

CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™

A Rapid Membrane Enzyme Immunoassay for the Qualitative Detection
of a *Campylobacter*-specific Antigen in Human Fecal Specimens

Catalog No. T5047 (25 Tests)

IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device

For Canadian Users: For Laboratory Use Only

Immunoensayo enzimático rápido de membrana para la detección
cualitativa de un antígeno específico de *Campylobacter*
en muestras fecales humanas

N.º de catálogo T5047 (25 pruebas)

IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den qualitativen Nachweis
eines *Campylobacter*-spezifischen Antigens in
menschlichen Stuhlproben

Katalognr. T5047 (25 Tests)

IVD Medizinprodukt für die *In-Vitro*-Diagnostik

Un immunodosage enzymatique rapide de la membrane, pour une
détection qualitative de l'antigène spécifique de *Campylobacter* dans les
échantillons de selles humains

Catalogue n° T5047 (25 tests)

IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Pour les utilisateurs canadiens : Réservé à un usage en laboratoire

U. S. Patent #8,343,726

Made in the USA

Developed and Manufactured by:



TECHLAB®

2001 Kraft Drive

Blacksburg, VA 24060-6358 USA

www.techlab.com



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

CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™

INTENDED USE

The *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test is a rapid membrane enzyme-linked immunosorbent assay for the qualitative detection of a *Campylobacter*-specific antigen in human fecal specimens. The *CAMPYLOBACTER QUIK 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 hours 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 QUIK CHEK™* test allows detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*, the species most commonly associated with human disease, in less than 30 minutes. Furthermore, the *CAMPYLOBACTER QUIK 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 QUIK CHEK™* test uses antibodies that recognize a *Campylobacter*-specific antigen in human fecal samples. The device contains a *Reaction Window* with two vertical lines of immobilized antibodies. The test line ("T") contains antibodies against a *Campylobacter*-specific antigen. The control line ("C"), contains anti-IgG antibodies. The *Conjugate* consists of antibodies to a *Campylobacter*-specific antigen coupled to horseradish peroxidase. To perform the test, a fecal specimen is added to a tube containing a mixture of *Diluent* and *Conjugate*. The diluted sample-conjugate mixture is added to the *Sample Well* and the device is allowed to incubate at room temperature for 15 minutes. During the incubation, the *Campylobacter*-specific antigens in the sample bind to the antibody-peroxidase conjugate. The antigen-antibody complexes migrate through a filter pad to a membrane where they are captured by the immobilized anti-*Campylobacter* antibodies in the line. The *Reaction Window* is subsequently washed with

Wash Buffer, followed by the addition of *Substrate*. After a 10-minute incubation, the “T” reaction is examined visually for the appearance of a vertical blue line. A blue line indicates a positive test. A positive “C” reaction, indicated by a vertical blue line, monitors/confirms that the sample and reagents were added correctly, the reagents were active at the time of performing the assay, and that the sample migrated properly through the *Membrane Device*. It also confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay and that the results are valid.

MATERIALS PROVIDED

MEM | DEV

Membrane Devices – 25, each pouch contains 1 device

CONJ | ENZ

Conjugate (2.5 mL) – Antibody to a *Campylobacter*-specific antigen coupled to horseradish peroxidase in a buffered protein solution (contains 0.05% ProClin® 300)*

DIL | SPE

Diluent (22 mL) – Buffered protein solution with graduated dropper assembly (contains 0.05% ProClin® 300)*

CONTROL | +

Positive Control (2 mL) – *Campylobacter*-specific antigen in a buffered protein solution (contains 0.05% ProClin® 300)*

WASH | REAG

Wash Buffer (12 mL) – Buffered solution with graduated dropper assembly (contains 0.05% ProClin® 300)*

SUBS | REAG

Substrate (3.5 mL) – Solution containing tetramethylbenzidine

Disposable plastic transfer pipettes – graduated at 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL and 500 µL

*(contains 0.05% ProClin® 300)

Signal Word: Warning

H317: May cause an allergic skin reaction

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



MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Small test tubes (e.g., plastic Eppendorf tubes)

Applicator sticks

Timer

Vortex mixer

Disposable gloves for handling fecal samples

Pipettor and tips

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of the kit is given on the kit label. Expiration dates for each component are listed on the individual labels. The kit should be stored between 2°C and 8°C and returned promptly to the intended storage condition after use.

PRECAUTIONS

1. Rx Only – Prescription Only
2. Reagents from different kits should not be mixed or interchanged. Do not use a kit or component past the expiration date.
3. Each component in the kit should be inspected for any signs of leakage. Upon arrival, inspect the kit to ensure that components are not frozen or warm to the touch due to improper shipping conditions.
4. Inspect foil pouch before opening to ensure no holes are present and that it is sealed properly.
5. Bring all components to ROOM TEMPERATURE BEFORE USE!
6. Caps, tips and dropper assemblies are color-coded; do NOT mix or interchange!
7. Do not freeze the reagents. The kit should be stored between 2°C and 8°C.
8. The pouch containing the *Membrane Device* should be at room temperature before opening. Keep the membrane devices dry before use.
9. Hold reagent bottles vertically when dispensing reagents to ensure consistent drop size and correct volume.
10. Specimens and membrane devices should be handled and disposed of as potential biohazards after use. Do not place in trash. Wear disposable gloves when doing the test.

11. *Membrane Devices* cannot be reused.
12. The test has been optimized for sensitivity and specificity. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test. Do not deviate from the specified procedure.
13. Be attentive to the total assay time when testing more than one fecal specimen. Add *Diluent* first, and then add the *Conjugate* to each tube of *Diluent*. Then add specimen to the tube of *Diluent/Conjugate*. Thoroughly mix all of the diluted specimens, and transfer to the *Membrane Device*. The 15-minute incubation step begins after the last diluted sample-conjugate mixture has been transferred to the final *Membrane Device*.
14. If the *Substrate* reagent changes to a dark blue/violet color call technical services for replacement.
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. Reagents contain 0.05% ProClin® 300 as a preservative. Although the concentration is low, ProClin® 300 is known to be harmful. If skin 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.
17. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations. Do not place in trash, dispose of as hazardous waste.

COLLECTION, HANDLING, AND STORAGE OF FECAL SPECIMENS

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

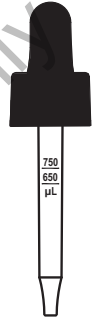
1. Standard collection and handling procedures used in-house for fecal specimens are appropriate. Fresh fecal specimens should be collected in clean, leak-proof containers, stored between 2° and 8°C, and tested within 96 hours of collection. Specimens that cannot be tested within this time should be stored at ≤ -10°C. Fecal specimens that are stored frozen may be thawed up to 5 times. If using frozen specimens, thaw at room temperature.
2. Specimens in transport media may be stored for up to 96 hours between 20°C and 30°C.

3. Storing fecal specimens in the *Diluent* is NOT recommended.
4. Do not allow the fecal specimens to remain in the *Diluent/Conjugate* mixture for >30 minutes.

SPECIMEN PREPARATION

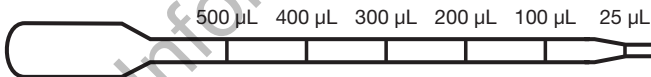
1. Bring all reagents, fecal specimens, and the required number of *Membrane Devices* to room temperature before use. It is recommended to remove the reagents from the foam insert to reduce the time needed to warm to room temperature.
2. Set up and label one small test tube for each specimen, and optional external controls as necessary.
3. **For unpreserved fecal specimens, using the black graduated dropper assembly, add 750 μ L (2nd graduation from the tip) *Diluent* to each tube. For specimens in Cary Blair or C&S transport media, add 650 μ L (1st graduation from the tip) of *Diluent* to each tube.**

Sample Type	Volume of <i>Diluent</i>
Fresh or Frozen Fecal Specimens	750 μ L (2 nd graduation from tip)
Specimens in transport media (Cary Blair, C&S)	650 μ L (1 st graduation from tip)
External Controls (positive and negative)	750 μ L (2 nd graduation from tip)



4. Add one drop of *Conjugate* (red capped bottle) to each tube. Gently mix the *Conjugate* in the bottle by inverting several times prior to addition.
5. Obtain one disposable plastic transfer pipette (supplied with the kit) for each sample – the pipettes have raised graduations at 25 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 400 μ L, and 500 μ L.

Graduated Transfer Pipette:



6. **Mix all specimens thoroughly regardless of consistency- it is essential that the specimens be evenly suspended before transferring.**
Liquid/Semi-solid specimens – pipette 25 μ L of specimen with a transfer pipette and dispense into the *Diluent/Conjugate* mixture. Use the same transfer pipette to mix the diluted specimen.
Formed/Solid specimens – Care must be taken to add the correct amount of formed feces to the sample mixture. Mix the specimen thoroughly using a wooden applicator stick and transfer a small portion (approximately 1 mm diameter, the equivalent of 25 μ L) of the specimen into the *Diluent/Conjugate* mixture. Emulsify the specimen using the applicator stick.
Fecal specimens in Cary Blair or C&S transport media - pipette 100 μ L (2 drops from transfer pipette) of sample into the *Diluent/Conjugate* mixture.
NOTE: Transferring too little specimen, or failure to mix and completely suspend the specimen in the *Diluent/Conjugate* mixture, may result in a false-negative test result. The addition of too much fecal specimen may cause invalid results or restricted sample flow.

6

7. Optional External Control Samples:

Optional control devices may be run concurrently with patient samples.

External Positive Control - add one drop of *Positive Control* (gray-capped bottle) into the *Diluent/Conjugate* mixture.

External Negative Control - add 25 μL *Diluent* into the *Diluent/Conjugate* mixture.

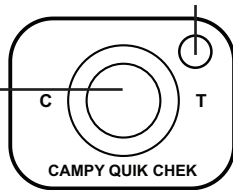
TEST PROCEDURE

1. Obtain one *Membrane Device* per specimen, and one *Membrane Device* per optional external positive or negative control as necessary. The foil bags containing the devices should be brought to room temperature before opening. Use the device immediately after opening. Label each device appropriately and orient it on a flat surface so that the small *Sample Well* is located in the top right corner of the device.

Membrane Device

Sample Well

Reaction Window



2. Close each tube of diluted specimen and mix thoroughly. Proper mixing can be achieved by vortexing the tube for 5-20 seconds. Once a patient sample, or *Positive Control*, has been diluted in the *Diluent/Conjugate* mixture, it may be incubated at room temperature for up to 30 minutes prior to addition to the *Membrane Device*.
3. Make sure that each diluted sample is thoroughly mixed before adding to the *Membrane Device*. **Using a new transfer pipette**, transfer 500 μL (topmost graduation) of the diluted sample-conjugate mixture into the *Sample Well* of a *Membrane Device*. When adding the sample into the *Sample Well*, make sure that the tip of the transfer pipette is inside the *Sample Well* and angled towards the *Reaction Window*, making certain to expel the liquid sample onto the wicking pad inside the *Membrane Device*.
4. Incubate the device at room temperature for 15 minutes – the sample will wick through the device and a wet area will spread across the *Reaction Window*.

NOTE FOR SAMPLES THAT FAIL TO MIGRATE:

Occasionally, a diluted sample fails to migrate properly and the Reaction Window does not fully wet. If the Reaction Window does not appear to be completely wet within 5 minutes of adding the sample to the Sample Well, then add 100 μL (2 drops) of Diluent to the Sample Well and wait an additional 5 minutes (for a total of 20 minutes).

5. After the incubation, add 300 μL of *Wash Buffer* to the *Reaction Window* using the graduated white dropper assembly. Allow the *Wash Buffer* to flow through the *Reaction Window* membrane and be absorbed completely.
6. Add 2 drops of *Substrate* (white-capped bottle) to the *Reaction Window*. Read and record results visually after 10 minutes.

