77,6% - 97,0%
Spécificité	99,1%	98,5% - 99,5%

Les 17 échantillons anormaux ont été caractérisés de manière plus approfondie avec des tests supplémentaires dans les locaux de TECHLAB. Ces examens ont notamment impliqué un test immuno-enzymatique sur microplaque commercial approuvé par la FDA, un test moléculaire commercial approuvé par la FDA, une PCR réalisée en interne (détection du gène ARNr 16S de *Campylobacter* spp. et identification des espèces spécifiques) et un séquençage bidirectionnel.

* Sur 14 échantillons, 8 échantillons présentant un résultat négatif en culture et un résultat positif avec le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* se sont avérés être positifs avec tous les tests.

Sur 14 échantillons, 2 échantillons présentant un résultat négatif en culture et un résultat positif avec le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* se sont avérés être positifs avec le test immuno-enzymatique commercial, la PCR en interne et le séquençage bidirectionnel.

4 échantillons présentant un résultat négatif en culture et un résultat positif avec le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* se sont avérés être positifs pour *C. upsaliensis* avec la PCR et le séquençage d'identification de l'espèce.

** 1 des 3 échantillons présentant un résultat positif en culture et un résultat négatif avec le test *CAMPYLOBACTER CHEK™* se sont avérés être négatifs avec tous les tests.

Étude rétrospective

Des tests additionnels ont été réalisés sur 30 échantillons positifs rétrospectifs. L'âge des patients allait de moins de 11 mois jusqu'à 74 ans. Tous les échantillons rétrospectifs ont présenté un résultat positif en culture pour *Campylobacter* spp. et ont été caractérisés davantage comme étant positifs à *Campylobacter* spp. à l'aide d'un test immuno-enzymatique sur microplaque commercial approuvé par la FDA, d'un test moléculaire

commercial approuvé par la FDA, d'une PCR réalisée en interne (détection du gène ARNr 16S de *Campylobacter* spp. et identification des espèces spécifiques) et d'un séquençage bidirectionnel. Ces échantillons ont ensuite été examinés avec le test *CAMPYLOBACTER CHEK*TM. Chacun des 30 échantillons ont présenté un résultat positif pour *Campylobacter* spp. avec toutes les méthodes de test, soit un taux de corrélation de l'ordre de 100 %.

REPRODUCTIBILITÉ

La reproductibilité du test *CAMPYLOBACTER CHEK*TM a été déterminée à partir de 8 échantillons de selles humains codés pour éviter leur identification pendant le test. Le test a été réalisé dans 2 laboratoires indépendants et sur place au sein de TECHLAB, Inc. Les échantillons ont été testés 2 fois par jour pendant 5 jours par plusieurs techniciens travaillant sur chaque site avec 2 lots de kits différents. Un contrôle positif et un contrôle négatif ont été effectués avec chaque panel d'échantillons masqués. Les résultats de chaque laboratoire ont été transmis à TECHLAB, Inc. et comparés aux résultats internes. Ils étaient cohérents entre les différents sites et ont affiché une corrélation de 100 %. Les échantillons ont donné les résultats prévus sur 100% des essais.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

La réactivité croisée du test *CAMPYLOBACTER CHEK*TM a été évaluée avec les organismes et les virus ci-dessous courants dans les intestins. Aucun de ces organismes ou virus n'a influé sur la performance du test *CAMPYLOBACTER CHEK*TM.

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Salmonella enterica typhimurium</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (souche Cowan)
<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (non toxigène)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (toxigène)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia hermanni</i>	
Adenovirus Type 1, 2, 3, 5, 40, 41	Coronavirus humain
Virus Coxsackie B2, B3, B4, B5	Rotavirus humain
Échovirus 9, 11, 18, 22, 33	Norovirus
Entérovirus 68, 69, 70, 71	

Des souches de *Campylobacter* ayant montré une réactivité au test *CAMPYLOBACTER CHEK*TM. *C. helveticus* (souche 54661) s'est avérée positive à $3,14 \times 10^6$ UFC/ml (2 x la LD de *C. coli*).

