

Prueba rápida de *Campylobacter*

(Heces)
CAM 0724/01
REF DMCBR01

Uso deseado

La prueba rápida de *Campylobacter* (heces) es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa del antígeno de *Campylobacter* spp en muestra de heces humanas.

Resumen

La enteritis por *Campylobacter* es una enfermedad zoonótica transmitida por los alimentos y el agua [1, 2]. Mientras que la identificación del agente etiológico generalmente no afecta los resultados del tratamiento, ya que la mayoría de estas infecciones son autolimitadas, el diagnóstico de laboratorio es esencial para los estudios epidemiológicos a través del seguimiento de brotes con la identificación y tipificación de cepas.

El diagnóstico del laboratorio convencional de campylobacteriosis se basa en la recuperación del organismo en especímenes de heces, por cultivo microaerófilo. Las recomendaciones actuales para la recuperación de *Campylobacter* estipula que los cultivos se realicen durante un mínimo de 72 horas antes de confirmar un resultado negativo [3]; sin embargo, la vigilancia de laboratorio reciente en Centros de Control y Prevención para Enfermedades encontró que, en los laboratorios encuestados, el 66% reportó resultados negativos a las 48 horas, mientras que solo el 33% informó resultados negativos después de las 72 horas [4]. En contraste con los métodos de cultivo tradicionales, se requieren métodos más rápidos para la detección del antígeno de *Campylobacter* en heces, como el inmunoensayo enzimático (EIA) y los sistemas de flujo lateral [5].

Principio

La prueba rápida de *Campylobacter* (heces) se basa en el uso de una membrana acoplada con tecnología de conjugación con oro coloidal. En una membrana de nitrocelulosa se imprimen anticuerpo anti-*Campylobacter*. La especificidad de la prueba está asegurada por un anticuerpo específico a un antígeno de *Campylobacter* que se conjuga con nanopartículas de oro coloidal y se encuentra impreso sobre una almohadilla (almohadilla de conjugado).

La muestra fecal se diluye en el buffer que se suministra con la prueba. Cuando la muestra se coloca en la prueba, entra en contacto con el conjugado y comienzan a migrar por capilaridad, posteriormente interactúan con el anticuerpo anti-*Campylobacter* impreso en la línea de prueba (T) de la membrana. Si la muestra contiene el antígeno de *Campylobacter*, se formará un complejo conjugado-antígeno el cual permanecerá unido y será reconocido por el anti-*Campylobacter* presente en la línea de prueba (T) observándose una línea coloreada. Como control de calidad, la línea control (C) siempre deberá aparecer, lo cual se debe a la interacción del anticuerpo de detección conjugado con oro coloidal que al pasar por la línea control (C) es reconocido por el anticuerpo impreso en la zona. De no presentarse la línea control, el resultado de la prueba no es válido y la muestra deberá ser reanalizada.

Reactivos

La prueba contiene partículas acopladas a anticuerpos anti-*Campylobacter* y anticuerpos anti-*Campylobacter* impresos a la membrana.

Precauciones

- Para uso profesional *in vitro*.
- No utilice después de la fecha de caducidad.
- No mezcle componentes de diferentes lotes.
- Siempre analice la muestra inmediatamente después de ser tomada.
- El almacenamiento, transporte o colecta de muestras realizados de forma inadecuada, puede generar resultados falsos negativos.
- No coma, beba o fume en el área donde se manejan las muestras o las pruebas.
- No utilice la prueba si el paquete está dañado.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- Observar las precauciones establecidas contra riesgos microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se analicen.
- Asegúrese de utilizar una cantidad adecuada de muestra para la prueba. Demasiada o muy poca muestra puede conducir a una desviación de los resultados.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las normativas locales para el manejo de residuos peligrosos biológicos-infecciosos.
- La humedad y temperatura pueden afectar negativamente los resultados.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad
- No congele el contenido de la prueba.

Materiales

Materiales suministrados:

- Cartucho de prueba
- Instructivo de uso
- Tubo colector con buffer
- Gotero

Materiales requeridos, pero no suministrados:

- Contenedor para recolección de muestras
- Temporizador

Recolección y almacenamiento de la muestra

La prueba rápida *Campylobacter* debe utilizarse solo con muestras de heces humanas.

- La muestra de heces se debe recoger en un recipiente limpio y seco, resistente al agua que no contiene detergentes, conservantes o medios de transporte.
- Llevar los reactivos necesarios a temperatura ambiente antes de su uso.
- La detección viral se mejora mediante la recolección de las muestras en el inicio de los síntomas. Han informado de que la excreción máxima de rotavirus y adenovirus en las heces de pacientes con gastroenteritis ocurre 3-5 días después del inicio de los síntomas. Si las muestras se recolectan mucho después de la aparición de los síntomas diarreicos, la cantidad de antígeno puede no ser suficiente para obtener una reacción positiva o los antígenos detectados no pueden estar relacionados con el episodio diarreico.
- Los mejores resultados se obtienen si la prueba se realiza dentro de 6 horas después de la recolección. Muestras recolectadas pueden ser almacenadas durante 3 días a 2-8 °C si no se realiza la prueba dentro de 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 °C.