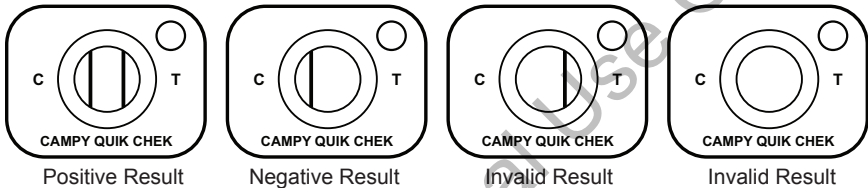
INTERPRETATION OF RESULTS

1. Interpretation of the test is most reliable when the device is read at the end of the 10-minute reaction period. Read the device at a normal working distance in a well-lit area. View with a line of vision directly over the device.
2. Observe device for the appearance of a vertical blue line on the “C” side (Control) of the *Reaction Window*, representing the internal positive control line. The appearance of any blue control line represents a valid internal control. The background may appear white to light blue in color. Observe device for the appearance of a blue line

on the “T” side (Test) of the *Reaction Window* representing the test line. The line may appear faint to dark in intensity.

3. **Positive Result:** A positive result may be interpreted at any time between the addition of *Substrate* and the 10-minute read time. For a positive result, the blue “T” (Test) line and the blue “C” (Control) line are visible. The lines may appear faint to dark in intensity. An obvious partial line is interpreted as a positive result. Do not interpret membrane discoloration as a positive result. A positive result indicates the presence of a *Campylobacter*-specific antigen.
4. **Negative Result:** A test cannot be interpreted as negative or invalid until 10 minutes following the addition of *Substrate*. A single vertical blue line is visible on the left side of the *Reaction Window*, beside the “C” and no test line is visible on the “T” side of the *Reaction Window*. A negative result in the test portion indicates a *Campylobacter*-specific antigen is either absent from the specimen or is present at a concentration below the detection limit of the test.
5. **Invalid Result:** The test result is invalid if a blue line is not present beside the “C” at the completion of the reaction period.

INTERPRETATION OF RESULTS



QUALITY CONTROL

Internal: A vertical blue line must be visible on the left side of the *Reaction Window*, beside the “C” (Control) on every *Membrane Device* that is tested. The appearance of the blue control line confirms that the sample and reagents were added correctly, that the reagents were active at the time of performing the assay, and that the sample migrated properly through the *Membrane Device*. It also confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay. A uniform background in the result area is considered an internal negative control.

External: The reactivity of the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* kit should be verified upon receipt using the *Positive Control* and negative control (*Diluent*). The *Positive Control* is supplied with the kit (gray-capped bottle). The *Positive Control* confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay, and is not intended to ensure precision at the analytical assay cut-off. *Diluent* is used for the negative control. Additional tests can be performed with the controls to meet the requirements of local, state and/or federal regulations and/or accrediting organizations.

LIMITATIONS

1. The *CAMPYLOBACTER QUIK 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. Optimal results with the *CAMPYLOBACTER QUIK 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.
3. Some specimens may give weak reactions. This may be due to a number of factors such as the presence of low levels of antigen, the presence of binding substances, or inactivating enzymes in the feces. The lines may consequently appear faint to dark in intensity. These specimens should be reported as positive if any blue line, even a partial line, is observed.

8

4. Transferring too little specimen, or failure to mix and completely suspend the specimen in the *Diluent/Conjugate* mixture, may result in a false-negative test result. The addition of too much fecal specimen may cause invalid results or restricted sample flow.
5. Fecal specimens preserved in 10% Formalin, merthiolate formalin, sodium acetate formalin, or polyvinyl alcohol cannot be used.
6. The *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test is qualitative. The intensity of the color should not be interpreted quantitatively.
7. No data exists on the effects of colonic washes, barium enemas, laxatives, or bowel preparations on the performance of the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test. All of these procedures can result in extensive dilution or the presence of additives that may affect test performance.
8. 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 QUIK CHEK™* test, and therefore, if *Campylobacter* is suspected, alternative testing should be conducted.

EXPECTED VALUES

The *CAMPYLOBACTER QUIK 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 QUIK CHEK™* test was evaluated at 4 independent sites. Prospective incoming fecal specimens were collected and tested by culture and the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test. The following table shows a summary of the clinical performance of the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test for all 4 sites combined. The results of the study show that the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test exhibited a sensitivity of 97.1%, 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 QUIK CHEK™ test versus Culture

N = 1552	Culture Positive	Culture Negative
CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ Positive	34	13*
CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ Negative	1**	1504
		95% Confidence Limits
Sensitivity	97.1%	85.5% - 99.9%
Specificity	99.1%	98.5% - 99.5%

The 14 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.

* Nine of the 13 specimens that were culture negative and *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test positive were confirmed to be positive for *C. jejuni* with all test methods.

Two of the 13 specimens that were culture negative and *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test positive were confirmed to be positive with the commercial EIA, in-house PCR, and bidirectional sequencing.

One of the 13 specimens that was culture negative and *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test positive was confirmed to be positive with an FDA-cleared commercial molecular test, in-house PCR and bidirectional sequencing.

One specimen that was culture negative and *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test positive was confirmed to be positive for *C. upsaliensis* by species-specific PCR and sequencing.

** The one specimen that was culture positive and *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* test negative was confirmed to be negative for *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis* with all test methods.

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 QUIK 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 QUIK 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 QUIK 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 QUIK 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-toxicogenic)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (toxicogenic)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia hermanii</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 QUIK CHEK™* test. *C. helveticus* (strain 54661) was found to be positive at 3.08×10^6 CFU/mL (4 x LoD of *C. coli*).

INCLUSIVITY STUDY

The specificity of the *CAMPYLOBACTER QUIK 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* strains: 11283, 10956, 17755, 36994, 53138
- C. jejuni* sub-species *jejuni* strains: 11284, 6951, 12081, 29411, 38106
- C. jejuni* sub-species *doylei* 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

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 QUIK 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).

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 QUIK CHEK*™ test 95% of the time is the assay limit-of-detection (LoD).

The Limit of Detection (LoD) for the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*™ test with raw fecal sample was established at 8.39×10^4 CFU/mL (1271 CFU/test) for *C. jejuni*. For specimens in Protocol™ Cary Blair media, the LoD was established at 1.78×10^5 CFU/mL (2781 CFU/test) for *C. jejuni*. For specimens in Protocol™ C&S media, the LoD was established at 7.25×10^4 CFU/mL (1133 CFU/test) for *C. jejuni*.

The Limit of Detection (LoD) for the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*™ test with raw fecal sample was established at 7.70×10^5 CFU/mL (11667 CFU/test) for *C. coli*. For specimens in Protocol™ Cary Blair media, the LoD was established at 2.22×10^6 CFU/mL (34688 CFU/test) for *C. coli*. For specimens in Protocol™ C&S media, the LoD was established at 1.56×10^6 CFU/mL (24375 CFU/test) for *C. coli*.

The Limit of Detection (LoD) for the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*™ test with raw fecal sample was established at 1.23×10^6 CFU/mL (18636 CFU/test) for *C. lari*. For specimens in Protocol™ Cary Blair media, the LoD was established at 3.54×10^6 CFU/mL (55313 CFU/test) for *C. lari*. For specimens in Protocol™ C&S media, the LoD was established at 2.27×10^6 CFU/mL (35469 CFU/test) for *C. lari*.

The Limit of Detection (LoD) for the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*™ test with raw fecal sample was established at 2.68×10^6 CFU/mL (40606 CFU/test) for *C. upsaliensis*. For specimens in Protocol™ Cary Blair media, the LoD was established at 2.43×10^6 CFU/mL (37969 CFU/test) for *C. upsaliensis*. For specimens in Protocol™ C&S media, the LoD was established at 5.04×10^6 CFU/mL (78750 CFU/test) for *C. upsaliensis*.

PROZONE

To ensure that a high concentration of *Campylobacter* antigen does not interfere with a positive reaction in the *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*™ test, high positive 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 QUIK CHEK™ - ESPAÑOL

USO PREVISTO

La prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* es un inmunoensayo enzimático rápido de membrana en fase sólida para la detección cualitativa de un antígeno específico de *Campylobacter* en muestras fecales humanas. La prueba *CAMPYLOBACTER QUIK 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: 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 QUIK CHEK™* permite detectar *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, las especies que más a menudo están asociadas a una patología humana, en menos de 30 minutos. Además, la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK 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 QUIK CHEK™* utiliza anticuerpos que reconocen un antígeno específico de *Campylobacter* en muestras fecales humanas. El dispositivo contiene una *ventana de reacción* con dos líneas verticales de anticuerpos inmovilizados. La línea de ensayo ("T") contiene anticuerpos contra un antígeno específico de *Campylobacter*. La línea de control ("C") contiene anticuerpos anti-IgG. El *conjugado* consiste en anticuerpos contra un antígeno específico de *Campylobacter* unidos a peroxidasa de rábano picante. Para realizar la prueba, la muestra fecal se añade a un tubo que contiene una mezcla de *diluyente* y *conjugado*. La mezcla de muestra y conjugado diluida se añade al *poquillo de muestra* y el dispositivo se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante la incubación,

los antígenos específicos de *Campylobacter* presentes en la muestra se unen al conjugado de anticuerpo y peroxidasa. Los complejos antígeno-anticuerpo migran a través de un filtro almidonado y alcanzan una membrana en la que son capturados por los anticuerpos anti-*Campylobacter* inmovilizados en la línea. A continuación, se lava la *ventana de reacción* con el *tampón de lavado* y se le añade el *sustrato*. Tras 10 minutos de incubación, se observa si aparece una línea azul vertical en la reacción "T". La presencia de una línea azul indica un resultado positivo. Una reacción "C" positiva, indicada por una línea azul vertical, controla/confirma que la muestra y los reactivos se han añadido correctamente, que los reactivos estaban activos en el momento de realizar la prueba y que la muestra ha migrado adecuadamente a través del *dispositivo de membrana*. Asimismo, confirma que los demás reactivos asociados al ensayo han reaccionado y que los resultados son válidos.

MATERIALES SUMINISTRADOS

MEM | DEV

Dispositivos de membrana: 25 (cada bolsa contiene 1 dispositivo).

CONJ | ENZ

Conjugado (2,5 ml): anticuerpo contra un antígeno específico de *Campylobacter* unido a peroxidasa de rábano picante en una solución proteínica tamponada (contiene un 0,05 % de ProClin® 300).*

DIL | SPE

Diluyente (22 ml): solución proteínica tamponada, con un cuentagotas graduado negro (contiene un 0,05 % de ProClin® 300).*

CONTROL | +

Control positivo (2 ml): antígeno específico de *Campylobacter* en una solución proteínica tamponada (contiene un 0,05 % de ProClin® 300).*

WASH | REAG

Tampón de lavado (12 ml): solución tamponada con cuentagotas graduado (contiene un 0,05 % de ProClin® 300).*

SUBS | REAG

Sustrato (3,5 ml): solución que contiene tetrametilbenzidina.

Pipetas de transferencia de plástico desechables: graduadas a 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl y 500 µl.

*(contiene un 0,05 % de ProClin® 300)

Indicación de advertencia: Advertencia

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel

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



MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Varillas aplicadoras

Cronómetro

Mezclador de tipo vórtex

Pipeta y puntas de pipeta

Guantes desechables para manipular las muestras fecales

Tubos de ensayo pequeños (p. ej., tubos de plástico Eppendorf o tubos de vidrio)

PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit está indicada en su etiqueta. Las fechas de caducidad de los componentes se indican en sus correspondientes etiquetas. El kit debe conservarse entre 2 °C y 8 °C y debe devolverse a las condiciones de conservación previstas inmediatamente después del uso.