ÉTUDE D'INCLUSIVITÉ

La spécificité du test *CAMPYLOBACTER CHEK™* a été évaluée avec plusieurs souches de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, et *Campylobacter upsaliensis*. Toutes les souches indiquées ont produit des résultats positifs à l'occasion du test.

Souches CCUG *C. coli* : 11283, 10956, 17755, 36994, 53138*

Souches CCUG *jejuni* sous-espèce *C. jejuni* : 11284, 6951, 12081, 29411, 38106

Souches CCUG *doylei* sous-espèce *C. jejuni* : 24567

Souches *C. lari* : 2013/0823H, 2014/2772, 2015/0519, 2015/0814, 2015/1582, 2015/1657, 2015/2189, 2015/2983, 2016/0235, 2016/1130H

Souches *C. upsaliensis* : 2016/0385, 2016/1931*, 2016/1950, 2016/2697, 2016/2826, 2017/0349, 2017/0506H**, 2017/2584, 2018/0319H, 2018/1669

*La souche 53138 et la souche 2016/1931 se sont avérées positives à 4 x la LD.

**La souche 2017/0506H s'est avérée positive à 5 x la LD.

Les souches *C. lari* et *C. upsaliensis* ont été obtenues auprès du Centre National de Référence des Campylobacters et Hélicobacters - Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

SUBSTANCES INTERFÉRENTES (FORMULES AMÉRICAINES)

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat positif ou négatif des tests

CAMPYLOBACTER CHEK™ aux concentrations indiquées ci-après :

Sulfate de baryum (5 % p/v), chlorure de benzalkonium (1 % p/v), ciprofloxacine (0,25 % p/v), éthanol (1 % p/v), mucine gastrique de porc (3,5 % p/v), sang humain (40 % v/v), hydrocortisone (1 % p/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), leucocytes (0,05 % p/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), mesalazine (10 % p/v), métronidazole (0,25 % p/v), huile minérale (10 % p/v), Mylanta® (4,2 mg/mL), sodium de naproxène (5 % p/v), nonoxynol-9 (1 % p/v), nystatine (1 % p/v), acide palmitique/grasses fécales (40 % p/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), phényléphrine (1 % p/v), glycol polyéthylénique 3350 (10 % p/v), Prilosec OTC® (5 µg/mL), sennosides (1 % p/v), siméthicone (10 % p/v), acide stéarique/grasses fécales (40 % p/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS® (50 µg/mL), urine humaine (5 % v/v), et vancomycine (0,25 % p/v).

PRÉCISION – INTRA-ANALYSE

Pour la détermination des performances intra-analyse, 8 échantillons de selles ont été analysés avec le test *CAMPYLOBACTER CHEK™*. Les échantillons incluaient 2 échantillons négatifs, 2 échantillons hautement négatifs, 2 échantillons faiblement positifs et 2 échantillons modérément positifs. Chaque échantillon a été analysé cinq fois au total avec deux lots de kits différents. Les échantillons positifs ont systématiquement été testés positifs et négatifs, et les échantillons hautement négatifs se sont systématiquement révélés négatifs. Aucune différence n'a été constatée au niveau des résultats avec une onde simple ou double et avec un relevé visuel. Il y avait 100 % de concordance entre les deux lots de kits.

PRÉCISION – INTER-ANALYSE

Pour la détermination des performances inter-analyse, 8 échantillons de selles ont été analysés avec le test *CAMPYLOBACTER CHEK™*. Les échantillons incluaient 2 échantillons négatifs, 2 échantillons hautement négatifs, 2 échantillons faiblement positifs et 2 échantillons modérément positifs. Les échantillons ont été testés 2 fois par jour pendant 12 jours par plusieurs techniciens à l'aide de 2 lots de kits différents. Tous les échantillons positifs le sont restés, de même que tous les échantillons négatifs sont restés négatifs. L'interprétation visuelle des résultats a permis d'obtenir un taux de corrélation de 100 % avec une interprétation spectrophotométrique. Les deux kits ont présenté un taux de corrélation de 100 %.

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

La sensibilité analytique du test a été déterminée avec des préparations de cultures d'organismes entiers *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, et *C. upsaliensis* dans une matrice de prélèvement. Les concentrations d'organismes *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, et *C. upsaliensis* dans la matrice de selles où les échantillons étaient positifs dans 95 % des cas au test **CAMPYLOBACTER CHEK™** ont été utilisées pour décrire la limite de détection du test (LD).