PRECAUCIONES

1. Producto sujeto a prescripción médica
2. No deben mezclarse ni intercambiarse reactivos de kits diferentes. No utilice los kits ni los componentes después de la fecha de caducidad.
3. Cada componente del kit debe inspeccionarse por cualquier posible signo de fuga. A su recepción, se inspeccionará el kit para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
4. Inspeccione la bolsa de aluminio antes de abrirla para comprobar que no presente orificios y esté correctamente sellada.
5. ANTES DEL USO, deje que todos los componentes alcancen la TEMPERATURA AMBIENTE.
6. Los taponeros, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse.

7. No congele los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.
8. La bolsa que contiene el *dispositivo de membrana* debe estar a temperatura ambiente antes de abrirse. Mantenga secos los dispositivos de membrana antes de su uso.
9. Cuando añada los reactivos, sujete los frascos de los reactivos en posición vertical para asegurar que el tamaño de las gotas sea uniforme y el volumen sea correcto.
10. Las muestras y los dispositivos de membrana deben manipularse y eliminarse después del uso como materiales biológicos potencialmente peligrosos. No deben tirarse a la basura. Utilice guantes desechables para realizar la prueba.
11. Los *dispositivos de membrana* no pueden volver a utilizarse.
12. La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. Las alteraciones del procedimiento especificado o de las condiciones de la prueba pueden afectar a su sensibilidad y especificidad. No se desvíe del procedimiento especificado.
13. Preste atención al tiempo total del análisis cuando realice la prueba con más de una muestra fecal. Añada primero el *diluyente* y a continuación añada el *conjugado* a cada tubo de *diluyente*. Después añada la muestra al tubo de *diluyente/conjugado*. Mezcle bien todas las muestras diluidas y, a continuación, transfíralas al *dispositivo de membrana*. El paso de incubación de 15 minutos comienza después de que se haya transferido la última mezcla diluida de muestra y conjugado al *dispositivo de membrana* final.
14. Si el reactivo *sustrato* adquiere un color azul oscuro/violeta, avise al Servicio Técnico para cambiarlo.
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, "Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos".
16. Los reactivos contienen ProClin® 300 al 0,05 % como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo. En caso de irritación o erupción cutánea, consultar a un médico. 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.
17. 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.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS FECALES

Tipos de muestra aceptables	No utilizar
Muestras fecales recientes	Muestras fecales con fijador basado en formol (p. ej., acetato sódico-formol, formol al 10%, mertiolato-formol)
Muestras en medios de transporte (Cary Blair, C&S)	Muestras fecales con fijador basado en alcohol (p. ej., alcohol polivinílico)
Muestras fecales congeladas	Muestras fecales concentradas

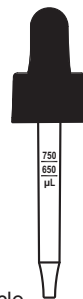
Condiciones de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento recomendado
Muestras frescas conservadas entre 2 °C y 8 °C	96 horas
Muestras almacenadas en medios Cary Blair entre 20 °C y 30 °C	96 horas
Muestras almacenadas en medios C&S entre 20 °C y 30 °C	96 horas

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 ≤ -10 °C. Las muestras fecales que se conservan congeladas pueden descongelarse hasta 5 veces. Si se utilizan muestras congeladas, descongele a temperatura ambiente.
2. Las muestras en medios de transporte pueden conservarse como máximo 96 horas entre 20 °C y 30 °C.
3. NO se recomienda conservar las muestras fecales en el *diluyente*.
4. No permita que las muestras fecales permanezcan en la mezcla de *diluyente/conjugado* durante más de 30 minutos.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

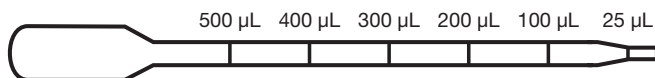
1. Espere hasta que todos los reactivos, las muestras fecales y el número necesario de *dispositivos de membrana* alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos. Se recomienda retirar los reactivos de la tira de espuma para reducir el tiempo necesario para calentarlos a temperatura ambiente.
2. Asigne e identifique un tubo de ensayo pequeño para cada muestra así como controles externos opcionales según sea necesario.
3. **Para las muestras fecales no sometidas a conservación, añada 750 μ l (2.^a marca de graduación desde la punta) de *diluyente* a cada tubo utilizando el cuentagotas graduado negro. En el caso de muestras en medios de transporte Cary Blair o C&S, añada 650 μ l (1.^a marca de graduación desde la punta) de *diluyente* a cada tubo.**

Tipo de muestra	Volumen de <i>diluyente</i>
Muestras fecales frescas o congeladas	750 μ L (2. ^a graduación desde la punta)
Muestras fecales en medios de transporte (Cary Blair, C&S)	650 μ L (1. ^a graduación desde la punta)
Controles externos (positivos y negativos)	750 μ L (2. ^a graduación desde la punta)



4. Añada una gota de *conjugado* (frasco con tapón rojo) a cada tubo. Mezcle suavemente el *conjugado* del frasco invirtiéndolo varias veces antes de añadirlo.
5. Utilice una pipeta de transferencia de plástico desechable (suministrada con el kit) para cada muestra; las pipetas tienen marcas de graduación a 25 μ l, 100 μ l, 200 μ l, 300 μ l, 400 μ l y 500 μ l.

Pipeta de transferencia graduada:



6. **Mezcle completamente todas las muestras, con independencia de su consistencia, ya que es fundamental obtener una suspensión homogénea de las muestras antes de transferirlas.**

Muestras líquidas/semisólidas: pipetee 25 μ l de muestra con una pipeta de transferencia y añádalos a la mezcla de *diluyente/conjugado*. Utilice la misma pipeta de transferencia para mezclar la muestra diluida.

Muestras formadas/sólidas: proceda con cuidado para añadir la cantidad adecuada de heces formadas a la mezcla de la muestra. Mezcle completamente la muestra con una varilla aplicadora de madera y transfiera una parte pequeña (aproximadamente

de 1 mm de diámetro, el equivalente de 25 µl) de la muestra a la mezcla de *diluyente/conjugado*. Emulsione la muestra con la varilla aplicadora.

Muestras fecales en medios de transporte Cary Blair o C&S: pipetee 100 µl (2 gotas de la pipeta de transferencia) de muestra a la mezcla de *diluyente/conjugado*.

NOTA: Si se transfiere una cantidad muy reducida de muestra o si no se mezcla y se suspende completamente la muestra en la mezcla de diluyente/conjugado puede obtenerse un resultado falso negativo en la prueba. Si se añade una cantidad excesiva de heces, pueden obtenerse resultados no válidos o un flujo de muestra bajo.

7. **Muestras opcionales de control externo:**

Se pueden procesar dispositivos de control opcionales en paralelo a las muestras de pacientes.

Control positivo externo: añada una gota de *control positivo* (frasco con tapón gris) a la mezcla de *diluyente/conjugado*.

Control negativo externo: añada 25 µl de *diluyente* a la mezcla de *diluyente/conjugado*.

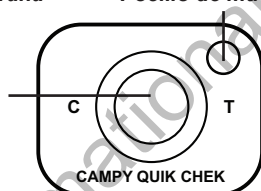
PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Obtenga un *dispositivo de membrana* por muestra y un *dispositivo de membrana* para el control positivo o negativo externo opcional, según sea necesario. Las bolsas de papel de aluminio que contienen los dispositivos deben estar a temperatura ambiente antes de abrirlas. Utilice el dispositivo inmediatamente después de abrir. Etiquete los dispositivos de forma apropiada y orientelos en una superficie plana de forma que el *pocillo de muestra* pequeño se encuentre en la esquina superior derecha del dispositivo.

Dispositivo de membrana

Pocillo de muestra

Ventana de reacción



2. Cierre cada tubo de muestra diluida y mézclelo bien. Puede obtenerse una mezcla adecuada agitando el tubo con el mezclador tipo vórtex durante 5-20 segundos. Tras diluir una muestra de paciente (o el *control positivo*) en la mezcla de *diluyente/conjugado*, puede incubarse a temperatura ambiente durante un máximo 30 de minutos antes de añadirlo al *dispositivo de membrana*.
3. Compruebe que todas las muestras diluidas estén mezcladas completamente antes de añadir las al *dispositivo de membrana*. **Mediante una pipeta de transferencia nueva**, transfiera 500 µl (marca de graduación superior) de la mezcla diluida de muestra y conjugado al *pocillo de muestra* de un *dispositivo de membrana*. Al añadir la muestra al *pocillo de muestra*, compruebe que la punta de la pipeta de transferencia esté dentro del *pocillo de muestra*, formando ángulo hacia la *ventana de reacción*, y asegúrese de expulsar la muestra líquida hacia la almohadilla de absorción del interior del *dispositivo de membrana*.
4. Incube el dispositivo a temperatura ambiente durante 15 minutos; la muestra se absorberá a través del dispositivo y se formará una zona húmeda que se extenderá por toda la *ventana de reacción*.

NOTA PARA LAS MUESTRAS QUE NO MIGRAN:

Ocasionalmente, una muestra diluida no migra adecuadamente y la ventana de reacción no se humedece completamente. Si la ventana de reacción no está totalmente húmeda al cabo de 5 minutos de añadir la muestra al pocillo de muestra, añada 100 µl (2 gotas) de diluyente al pocillo de muestra y espere 5 minutos más (en total, 20 minutos).

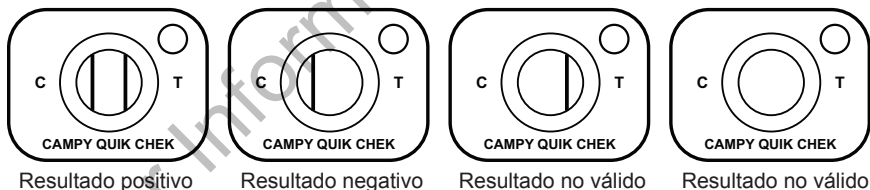
5. Después de la incubación, añada 300 µl de *tampón de lavado* a la *ventana de reacción* utilizando el cuentagotas blanco graduado. Deje que el *tampón de lavado* penetre en la membrana de la *ventana de reacción* y se absorba completamente.

6. Añada 2 gotas de *sustrato* (frasco con tapón blanco) a la **ventana de reacción**. Lea y anote los resultados observados después de 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- La interpretación de la prueba tiene la máxima fiabilidad cuando el dispositivo se lee al final del periodo de reacción de 10 minutos. Lea el dispositivo a una distancia normal en una zona bien iluminada. Mire con una línea de visión directamente sobre el dispositivo.
- Observe si aparece una línea azul vertical en el lado "C" (control) de la *ventana de reacción*, que representa la línea de control positivo interno. La presencia de cualquier línea de control azul representa un control interno válido. El fondo puede mostrarse de color blanco a azul claro. Observe si aparece una línea azul en el lado "T" (test) de la *ventana de reacción*, que representa la línea de análisis. La línea puede presentar una intensidad de tenue a oscura.
- Resultado positivo:** Un resultado positivo puede interpretarse en cualquier momento entre la adición del *sustrato* y el tiempo de lectura de 10 minutos. En un resultado positivo, se observan tanto la línea "T" (test) azul como la línea "C" (control) azul. Las líneas pueden ser débiles o intensas. Una línea parcial claramente visible se interpreta como un resultado positivo. La decoloración de la membrana no debe interpretarse como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia de un antígeno específico de *Campylobacter*.
- Resultado negativo:** Una prueba no puede interpretarse como negativa o no válida hasta 10 minutos después de la adición del *sustrato*. Se observa una sola línea azul vertical en el lado izquierdo de la *ventana de reacción*, junto a la letra "C", y no aparece ninguna línea de análisis en el lado "T" de la *ventana de reacción*. Un resultado negativo en la zona de análisis indica la ausencia del antígeno específico de *Campylobacter* en la muestra o bien su presencia en una concentración inferior al límite de detección de la prueba.
- Resultado no válido:** El resultado de la prueba no es válido si no aparece una línea azul junto a "C" al finalizar el periodo de reacción.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



CONTROL DE CALIDAD

Interno: Debe observarse una línea azul vertical en la parte izquierda de la *ventana de reacción*, junto a la letra "C" (control), en todos los *dispositivos de membrana* analizados. La aparición de la línea azul de control confirma que se han añadido correctamente la muestra y los reactivos, que los reactivos estaban activos durante la realización del análisis y que la mezcla ha migrado adecuadamente a través del *dispositivo de membrana*. Confirma también la reactividad de los otros reactivos asociados al ensayo. Una línea de fondo uniforme en el área de resultados se considera como un control negativo interno.

Externo: La reactividad del kit *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* debe comprobarse a su recepción mediante el *control positivo* y el control negativo (*diluyente*). El *control positivo* se suministra con el kit (frasco con tapón gris). El *control positivo* se utiliza para verificar la reactividad de los demás reactivos del ensayo y su objetivo no es asegurar la precisión en el corte analítico del ensayo. Se utiliza el *diluyente* como control negativo. Pueden realizarse pruebas adicionales con los controles para cumplir los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales y los de los organismos de acreditación.

LIMITACIONES

1. La prueba *CAMPYLOBACTER QUIK 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. Los resultados óptimos de la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK 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.
3. En algunas muestras pueden obtenerse reacciones débilmente positivas. Esto puede deberse a varios factores, como la presencia de concentraciones bajas de antígeno, sustancias fijadoras o enzimas inactivadoras en las heces. Por tanto, las líneas pueden tener una intensidad de tenue a oscura. Estas muestras deben considerarse positivas si se observa cualquier línea azul, aunque sea una línea parcial.
4. Si se transfiere una cantidad insuficiente de muestra, o si esta no se mezcla y se suspende completamente en la mezcla de *diluyente/conjugado*, la prueba puede dar un falso negativo. Si se añade una cantidad excesiva de heces, pueden obtenerse resultados no válidos o un flujo de muestra bajo.
5. No pueden utilizarse muestras fecales conservadas en formol al 10 %, mertiolato-formol, acetato sódico-formol o alcohol polivinílico.
6. La prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* es cualitativa. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
7. No existen datos sobre los efectos de los lavados de colon, enemas de bario, laxantes o preparados intestinales en el funcionamiento de la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™*. Todos estos procedimientos pueden causar una amplia dilución o la presencia de aditivos que pueden afectar al rendimiento del test.
8. 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 QUIK CHEK™*, y, por tanto, si se sospecha que existe infección por *Campylobacter*, deben realizarse pruebas alternativas.

VALORES ESPERADOS

La prueba *CAMPYLOBACTER QUIK 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 QUIK CHEK™* se evaluó en 4 laboratorios independientes. Se recogieron las muestras fecales prospectivas y se analizaron con el método del cultivo y mediante la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™*. La tabla siguiente muestra un resumen del rendimiento clínico de la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* para todos los 4 centros combinados. Los resultados del estudio muestran que la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* tuvo una sensibilidad del 97,1 % 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 QUIK CHEK*TM frente al método del cultivo

N = 1552	Cultivo positivo	Cultivo negativo
<i>CAMPYLOBACTER QUIK CHEK</i> TM Positivo	34	13*
<i>CAMPYLOBACTER QUIK CHEK</i> TM Negativo	1**	1504
		Límites de confianza del 95%
Sensibilidad	97,1%	85,5% - 99,9%
Especificidad	99,1%	98,5% - 99,5%

Las 14 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.

* Nueve de las 13 muestras negativas en el cultivo y positivas en la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM se confirmaron como positivas para *C. jejuni* con todos los métodos de análisis.

Dos de las 13 muestras negativas en el cultivo y positivas en la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM se confirmaron como positivas con el EIA comercial, la RCP interna y la secuenciación bidireccional.

Una de las 13 muestras negativas en el cultivo y positivas en la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM se confirmaron como positivas con un prueba molecular aprobada por la FDA, la RCP interna y la secuenciación bidireccional.

Una muestra negativa en el cultivo y positiva en la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM se confirmó como positiva para *C. upsaliensis* mediante la RCP específica de cada especie y la secuenciación.

** La única muestra positiva en el cultivo y negativa en la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM se confirmó como negativa para *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* con todos los métodos de análisis.

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 en la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM. 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 QUIK CHEK*TM 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 QUIK 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 QUIK 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 bif fermentans</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 ECEI</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli ECEP</i>	<i>Staphylococcus aureus (Cowan)</i>
<i>Escherichia coli ECET</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli O157:H7 (no toxigénica)</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli O157:H7 (toxigénica)</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia hermannii</i>	
Adenovirus tipos 1, 2, 3, 5, 40, 41	Enterovirus 68, 69, 70, 71
Coronavirus humano	Rotavirus humano
Virus de Coxsackie B2, B3, B4, B5	Norovirus
Echovirus 9, 11, 18, 22, 33	

Especies de *Campylobacter* que reaccionaron con la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™*. *C. helveticus* (cepa 54661) fue positiva con un nivel de $3,08 \times 10^6$ UFC/ml (4 x LdD de *C. coli*).

ESTUDIO DE INCLUSIVIDAD

La especificidad de la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK 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 de *C. coli*: 11283, 10956, 17755, 36994, 53138

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

Cepa *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

Las cepas de *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 QUIK 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).

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 *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* en matriz fecal a la que las muestras son positivas en la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* coincide con el límite de detección (LdD) del ensayo el 95 % de las veces.

El límite de detección (LdD) de la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* con muestras fecales sin tratar se estableció en $8,39 \times 10^4$ UFC/ml (1271 UFC/prueba) para *C. jejuni*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en $1,78 \times 10^5$ UFC/ml (2781 UFC/prueba) para *C. jejuni*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ C&S, el LdD se estableció en $7,25 \times 10^4$ UFC/ml (1133 UFC/prueba) para *C. jejuni*.

El límite de detección (LdD) de la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* con muestras fecales sin tratar se estableció en $7,70 \times 10^6$ UFC/ml (11 667 UFC/prueba) para *C. coli*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en $2,22 \times 10^6$ UFC/ml (34 688 UFC/prueba) para *C. coli*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ C&S, el LdD se estableció en $1,56 \times 10^6$ UFC/ml (24 375 UFC/prueba) para *C. coli*.

El límite de detección (LdD) de la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* con muestras fecales sin tratar se estableció en $1,23 \times 10^6$ UFC/ml (18636 UFC/prueba) para *C. lari*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en $3,54 \times 10^6$ UFC/ml (55313 UFC/prueba) para *C. lari*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ C&S, el LdD se estableció en $2,27 \times 10^6$ UFC/ml (35469 UFC/prueba) para *C. lari*.

El límite de detección (LdD) de la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* con muestras fecales sin tratar se estableció en $2,68 \times 10^6$ UFC/ml (40606 UFC/prueba) para *C. upsaliensis*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en $2,43 \times 10^6$ UFC/ml (37969 UFC/prueba) para *C. upsaliensis*. Para muestras en medios de transporte Protocol™ C&S, el LdD se estableció en $5,04 \times 10^6$ UFC/ml (78750 UFC/prueba) para *C. upsaliensis*.

PROZONA

Para asegurar que una concentración elevada de antígeno de *Campylobacter* no interfiere con una reacción positiva en la prueba *CAMPYLOBACTER QUIK 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.

CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ - DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Der *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Test ist ein Membran-ELISA-Schnelltest für den qualitativen Nachweis eines *Campylobacter*-spezifischen Antigens in menschlichen Stuhlproben. Der *CAMPYLOBACTER QUIK 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 Entwicklungsländer 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 QUIK 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, in weniger als 30 Minuten. Zudem ist die Lebensfähigkeit der Bakterien nicht ausschlaggebend für den *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Test und er kann auf dem Arbeitstisch mit Proben durchgeführt werden, die der Luft ausgesetzt wurden.

TESTPRINZIP

Der *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Test stützt sich auf Antikörper, die ein *Campylobacter*-spezifisches Antigen erkennen. Die Testkarte verfügt über ein *Reaktionsfenster* mit zwei vertikalen Linien aus immobilisierten Antikörpern. Die Testlinie („T“) enthält Antikörper gegen ein *Campylobacter*-spezifisches Antigen. Die Kontrolllinie („C“) enthält Anti-IgG-Antikörper. Das *Konjugat* besteht aus an Meerrettich-Peroxidase gebundenen Antikörpern gegen ein *Campylobacter*-spezifisches Antigen. Zur Durchführung des Tests wird eine Stuhlprobe einem Reagenzglas mit einer Mischung aus *Verdünnungspuffer* und *Konjugat* hinzugefügt. Die verdünnte Proben-Konjugat-Mischung wird in die *Probenvertiefung* gegeben

und die Testkarte bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Während der Inkubation binden die in der Probe vorhandenen *Campylobacter*-spezifischen Antigene an das Antikörper-Peroxidase-Konjugat. Die Antigen-Antikörper-Komplexe migrieren durch ein Filterpad zu einer Membran, wo sie von den immobilisierten Anti-*Campylobacter*-Antikörpern auf der Linie eingefangen werden. Anschließend wird das *Reaktionsfenster* mit *Waschpuffer* gewaschen und *Substrat* zugegeben. Nach einer 10-minütigen Inkubation wird die „T“-Reaktion mittels Sichtkontrolle auf das Erscheinen einer vertikalen blauen Linie untersucht. Eine blaue Linie weist auf einen positiven Test hin. Eine positive „C“-Reaktion, angezeigt durch eine vertikale blaue Linie, bestätigt, dass die Probe und Reagenzien korrekt hinzugefügt wurden, die Reagenzien während des Testverlaufs aktiv waren und eine korrekte Probenmigration durch die *Testkarte* stattgefunden hat. Sie bestätigt zudem die Reaktivität der anderen Testreagenzien und dass die Ergebnisse gültig sind.

PACKUNGSINHALT

MEM | DEV

Testkarten – 25 Stk. Jeder Beutel enthält 1 Testkarte

CONJ | ENZ

Konjugat (2,5 mL) – Antikörper gegen ein *Campylobacter*-spezifisches Antigen, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, in einer gepufferten Proteinlösung (mit 0,05 % ProClin® 300)*

DIL | SPE

Verdünnungspuffer (22 mL) – Gepufferte Proteinlösung mit graduiertem Tropfer (enthält 0,05 % ProClin® 300)*

CONTROL | +

Positive Kontrolle (2 mL) – *Campylobacter*-spezifisches Antigen in einer gepufferten Proteinlösung (mit 0,05 % ProClin® 300)*

WASH | REAG

Waschpuffer (12 mL) – Gepufferte Lösung mit graduiertem Tropfer (enthält 0,05 % ProClin® 300)*

SUBS | REAG

Substrat (3,5 mL) – Lösung mit Tetramethylbenzidin

Graduierte Einweg-Kunststoffpipetten – 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL und 500 µL

*(enthält 0,05% ProClin® 300)

Signalwort: Warnung

H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen

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



ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT ENHALTEN)

Applikatorstäbchen

Timer

Pipettierer und Pipettenspitzen

Vortex-Schüttler

Einweghandschuhe zur Handhabung der Stuhlproben

Kleine Reagenzgläser (z. B. Eppendorf-Reagenzgläser aus Kunststoff oder Glas)

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum des Kits ist auf dem Kit-Etikett 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. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen oder miteinander vertauschen. Verwenden Sie das Testkit oder einen seiner Bestandteile nicht nach dem Verfallsdatum.
3. Sämtliche Bestandteile des Kits müssen auf Anzeichen für Undichtigkeit untersucht werden. Bei Erhalt des Kits muss sichergestellt werden, dass die Bestandteile nicht wegen unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind.
4. Kontrollieren Sie den Folienbeutel, um sicherzustellen, dass er keine Löcher aufweist und ordnungsgemäß versiegelt ist.
5. Lassen Sie alle Bestandteile VOR DER VERWENDUNG RAUMTEMPERATUR annehmen!