La limite de détection du test **CAMPYLOBACTER CHEK™** avec des échantillons de selles bruts a été établie à $2,10 \times 10^5$ UFC/mL (4 203 UFC/test) pour *C. jejuni*. Pour les échantillons dans un milieu Protocol™ Cary Blair, la LD a été établie à $8,06 \times 10^5$ UFC/mL (10 072 UFC/test) pour *C. jejuni*. Pour les échantillons dans un milieu Protocol™ C&S, la LD a été établie à $5,09 \times 10^5$ UFC/mL (6 357 UFC/test) pour *C. jejuni*. Les limites de détection sont équivalentes pour les résultats avec une onde simple et avec une onde double.

La limite de détection du test **CAMPYLOBACTER CHEK™** avec des échantillons de selles bruts a été établie à $1,57 \times 10^6$ UFC/mL (31324 UFC/test) pour *C. coli*. Pour les échantillons dans un milieu Protocol™ Cary Blair, la LD a été établie à $3,77 \times 10^6$ UFC/mL (47 077 UFC/test) pour *C. coli*. Pour les échantillons dans un milieu Protocol™ C&S, la LD a été établie à $5,36 \times 10^6$ UFC/mL (66 974 UFC/test) pour *C. coli*. Les limites de détection sont équivalentes pour les résultats avec une onde simple et avec une onde double.

La limite de détection du test **CAMPYLOBACTER CHEK™** avec des échantillons de selles bruts a été établie à $4,60 \times 10^5$ UFC/mL (9 200 UFC/test) pour *C. lari*. Pour les échantillons dans un milieu Protocol™ Cary Blair, la LD a été établie à $1,09 \times 10^6$ UFC/mL (13 625 UFC/test) pour *C. lari*. Pour les échantillons dans un milieu Protocol™ C&S, la LD a été établie à $1,18 \times 10^6$ UFC/mL (14 750 UFC/test) pour *C. lari*. Les limites de détection sont équivalentes pour les résultats avec une onde simple et avec une onde double.

La limite de détection du test **CAMPYLOBACTER CHEK™** avec des échantillons de selles bruts a été établie à $4,65 \times 10^5$ UFC/mL (9 300 UFC/test) pour *C. upsaliensis*. Pour les échantillons dans un milieu Protocol™ Cary Blair, la LD a été établie à $1,02 \times 10^6$ UFC/mL (12 750 UFC/test) pour *C. upsaliensis*. Pour les échantillons dans un milieu Protocol™ C&S, la LD a été établie à $1,02 \times 10^6$ UFC/mL (12 750 UFC/test) pour *C. upsaliensis*. Les limites de détection sont équivalentes pour les résultats avec une onde simple et avec une onde double.

PROZONE

Pour garantir l'absence d'interférence entre une concentration élevée d'antigène de *Campylobacter* et une réaction positive du test **CAMPYLOBACTER CHEK™**, des échantillons élevés ont été préparés en introduisant un mélange de selles négatif à une concentration éventuellement observée dans les échantillons cliniques. Au total, 5 dilutions différentes de préparations de cultures d'organismes entiers *C. jejuni* et *C. coli*, inférieures ou égales à la concentration élevée observée cliniquement, ont été préparées et testées trois fois. Les résultats ont démontré l'absence d'altération prozone générale ainsi que l'absence d'altération des niveaux élevés d'antigène sur la détection de l'antigène.