6. Verschlüsse, Spitzen und Tropfer sind farbkodiert; NICHT vertauschen!
7. Reagenzien nicht einfrieren. Das Kit muss zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.
8. Der Beutel mit der *Testkarte* muss vor dem Öffnen Raumtemperatur angenommen haben. Testkarten vor Gebrauch trocken lagern.
9. Halten Sie die Reagenzflaschen bei der Reagenzienaussgabe senkrecht, um eine einheitliche Tropfengröße und korrekte Menge sicherzustellen.
10. Proben und Testkarten nach dem Gebrauch als potenzielle biologische Gefahrstoffe behandeln und entsorgen. Nicht über den Mülleimer entsorgen. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
11. Die *Testkarten* dürfen nicht wiederverwendet werden.
12. Der Test wurde hinsichtlich seiner Sensitivität und Spezifität optimiert. Abweichungen vom angegebenen Verfahren und/oder Änderungen der Testbedingungen können die Sensitivität und Spezifität des Tests beeinflussen. Halten Sie sich genau an die Anweisungen.
13. Achten Sie beim Testen mehrerer Stuhlproben auf die Gesamttestzeit. Geben Sie zuerst den *Verdünnungspuffer*, dann das *Konjugat* in jedes Reagenzglas mit *Verdünnungspuffer* hinzu. Geben Sie hierauf die Probe in das Reagenzglas mit *dem Verdünnungspuffer/ Konjugat*. Mischen Sie die verdünnten Proben gründlich durch und übertragen Sie diese dann auf die *Testkarte*. Der 15-minütige Inkubationsschritt beginnt nach Übertragung der letzten verdünnten Proben-Konjugat-Mischung auf die letzte *Testkarte*.
14. Sollte das *Substratreagens* eine dunkelblaue/violette Färbung annehmen, wenden Sie sich bitte an den Kundendienst für einen Ersatz.
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. Die Reagenzien enthalten 0,05 % ProClin® 300 als Konservierungsstoff. Auch wenn die Konzentration gering ist, ist ProClin® 300 als schädlich bekannt. Bei Hautreizung oder -rötung, 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.
17. Befolgen Sie alle geltenden nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung. Nicht zum Hausmüll geben, als gefährlichen Abfall entsorgen.

ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG VON STUHLPROBEN

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

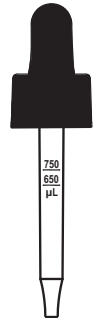
Lagerungsbedingungen	Empfohlene Lagerungszeit
Frische Proben bei Lagerung zwischen 2°C und 8°C	96 Stunden
Proben in Cary Blair Medien bei Lagerung zwischen 20°C und 30°C	96 Stunden
Proben in C&S Medien bei Lagerung zwischen 20°C und 30°C	96 Stunden

- 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.
- Proben in Transportmedien können bis zu 96 Stunden zwischen 20°C und 30°C gelagert werden.
- Stuhlproben sollten NICHT im *Verdünnungspuffer* gelagert werden.
- Lassen Sie die Stuhlproben nie länger als 30 Minuten in der *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung.

VORBEREITUNG DER PROBEN

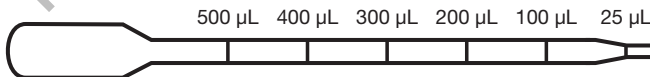
- Lassen Sie alle Reagenzien, Stuhlproben und die erforderliche Anzahl von Testkarten vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen. Es empfiehlt sich, die Reagenzien aus dem Schaumstoffeinsatz zu nehmen, um die Aufwärmzeit zu verkürzen.
- Benutzen Sie für jede Stuhlprobe und zusätzliche externe Kontrolle ein eigenes kleines Reagenzglas und beschriften Sie es.
- Nicht konservierte Stuhlproben:** Geben Sie mithilfe des geeichten schwarzen Tropfers 750 μL (2. Markierung von der Spitze weg) *Verdünnungspuffer* in jedes Reagenzglas. **Proben in Cary Blair oder C&S Transportmedien:** Geben Sie 650 μL (1. Markierung von der Spitze weg) *Verdünnungspuffer* in das Reagenzglas.

Probentyp	Menge <i>Verdünnungspuffer</i>
Frische oder gefrorene Stuhlproben	750 μL (2. Markierung von der Spitze weg)
Proben in Transportmedien (Cary Blair, C&S)	650 μL (1. Markierung von der Spitze weg)
Externe Kontrollen (positive und negative)	750 μL (2. Markierung von der Spitze weg)



- Fügen Sie jedem Reagenzglas einen Tropfen *Konjugat* (Flasche mit rotem Verschluss) hinzu. Mischen Sie das *Konjugat* vorsichtig, indem Sie die Flasche mehrmals umdrehen.
- Nehmen Sie eine Einweg-Kunststoffpipette (im Lieferumfang enthalten) für jede Probe – die Pipetten sind auf 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL und 500 μL geeicht.

Graduierte Transferpipette:



- Mischen Sie alle Proben unabhängig von ihrer Konsistenz gründlich durch – eine gleichmäßige Suspension der Proben vor dem Übertragen ist unbedingt erforderlich.**

Flüssige/halbfeste Probe – Pipettieren Sie 25 μL Probe mit einer Transferpipette in die Mischung aus *Verdünnungspuffer/Konjugat*. Benutzen Sie dieselbe Transferpipette zum Mischen der verdünnten Probe.

Feste Stuhlproben– Achten Sie genau darauf, dass Sie der Probenmischung die korrekte Stuhlmenge beifügen. Mischen Sie die Probe gründlich mithilfe eines Holzstäbchens durch, und übertragen Sie eine kleine Probenmenge (ca. 1 mm

Durchmesser, entspricht der Menge von 25 µL) in die *Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung*. Emulgieren Sie die Probe mit dem Applikatorstäbchen.

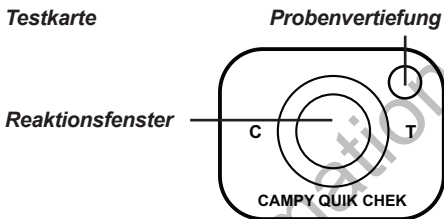
Proben aus Cary Blair oder C&S -Transportmedien- Pipettieren Sie 100 µL (2 Tropfen aus der Transferpipette) Probe in die *Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung*.

BITTE BEACHTEN: *Ist die übertragene Probenmenge zu gering oder wird die Probe in der Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung nicht ausreichend gemischt und vollständig suspendiert, kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Eine zu große Stuhlprobenmenge kann zu ungünstigen Ergebnissen oder beeinträchtigtem Probenfluss führen.*

- 7. Externe Kontrollproben (optional):** Optionale Kontrollen können mit den Patientenproben mitgeführt werden.
Externe Positive Kontrolle – geben Sie einen Tropfen *Positive Kontrolle* (Flasche mit grauem Verschluss) in die Mischung aus *Verdünnungspuffer/Konjugat*.
Externe Negative Kontrolle – geben Sie 25 µL *Verdünnungspuffer* in die Mischung aus *Verdünnungspuffer/Konjugat*.

TESTVERFAHREN

- Nehmen Sie eine *Testkarte* pro Probe und eine Testkarte für die zusätzliche externe positive oder negative Kontrolle (optional) zur Hand. Die Folienbeutel mit den Testkarten müssen vor dem Öffnen auf Raumtemperatur gebracht werden. Verwenden Sie die Testkarte sofort nach dem Öffnen. Beschriften Sie jede Karte ordnungsgemäß und legen Sie diese so auf eine flache Oberfläche, dass sich die kleine *Probenvertiefung* in der rechten oberen Ecke der Karte befinden.



- Verschließen Sie alle Reagenzgläser mit den verdünnten Proben und mischen Sie gründlich. Gründliches Mischen erzielen Sie durch Vortexen des Reagenzglases für 5 -20 Sekunden. Nach der Verdünnung einer Patientenprobe oder *Positiven Kontrolle* in der *Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung* kann diese bei Raumtemperatur bis max. 30 Minuten vor dem Übertragen auf die *Testkarte* inkubiert werden.
- Vergewissern Sie sich, dass jede verdünnte Probe gründlich gemischt wurde, bevor Sie sie auf die *Testkarte* geben. **Übertragen Sie mithilfe einer neuen Transferpipette** 500 µL (oberste Markierung) der verdünnten Proben-Konjugat-Mischung in die **Probenvertiefung** einer *Testkarte*. Achten Sie beim Übertragen der Probe in die *Probenvertiefung* darauf, dass sich die Spitze der Transferpipette in der *Probenvertiefung* befindet und auf das *Reaktionsfenster* zeigt. Stellen Sie dabei sicher, dass die flüssige Probe auf das Wicking-Pad im Inneren der Testkarte gelangt.
- Inkubieren Sie die Testkarte 15 Minuten bei Raumtemperatur – die Probe sickert durch die Karte und eine Feuchtstelle breitet sich im *Reaktionsfenster* aus.

HINWEIS FÜR PROBEN, DIE NICHT MIGRIEREN:

Gelegentlich migriert eine verdünnte Probe nicht richtig und das Reaktionsfenster wird nicht vollständig befeuchtet. Wenn das Reaktionsfenster nicht innerhalb von 5 Minuten nach dem Hinzufügen der Probe in die Probenvertiefung vollständig feucht erscheint, geben Sie 100 µL (2 Tropfen) Verdünnungspuffer in die Probenvertiefung und warten weitere 5 Minuten (insgesamt 20 Minuten lang).

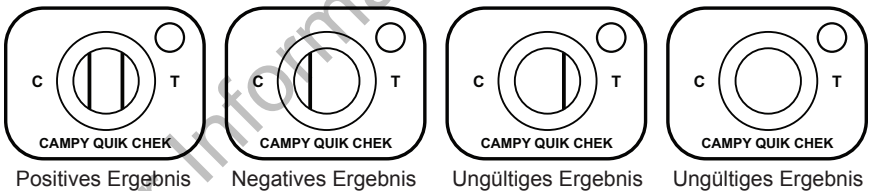
- Nach der Inkubation geben Sie 300 µL *Waschpuffer* in das **Reaktionsfenster**. Verwenden Sie dazu den graduierten weißen Tropfer. Warten Sie, bis der *Waschpuffer* durch die Membran des *Reaktionsfensters* geflossen und vollständig absorbiert ist.

6. Fügen Sie dem **Reaktionsfenster** 2 Tropfen *Substrat* (Flasche mit weißem Verschluss) bei. Ergebnisse nach 10 Minuten visuell ablesen und aufzeichnen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

- Die Auswertung des Tests ist am verlässlichsten, wenn die Ergebnisse sofort nach Ende der zehnmütigen Reaktionszeit abgelesen werden. Lesen Sie die Testkarte bei normalem Arbeitsabstand und in einer gut beleuchteten Umgebung ab. Folgen Sie einer Sichtlinie direkt über der Testkarte.
- Prüfen Sie, ob auf der „C“-Seite (Kontrolle) des *Reaktionsfensters* eine vertikale blaue Linie, die sogenannte interne Positivkontrolllinie, sichtbar ist. Das Erscheinen einer blauen Kontrolllinie gilt als gültige interne Kontrolle. Der Hintergrund erscheint weiß bis hellblau. Prüfen Sie, ob eine blaue Linie auf der „T“-Seite (Test) des *Reaktionsfensters*, die sogenannte Testlinie, sichtbar ist. Die Farbintensität der Linie kann schwach bis stark sein.
- Positives Ergebnis:** Ein positives Ergebnis kann innerhalb des Zeitraums zwischen der Beigabe des *Substrats* und der 10-minütigen Ablesezeit ausgewertet werden. Bei einem positiven Ergebnis sind die blaue „T“-Linie (Test) und die blaue „C“-Linie (Kontrolle) sichtbar. Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein. Eine deutliche Teillinie gilt als positives Ergebnis. Interpretieren Sie eine Membranverfärbung nicht als positives Ergebnis. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass *Campylobacter*-spezifisches Antigen vorhanden ist.
- Negatives Ergebnis:** Ein Test kann erst frühestens 10 Minuten nach der Beigabe des *Substrats* als negativ oder ungültig interpretiert werden. Eine einzelne blaue vertikale Linie ist auf der linken Seite des *Reaktionsfensters*, neben dem „C“, sichtbar und es ist keine Testlinie auf der „T“-Seite des *Reaktionsfensters* sichtbar. Ein negatives Ergebnis im Testbereich zeigt an, dass entweder kein *Campylobacter*-spezifisches Antigen in der Probe vorhanden ist oder der Wert unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt.
- Ungültiges Ergebnis:** Das Testergebnis ist ungültig, wenn neben dem „C“ nach abgeschlossener Reaktion keine blaue Linie sichtbar ist.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE



QUALITÄTSKONTROLLE

Intern: Auf jeder *Testkarte* muss nach dem Test eine vertikale blaue Linie auf der linken Seite des *Reaktionsfensters*, neben dem „C“ (Kontrolle), sichtbar sein. Die blaue Kontrolllinie bestätigt, dass Probe und Reagenzien korrekt zugegeben wurden, dass die Reagenzien während des Testverlaufs aktiv waren und dass eine korrekte Probenmigration durch die *Testkarte* stattgefunden hat. Sie bestätigt zudem die Reaktivität der anderen Testreagenzien. Ein einheitlicher Hintergrund im Ergebnisbereich gilt als interne negative Kontrolle.

Extern: Die Reaktivität des *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Tests muss bei Erhalt mithilfe der *Positiven Kontrolle* und negativen Kontrolle (*Verdünnungspuffer*) überprüft werden. Die *Positive Kontrolle* ist im Kit enthalten (Flasche mit grauem Verschluss). Die *Positive Kontrolle* dient zur Überprüfung der Reaktivität der anderen Testreagenzien und ist nicht zur Bestätigung der Verlässlichkeit beim Cut-off bestimmt. Als negative Kontrolle wird der *Verdünnungspuffer* verwendet. Es können auch weitere Tests mit den Kontrollen durchgeführt werden, um die Anforderungen lokaler, landes- und/oder bundesweiter Vorschriften und/oder von Zertifizierungsbehörden zu erfüllen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Der *CAMPYLOBACTER QUIK 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. Optimale Ergebnisse werden beim *CAMPYLOBACTER QUIK 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.
3. Einige Proben können schwach reagieren. Dies kann auf mehrere Faktoren zurückgeführt werden, wie etwa geringe Antigenkonzentration oder bindende Substanzen bzw. inaktivierende Enzyme im Stuhl. Die Farbintensität der Linien kann daher schwach bis stark sein. Diese Proben sind als positiv aufzuzeichnen, wenn eine blaue Linie beobachtet wird, auch wenn es sich nur um eine Teillinie handelt.
4. Ist die übertragene Probenmenge zu gering oder wird die Probe in der *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung nicht ausreichend gemischt und vollständig suspendiert, kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Eine zu große Stuhlprobenmenge kann zu ungünstigen Ergebnissen oder beeinträchtigtem Probenfluss führen.
5. Stuhlproben, die in 10 % Formalin, Merthiolat-Formalin, Natriumacetat-Formalin oder Polyvinylalkohol konserviert wurden, dürfen nicht verwendet werden.
6. Der *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Test ist qualitativ. Die Farbintensität darf nicht quantitativ interpretiert werden.
7. Es liegen keine Daten zur Wirkung von Darmspülungen, Bariumeinläufen, Laxativen oder Darmpräparationen auf die Leistung des *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Tests vor. Alle diese Verfahren können zu einer signifikanten Verdünnung oder dem Vorhandensein von Zusatzstoffen führen, die sich auf die Testleistung auswirken.
8. Negative Ergebnisse sollten das Vorhandensein von *Campylobacter*-Spezies bei verdächtigen Patienten nicht definitiv ausschließen. Es könnten Konzentrationen des Organismus unter der Nachweisgrenze des *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Tests vorhanden sein. Bei Verdacht auf *Campylobacter* sollten daher alternative Tests durchgeführt werden.

ERWARTUNGSWERTE

Der *CAMPYLOBACTER QUIK 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 QUIK CHEK™* Tests wurde an 4 unabhängigen Standorten beurteilt. Prospektive eingehende Stuhlproben wurden mittels Kultur und dem *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Test getestet. Die folgende Tabelle gibt eine Gesamtübersicht über die klinische Leistung des *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Tests an den 4 Standorten. Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass der *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* Test eine Sensitivität von 97,1% 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 QUIK CHEK™ Test im Vgl. zu Kultur

N = 1552	Kultur positiv	Kultur negativ
CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ Positiv	34	13*
CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ Negativ	1**	1504
95%-Konfidenzgrenzen		
Sensitivität	97,1%	85,5% - 99,9%
Spezifität	99,1%	98,5% - 99,5%

Die 14 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 Molekular-PCR (Nachweis des 16s rRNA-Gens der *Campylobacter* spp. und speziesspezifische Identifizierung) sowie bidirektionale Sequenzierung.

* Neun der 13 Proben, die bei der Kultur negativ und beim **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** Test positiv waren, wurden mit allen Tests als positiv für *C. jejuni* bestätigt.

Zwei der 13 Proben, die bei der Kultur negativ und beim **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** Test positiv waren, wurden im handelsüblichen EIA, der internen PCR sowie bidirektionaler Sequenzierung als positiv bestätigt. Eine der 13 Proben, die bei der Kultur negativ und beim **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** Test positiv waren, wurde mit einem von der FDA zugelassenen handelsüblichen Molekular-PCR sowie bidirektionaler Sequenzierung als positiv bestätigt.

Eine Probe, die bei der Kultur negativ und beim **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** Test positiv war, wurde als positiv für *C. upsaliensis* mittels speziesspezifischer PCR und Sequenzierung bestätigt.

** Jene Probe, die bei der Kultur positiv und beim **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** Test negativ war, wurde in allen Testmethoden als negativ für *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* und *C. upsaliensis* 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 Molekular-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 QUIK 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 QUIK 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 QUIK 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 QUIK 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 bif fermentans</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 EIEC</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli EPEC</i>	<i>Staphylococcus aureus (Cowan's)</i>
<i>Escherichia coli ETEC</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli O157:H7 (nicht-toxigen)</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli O157:H7 (toxigen)</i>	<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 QUIK CHEK™* Test erwiesen. *C. helveticus* (Stamm 54661) erwies sich als positiv bei $3,08 \times 10^6$ CFU/mL ($4 \times \text{LoD}$ von *C. coli*).

INKLUSIVITÄTSSTUDIE

Die Spezifität des *CAMPYLOBACTER QUIK 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* Stämme: 11283, 10956, 17755, 36994, 53138
- C. jejuni* Subspezies *jejuni* Stämme: 11284, 6951, 12081, 29411, 38106
- C. jejuni* Subspezies *doylei* 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

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 QUIK CHEK*TM 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.).

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 QUIK CHEK*TM Test in 95 % der Fälle positiv waren, ist die Nachweisgrenze (LoD) des Tests.

Die Nachweisgrenze (LoD) für den *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM Test mit frischen Stuhlproben wurde bei $8,39 \times 10^4$ CFU/mL (1271 CFU/Test) für *C. jejuni* festgelegt. Für Proben in ProtocolTM Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei $1,78 \times 10^5$ CFU/mL (2781 CFU/Test) für *C. jejuni* festgelegt. Für Proben in ProtocolTM C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei $7,25 \times 10^4$ CFU/mL (1133 CFU/Test) für *C. jejuni* festgelegt.

Die Nachweisgrenze (LoD) für den *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM Test mit frischen Stuhlproben wurde bei $7,70 \times 10^5$ CFU/mL (11667 CFU/Test) für *C. coli* festgelegt. Für Proben in ProtocolTM Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei $2,22 \times 10^6$ CFU/mL (34688 CFU/Test) für *C. coli* festgelegt. Für Proben in ProtocolTM C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei $1,56 \times 10^6$ CFU/mL (24375 CFU/Test) für *C. coli* festgelegt.

Die Nachweisgrenze (LoD) für den *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM Test mit frischen Stuhlproben wurde bei $1,23 \times 10^6$ CFU/mL (18636 CFU/Test) für *C. lari* festgelegt. Für Proben in ProtocolTM Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei $3,54 \times 10^6$ CFU/mL (55313 CFU/Test) für *C. lari* festgelegt. Für Proben in ProtocolTM C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei $2,27 \times 10^6$ CFU/mL (35469 CFU/Test) für *C. lari* festgelegt.

Die Nachweisgrenze (LoD) für den *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM Test mit frischen Stuhlproben wurde bei $2,68 \times 10^6$ CFU/mL (40606 CFU/Test) für *C. upsaliensis* festgelegt. Für Proben in ProtocolTM Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei $2,43 \times 10^6$ CFU/mL (37969 CFU/Test) für *C. upsaliensis* festgelegt. Für Proben in ProtocolTM C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei $5,04 \times 10^6$ CFU/mL (78750 CFU/Test) für *C. upsaliensis* festgelegt.

PROZONENEFFEKT

Um eine Interferenz hoher *Campylobacter*-Antigenkonzentrationen mit einer positiven Reaktion im *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM Test auszuschließen, wurden stark positive 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.

CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ - FRANÇAIS

UTILISATION PRÉVUE

CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ est un immunodosage enzymatique rapide de la membrane, pour une détection qualitative de l'antigène spécifique de *Campylobacter* dans les échantillons de selles humains. Le test **CAMPYLOBACTER QUIK 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 QUIK CHEK™** permet de détecter les espèces *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, qui sont les bactéries plus communément associées aux maladies chez l'homme, en moins de 30 minutes. En outre, le test **CAMPYLOBACTER QUIK 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 QUIK CHEK™** utilise des anticorps capables de reconnaître l'antigène spécifique à *Campylobacter* dans les échantillons de selles humains. Le dispositif comporte une *Fenêtre de réaction* avec deux bandes verticales d'anticorps immobilisés. La bandelette du test (« T ») comporte des anticorps contre l'antigène spécifique de *Campylobacter*. La bandelette de contrôle (« C ») contient des anticorps anti-IgG. Le *Conjugué* est composé d'anticorps contre l'antigène spécifique de *Campylobacter* conjugués à de la peroxydase de raifort. Pour réaliser le test, un échantillon de selles est ajouté à un tube contenant un mélange de *Diluant* et de *Conjugué*. Le mélange conjugué-échantillon

dilué est placé dans le *Micropuits d'échantillon* et le dispositif est soumis à une période d'incubation de 15 minutes à température ambiante. Pendant l'incubation, les antigènes spécifiques de *Campylobacter* contenus dans l'échantillon se mélangent avec le conjugué peroxydase-anticorps. Les complexes antigène-anticorps migrent à travers une rondelle filtrante vers une membrane où ils sont capturés par les anticorps anti-*Campylobacter* immobilisés sur la bande. La *Fenêtre de réaction* est ensuite lavée avec un *Tampon de lavage* puis remplie de *Substrat*. Au bout de 10 minutes d'incubation, la réaction « T » et l'apparition d'une ligne bleue verticale sont observées. Une ligne bleue indique un test positif. Une réaction « C » positive indiquée par une bande verticale bleue contrôle/confirme que l'échantillon et des réactifs ont été ajoutés correctement, que les réactifs étaient actifs au moment du test et que l'échantillon a correctement migré à travers le *Dispositif à membrane*. Il confirme la réactivité des autres réactifs associés au test et la validité des résultats.