REFERENCES

1. Ruiz-Palacios, G. M. 2007. The health burden of *Campylobacter* infection and the impact of antimicrobial resistance: playing chicken. *Clin Infect Dis* 44:701-703.
2. Kendall, M. E., S. Crim, K. Fullerton, P. V. Han, A. B. Cronquist, B. Shiferaw, L. A. Ingram, J. Rounds, E. D. Mintz, and B. E. Mahon. 2012. Travel-Associated Enteric Infections Diagnosed After Return to the United States, Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet), 2004-2009. *Clinical Infectious Diseases* 54:S480-S487.
3. Friedman, C. R., R. M. Hoekstra, M. Samuel, R. Marcus, J. Bender, B. Shiferaw, S. Reddy, S. D. Ahuja, D. L. Helfrick, F. Hardnett, M. Carter, B. Anderson, R. V. Tauxe, and E. I. P. F. W. Group. 2004. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: A case-control study in FoodNet sites. *Clin Infect Dis* 38:S285-96.
4. Guerrant, R. L., T. Van Gilder, T. S. Steiner, N. M. Thielman, L. Slutsker, R. V. Tauxe, T. Hennessy, P. M. Griffin, H. DuPont, R. Bradley Sack, P. Tarr, M. Neill, I. Nachamkin, L. B. Reller, M. T. Osterholm, M. L. Bennish, and L. K. Pickering. 2001. Practice Guidelines for the Management of Infectious Diarrhea. *Clinical Infectious Diseases* 32:331-351.
5. Young, K. T., L. M. Davis, and V. J. Dirla. 2007. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology* 5:665-679.
6. Hurd, S., M. Patrick, J. Hatch, P. Clogher, K. Wymore, A. B. Cronquist, S. Segler, T. Robinson, S. Hanna, G. Smith, and C. Fitzgerald. 2012. Clinical Laboratory Practices for the Isolation and Identification of *Campylobacter* in Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) Sites: Baseline Information for Understanding Changes in Surveillance Data. *Clinical Infectious Diseases* 54:S440-S445.
7. Bessede, E., A. Delcamp, E. Sifre, A. Buissonniere, and F. Megraud. 2011. New Methods for Detection of *Campylobacters* in Stool Samples in Comparison to Culture. *Journal of Clinical Microbiology* 49:941-944.
8. Lastovica, A. J., and E. le Roux. 2000. Efficient Isolation of *Campylobacter* from Stools. *Journal of Clinical Microbiology* 38:2798-2799.
9. Couturier, B. A., M. R. Couturier, K. J. Kalp, and M. A. Fisher. 2013. Detection of non-*jejuni* and -*coli* *Campylobacter* Species from Stool Specimens with an Immunochromatographic Antigen Detection Assay. *Journal of Clinical Microbiology* 51:1935-1937.
10. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. 2015. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin Microbiol Rev.* 28:687-720.
11. Crim SM, Griffin PM, Tauxe R, Marder EP, Gilliss D, Cronquist AB, Cartter M, Tobin-D'Angelo M, Blythe D, Smith K, Lathrop S, Zansky S, Cieslak PR, Dunn J, Holt KG, Wolpert B, Henao OL; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2015. Preliminary incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food - Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. sites, 2006-2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 64:495-499.
12. Fischer Walker CL, Perin J, Aryee MJ, Boschi-Pinto C, Black RE. 2012. Diarrhea incidence in low- and middle-income countries in 1990 and 2010: a systematic review. *BMC Public Health.* 12:220-220.
13. Hall G, Yohannes K, Raupach J, Becker N, Kirk M. 2008. Estimating community incidence of *Salmonella*, *Campylobacter*, and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections, Australia. *Emerg Infect Dis.* 14:1601-1609.
14. Hindiyyeh M, Jense S, Hohmann S, Benett H, Edwards C, Aldeen W, Croft A, Daly J, Mottice S, Carroll KC. 2000. Rapid detection of *Campylobacter jejuni* in stool specimens by an enzyme immunoassay and surveillance for *Campylobacter upsaliensis* in the greater Salt Lake City area. *Journal of Clinical Microbiology* 38:3076-3079.
15. Nielsen HL, Ejlersten T, Engberg J and Nielsen H. 2013. High incidence of *Campylobacter concisus* in gastroenteritis in North Jutland, Denmark: a population-based study. *Clin Microbiol Infect* 19: 445-450.

Technical Support

Further information can be obtained by contacting TECHLAB® Technical Support:

US	+1 800 TECHLAB
Phone	(540) 953-1664
Fax	(540) 953-1665
Email	ts@techlab.com

© 2021 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

CAMPYLOBACTER CHEK, the TECHLAB Logo, and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc. Proclin is a trademark of Rohm and Haas Company.

All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.