MATÉRIEL FOURNI

MEM	DEV
CONJ	ENZ

Dispositifs à membrane – 25, un sachet contient 1 dispositif
Conjugué (2,5 mL) – Anticorps contre l'antigène spécifique de *Campylobacter* conjugués à de la peroxydase de raifort dans une solution tamponnée et protéinée (contient du ProClin® 300 à 0,05 %)*

DIL	SPE
-----	-----

Diluant (22 mL) – Solution tamponnée et protéinée avec compte-gouttes gradué (contient du ProClin® 300 à 0,05 %)*

CONTROL	+
---------	---

Contrôle positif (2 mL) – Antigène spécifique de *Campylobacter* dans une solution tamponnée et protéinée (contient du ProClin® 300 à 0,05 %)*

WASH	REAG
------	------

Tampon de lavage (12 mL) – Solution tamponnée avec compte-gouttes gradué (contient du ProClin® 300 à 0,05 %)*

SUBS	REAG
------	------

Substrat (3,5 mL) – Solution contenant du tétraméthylbenzidine

Pipettes de transfert en plastique jetables – Graduées à 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL et 500 µL

*(contient 0,05 % de ProClin® 300)

Mention d'avertissement : Avertissement

H317: Peut provoquer une allergie cutanée

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



MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENTS NÉCESSAIRES, MAIS NON FOURNIS

Écouvillons

Minuteur

Pipeteur et embouts

Agitateur vortex

Gants jetables pour manipuler les échantillons de selles

Petits tubes à essai (par exemple, des tubes en plastique ou en verre Eppendorf)

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration du kit est indiquée sur son étiquette. 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 replacé dans les conditions de stockage prévues peu après son utilisation.

PRÉCAUTIONS

1. Rx uniquement – Uniquement sur ordonnance.
2. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés ou échangés. Ne pas utiliser de kit ou de composant dont la date d'expiration serait dépassée.
3. Contrôler tous les éléments du kit afin de vérifier l'absence de fuites. Examiner le kit dès la réception afin de vérifier que les éléments ne sont ni congelés ni chauds au toucher en raison de conditions de transports inadéquates.
4. Inspecter le sachet avant de l'ouvrir, pour vérifier qu'il n'est pas perforé et que son étanchéité a été préservée.
5. Placer tous les composants à TEMPÉRATURE AMBIANTE AVANT UTILISATION !
6. Les capsules, les embouts et les compte-gouttes sont classés par couleur. Ne PAS les mélanger !

7. Ne pas congeler les réactifs. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.
8. Le sachet contenant le *Dispositif à membrane* doit être à température ambiante avant ouverture. Maintenir les dispositifs à membranes au sec avant de les utiliser.
9. Verser les réactifs en tenant les flacons verticalement de façon à instiller une goutte de taille adéquate et un volume qui convient.
10. Après leur utilisation, les échantillons et les dispositifs à membranes doivent être manipulés et jetés de la même façon que des matières présentant un danger biologique. Ne pas jeter avec les déchets ménagers. S'équiper de gants jetables pendant le test.
11. *Les dispositifs à membranes* ne peuvent pas être réutilisés.
12. Le test a été optimisé dans le sens de la sensibilité et de la spécificité. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test. Procéder conformément à la procédure spécifiée.
13. Surveiller la durée totale de l'analyse si plusieurs échantillons de selles sont testés. Ajouter d'abord le *Diluant*, puis le *Conjugué* dans chaque tube de *Diluant*. Introduire ensuite l'échantillon dans le tube de *Diluant/Conjugué*. Mélanger soigneusement tous les échantillons dilués puis les transférer dans le *Dispositif à membrane*. L'étape d'incubation de 15 minutes commence dès que le dernier mélange conjugué-échantillon dilué est transféré sur le dernier *Dispositif à membrane*.
14. Si le *Substrat* prend une couleur bleu foncé/violet, appeler les services techniques pour procéder à un remplacement.
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. Les réactifs contiennent du ProClin® 300 à 0,05 % comme conservateur. Même si la concentration est faible, le ProClin® 300 est connu pour sa nocivité. En cas d'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.
17. 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.

PRÉLÈVEMENT, MANIPULATION ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES

Types d'échantillons acceptables	Ne pas utiliser
Échantillons de selles frais	Échantillons de selles fixés au formol (par ex. formol à base d'acétate de sodium, formol à 10 %, formol thimérosal)
Échantillons dans un milieu de transport (Cary Blair, C&S)	Échantillons de selles fixés à l'alcool (p. ex. alcool de polyvinyle)
Échantillons de selles congelés	Échantillons de selles concentrés

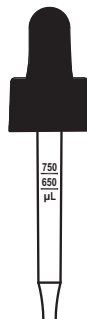
Conditions de stockage	Durée de conservation recommandée
Échantillons frais stockés entre 2 °C et 8 °C	96 heures
Échantillons stockés dans un milieu Cary Blair entre 20 °C et 30 °C	96 heures
Échantillons stockés dans un milieu C&S entre 20 °C et 30 °C	96 heures

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 ≤ -10 °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. Ne pas laisser les échantillons de selles dans le mélange *Diluant/Conjugué* pendant une période supérieure à 30 minutes.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

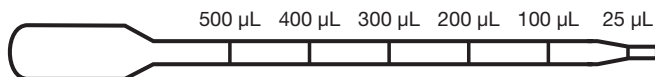
1. Placer tous les réactifs, les échantillons de selles et le nombre de *dispositifs à membrane* nécessaires à température ambiante avant de les utiliser. Il est recommandé d'éliminer les réactifs du coussin en mousse afin de réduire le temps nécessaire au réchauffement à température ambiante.
2. Préparer et étiqueter un petit tube à essai pour chaque échantillon et pour chaque contrôle supplémentaire externe.
3. **Pour les échantillons de selles non préservés, ajouter 750 μ L (2^e graduation depuis l'extrémité) de *Diluant* à l'aide du compte-gouttes gradué noir. Pour les échantillons en milieu de transport Cary Blair ou C&S, ajouter 650 μ L (1^{re} graduation depuis l'extrémité) de *Diluant* dans chaque tube.**

Type d'échantillon	Volume de <i>Diluant</i>
Échantillons de selles frais ou congelés	750 μ L (2 ^e me graduation depuis l'extrémité)
Échantillons en milieu de transport (Cary Blair, C&S)	650 μ L (1 ^{re} me graduation depuis l'extrémité)
Contrôles externes (positifs et négatifs)	750 μ L (2 ^e me graduation depuis l'extrémité)



4. Ajouter une goutte de *Conjugué* (bouteille à capsule rouge) dans chaque tube. Mélanger doucement le *Conjugué* dans la bouteille en la retournant plusieurs fois avant de l'ajouter.
5. Prendre une pipette de transfert jetable en plastique (fournie avec le kit) pour chaque échantillon – les pipettes présentent des graduations en relief à 25 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 400 μ L et 500 μ L.

Pipette de transfert graduée :



6. **Mélanger complètement tous les échantillons indépendamment de leur consistance. Les échantillons doivent tous être parfaitement suspendus avant le transfert.**

Échantillons liquides ou semi-solides – Prélever 25 μ L d'échantillon à l'aide d'une pipette de transfert et les transférer dans le mélange de *Diluant/Conjugué*. Utiliser la même pipette de transfert pour mélanger l'échantillon dilué.

Échantillons formés ou solides – Veiller à ajouter la quantité adéquate d'échantillons de selles au mélange témoin. Mélanger complètement l'échantillon à l'aide d'un écouvillon en bois et transférer un petit fragment (de 1 mm de diamètre environ, équivalent à 25 µL) de l'échantillon dans le mélange *Diluant/Conjugué*. Émulsionner l'échantillon à l'aide de l'écouvillon.

Échantillons de selles en milieu de transport Cary Blair ou C&S – Prélever 100 µL (2 gouttes de la pipette de transfert) d'échantillon et les introduire dans le mélange de *Diluant/Conjugué*.

REMARQUE : si le fragment transféré est trop petit, si le mélange est défectueux ou si l'échantillon n'est pas complètement suspendu dans le mélange *Diluant/Conjugué*, les résultats obtenus peuvent se révéler faussement négatifs. Une trop grande quantité de selles peut donner des résultats nuls ou entraîner un débit limité.

7. Échantillons de contrôle externes facultatifs :

Les dispositifs de contrôle facultatifs peuvent être analysés en même temps que les échantillons des patients.

Contrôle positif externe – Ajouter une goutte de *Contrôle positif* (bouteille à capsule grise) dans le mélange *Diluant/Conjugué*.

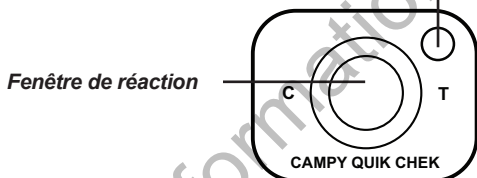
Contrôle négatif externe – Ajouter 25 µL de *Diluant* dans le mélange *Diluant/Conjugué*.

PROCÉDURE DE TEST

1. Prendre un *Dispositif à membrane* par échantillon et un *Dispositif à membrane* par contrôle facultatif externe positif ou négatif. Les sachets en aluminium contenant les dispositifs doivent être portés à température ambiante avant ouverture. Utiliser le dispositif immédiatement après ouverture. Étiqueter chaque dispositif correctement et l'orienter sur une surface plane de sorte que le petit *Micropuits d'échantillon* se trouve dans l'angle supérieur droit du dispositif.

Dispositif à membrane

Micropuits d'échantillon



2. Fermer chaque tube d'échantillon dilué et mélanger complètement. Pour obtenir un mélange approprié, procéder par agitation du tube pendant 5 à 20 secondes. Dès qu'un échantillon de patient ou un *Contrôle positif* a été dilué dans le mélange *Diluant/Conjugué*, il peut être incubé à température ambiante jusqu'à 30 minutes avant d'être ajouté au *Dispositif à membrane*.
3. Vérifier que chaque échantillon dilué est complètement mélangé avant de l'ajouter au *Dispositif à membrane*. **À l'aide d'une pipette de transfert neuve**, transférer 500 µL (la graduation supérieure) du mélange dilué échantillon-conjugué dans le ***Micropuits d'échantillon*** d'un *Dispositif à membrane*. Lors de l'ajout au *Micropuits d'échantillon*, vérifier que la pointe de la pipette de transfert se trouve à l'intérieur du *Micropuits d'échantillon* et soit inclinée vers la *Fenêtre de réaction*, en veillant à bien expulser l'échantillon liquide sur la garniture perméable située à l'intérieur du *Dispositif à membrane*.
4. Laisser incuber le dispositif à température ambiante pendant 15 minutes – L'échantillon sera absorbé par le dispositif et une zone humide apparaîtra dans la *Fenêtre de réaction*.

NOTE CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS NE MIGRANT PAS :

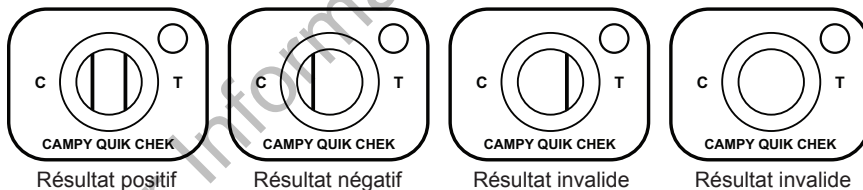
L'échantillon dilué ne parvient pas toujours à migrer correctement. Dans ce cas, la Fenêtre de réaction n'est que partiellement humidifiée. Si la Fenêtre de réaction ne semble pas complètement humidifiée dans les 5 minutes suivant l'ajout de l'échantillon dans le Micropuits d'échantillon, verser 100 µL (2 gouttes) de Diluant dans le Micropuits d'échantillon puis attendre 5 minutes de plus (soit 20 minutes au total).

- Après incubation, ajouter 300 µL de *Tampon de lavage* à la **Fenêtre de réaction** à l'aide du compte-gouttes blanc gradué dans la Fenêtre de réaction. Laisser le *Tampon de lavage* pénétrer la *Fenêtre de réaction* et veiller à ce qu'il soit complètement absorbé.
- Verser 2 gouttes de *Substrat* (bouteille à capsule blanche) dans la **Fenêtre de réaction**. Lire et consigner les résultats visuels observés au bout de 10 minutes.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- L'interprétation du test est plus fiable lorsque le dispositif est lu immédiatement à la fin de la période de réaction de 10 minutes. Lire le dispositif à une distance normale dans une pièce bien éclairée en regardant directement le dessus du dispositif à la verticale.
- Observer l'apparition d'une ligne bleue verticale du côté « C » (Contrôle) de la *Fenêtre de réaction* : c'est la bandelette de contrôle positif interne. L'apparition d'une bande de contrôle bleue représente un contrôle interne valide. Le fond peut apparaître blanc à bleu clair. Observer l'apparition d'une ligne bleue du côté « T » (Test) de la *Fenêtre de réaction* : c'est la bandelette de test. La bande peut présenter une couleur très claire à très foncée.
- Résultat positif** : Un résultat positif peut être interprété à tout moment entre l'adjonction de *Substrat* et le temps de lecture (10 minutes). La bande bleue « T » (Test) et la bande bleue « C » (Contrôle) sont visibles pour les résultats positifs. Les bandes peuvent présenter une couleur claire à foncée. Une ligne partielle évidente est interprétée comme résultat positif. La décoloration de la membrane ne peut pas être interprétée comme un résultat positif. Un résultat positif indique la présence d'antigène spécifique de *Campylobacter*.
- Résultat négatif** : les tests ne peuvent pas être interprétés comme négatifs ou invalides moins de 10 minutes après l'adjonction du *Substrat*. Une seule ligne verticale bleue est visible du côté gauche de la *Fenêtre de réaction*, en regard du « C », et aucune bandelette de test n'est visible du côté « T » de la *Fenêtre de réaction*. Un résultat négatif dans la zone de test indique soit l'absence d'antigène spécifique de *Campylobacter* dans l'échantillon, soit une présence à une concentration inférieure à la limite de détection du test.
- Résultat invalide** : le résultat du test est invalide si aucune ligne de contrôle bleue n'est visible en regard du « C » à l'issue de la période de réaction.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS



CONTRÔLE DE QUALITÉ

Interne : une bande bleue verticale doit être visible sur le côté gauche de la *Fenêtre de réaction*, en regard du « C » (Contrôle), pour chaque *Dispositif à membrane* utilisé.

L'apparition de la bandelette de contrôle bleue confirme que l'échantillon et les réactifs ont été correctement ajoutés, que les réactifs étaient actifs au moment de la réalisation de l'essai et que l'échantillon a bien migré via le dispositif à membrane. Il confirme la réactivité des autres réactifs associés au test. Un fond uniforme dans la zone des résultats est considéré comme un contrôle interne négatif.

Externe : la réactivité du kit *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* doit être vérifiée dès réception à l'aide du *Contrôle positif* et du contrôle négatif (*Diluant*). Le *Contrôle positif* est fourni avec le kit (bouteille à capsule grise). Le *Contrôle positif* permet de confirmer la réactivité des autres réactifs associés à l'essai, mais il ne permet pas de garantir la précision à la limite de détection de l'essai analytique. Le *Diluant* est utilisé pour le contrôle négatif. Des tests supplémentaires peuvent être réalisés à l'aide des contrôles pour répondre aux exigences des réglementations locales, nationales et/ou fédérales et/ou des organismes d'accréditation.

LIMITES

1. Le test *CAMPYLOBACTER QUIK 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. Le test *CAMPYLOBACTER QUIK 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.
3. Certains échantillons peuvent entraîner des réactions faibles. Ce phénomène peut découler d'un certain nombre de facteurs tels que la présence de faibles niveaux d'antigène, la présence de substances anticorps ou la désactivation des enzymes dans les selles. Les bandes peuvent présenter ensuite une couleur claire à foncée. Ces échantillons doivent être rapportés positifs si une ligne bleue ou une ligne partielle est observée.
4. Si le fragment transféré est trop petit, si le mélange est défectueux ou si l'échantillon n'est pas complètement suspendu dans le mélange *Diluant/Conjugué*, les résultats obtenus peuvent se révéler faussement négatifs. Une trop grande quantité de selles peut donner des résultats nuls ou entraîner un débit limité.
5. Les échantillons de selles conservés dans 10 % de formol, de formol thimérosal, dans du formol d'acétate de sodium ou de l'alcool polyvinylique ne peuvent pas être utilisés.
6. Le test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* est un test qualitatif. L'intensité de la couleur ne doit pas être interprétée en termes quantitatifs.
7. 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 QUIK CHEK™*. Toutes ces procédures peuvent provoquer une dilution extensive ou la présence d'adjuvants susceptibles d'affecter la performance du test.
8. 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 QUIK CHEK™*. Par conséquent, si la présence de *Campylobacter* est suspectée, d'autres tests doivent être effectués.

VALEURS MOYENNES

Le test *CAMPYLOBACTER QUIK 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 QUIK 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 QUIK CHEK™*. Le tableau suivant présente un résumé de la performance clinique du test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* pour l'ensemble des 4 sites. Les résultats de l'étude révèlent que le test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™* a présenté une sensibilité de 97,1 % 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.

CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ comparé à une culture bactérienne

N = 1552	Culture positive	Culture négative
CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ Positif	34	13*
CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ Négatif	1**	1504
		Indice de confiance de 95 %
Sensibilité	97,1%	85,5% - 99,9%
Spécificité	99,1%	98,5% - 99,5%

Les 14 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 13 échantillons, 9 échantillons présentant un résultat négatif en culture et un résultat positif avec le test **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** se sont avérés être positifs pour *C. jejuni* avec toutes les méthodes de test. Sur 13 échantillons, 2 échantillons présentant un résultat négatif en culture et un résultat positif avec le test **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** se sont avérés être positifs avec le test immuno-enzymatique commercial, la PCR en interne et le séquençage bidirectionnel.

Sur 13 échantillons, 1 échantillon présentant un résultat négatif en culture et un résultat positif avec le test **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** s'est avéré être positif avec un test moléculaire commercial autorisé par la FDA, la PCR en interne et le séquençage bidirectionnel.

1 échantillon présentant un résultat négatif en culture et un résultat positif avec le test **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** s'est avéré être positif pour *C. upsaliensis* avec la PCR et le séquençage d'identification de l'espèce.

** L'échantillon présentant un résultat positif en culture et un résultat négatif avec le test **CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™** s'est avéré être négatif pour *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* et *C. upsaliensis* avec toutes les méthodes de test.

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 QUIK CHEK™**. 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 QUIK CHEK™** 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 QUIK CHEK™* 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 QUIK 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 bif fermentans</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 EIEC</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli EPEC</i>	<i>Staphylococcus aureus (souche Cowan)</i>
<i>Escherichia coli ETEC</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli O157:H7 (non toxigène)</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli O157:H7 (toxigène)</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia hermannii</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	

Souches de *Campylobacter* ayant montré une réactivité au test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™*. *C. helveticus* (souche 54661) s'est avérée positive à $3,08 \times 10^6$ UFC/mL (4 x la LD de *C. coli*).

ÉTUDE D'INCLUSIVITÉ

La spécificité du test *CAMPYLOBACTER QUIK 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 *C. coli* : 11283, 10956, 17755, 36994, 53138
- Souches *jejuni* sous-espèce *C. jejuni* : 11284, 6951, 12081, 29411, 38106
- Souches *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

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

SUBSTANCES INTERFÉRENTES (FORMULES AMÉRICAINES)

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat positif ou négatif des tests *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM 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).

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 QUIK CHEK*TM ont été utilisées pour décrire la limite de détection du test (LD).

La limite de détection du test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM avec un échantillon de selles brut a été établie à $8,39 \times 10^4$ UFC/mL (1271 UFC/test) pour *C. jejuni*. Pour les échantillons dans un milieu ProtocolTM Cary Blair, la LD a été établie à $1,78 \times 10^5$ UFC/mL (2781 UFC/test) pour *C. jejuni*. Pour les échantillons dans un milieu ProtocolTM C&S, la LD a été établie à $7,25 \times 10^4$ UFC/mL (1133 UFC/test) pour *C. jejuni*.

La limite de détection du test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM avec un échantillon de selles brut a été établie à $7,70 \times 10^5$ UFC/mL (11667 UFC/test) pour *C. coli*. Pour les échantillons dans un milieu ProtocolTM Cary Blair, la LD a été établie à $2,22 \times 10^6$ UFC/mL (34688 UFC/test) pour *C. coli*. Pour les échantillons dans un milieu ProtocolTM C&S, la LD a été établie à $1,56 \times 10^6$ UFC/mL (24375 UFC/test) pour *C. coli*.

La limite de détection du test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM avec un échantillon de selles brut a été établie à $1,23 \times 10^6$ UFC/mL (18 636 UFC/test) pour *C. lari*. Pour les échantillons dans un milieu ProtocolTM Cary Blair, la LD a été établie à $3,54 \times 10^6$ UFC/mL (55 313 UFC/test) pour *C. lari*. Pour les échantillons dans un milieu ProtocolTM C&S, la LD a été établie à $2,27 \times 10^6$ UFC/mL (35 469 UFC/test) pour *C. lari*.

La limite de détection du test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM avec un échantillon de selles brut a été établie à $2,68 \times 10^6$ UFC/mL (40 606 UFC/test) pour *C. upsaliensis*. Pour les échantillons dans un milieu ProtocolTM Cary Blair, la LD a été établie à $2,43 \times 10^6$ UFC/mL (37 969 UFC/test) pour *C. upsaliensis*. Pour les échantillons dans un milieu ProtocolTM C&S, la LD a été établie à $5,04 \times 10^6$ UFC/mL (78 750 UFC/test) pour *C. upsaliensis*.

PROZONE

Pour garantir l'absence d'interférence entre une concentration élevée d'antigène de *Campylobacter* et une réaction positive du test *CAMPYLOBACTER QUIK CHEK*TM, des échantillons hautement positifs 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.

For Informational Use Only

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. Dirita. 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 *Campylobacteria* 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. Hindiyeh 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

© 2019 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

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

All trademarks referenced are trademarks of their respective owners.