Instrucciones de uso

Permita que la prueba, la muestra y el buffer alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba.

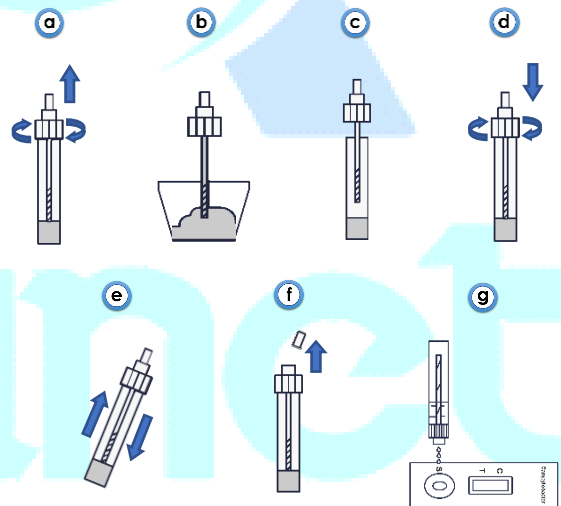
1. Recolección de la muestra:

Recoja cantidad suficiente de heces (1-2 mL o 1-2 g) en un recipiente de recolección de muestras limpio y seco.

2. Procesamiento de la muestra:

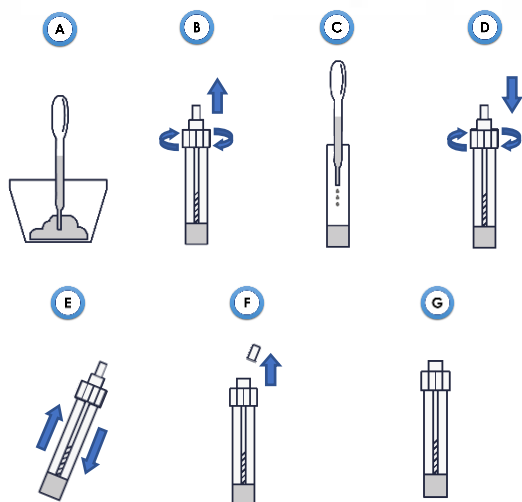
• Para muestras sólidas:

- a. Desenrosque la tapa del tubo colector.
- b. Pinche la muestra con la pala de la tapa del tubo colector. Toque aleatoriamente la muestra en al menos 3 sitios diferentes. Recoger cantidad suficiente de heces (50 mg, equivalente a 1/4 de chicharo).
- c. Coloque la pala dentro del tubo colector.
- d. Cierre perfectamente el tubo colector.
- e. Agite vigorosamente el tubo colector posteriormente déjelo en reposo durante 2 minutos.
- f. Desenrosque la punta del tapón del tubo.
- g. Retire el cartucho de la bolsa y colóquelo en una superficie limpia y plana. Agregue 2 gotas de la muestra preparada (80 µL aproximadamente) en el cartucho e inicie el temporizador.
- h. Espere a que aparezcan la (s) línea (s) e interprete resultados a los 5 minutos. No interprete después de 10 minutos.



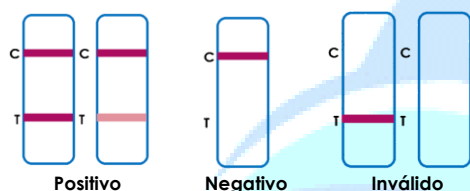
• Para muestras líquidas:

- A. Sostenga el gotero verticalmente, apriete el bulbo y coloque la punta del gotero sobre la muestra, suelte el bulbo para recolectar la muestra.
- B. Desenrosque la tapa del tubo colector.
- C. Transfiera 2 gotas de muestra líquida (50 µL aproximadamente) al tubo colector.
- D. Cierre perfectamente el tubo colector.
- E. Agite vigorosamente el tubo colector posteriormente déjelo en reposo durante 2 minutos.
- F. Desenrosque la punta del tapón del tubo.
- G. Retire el cartucho de la bolsa y colóquelo en una superficie limpia y plana. Agregue 2 gotas de la muestra preparada (80 µL aproximadamente) en el cartucho e inicie el temporizador.
- H. Espere a que aparezcan la (s) línea (s) e interprete resultados a los 5 minutos. No interprete después de 10 minutos.



Nota: Si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue la muestra preparada en el tubo colector, o permita que sedimenten los sólidos. Recolecte 80 µL del sobrenadante y agregue a la prueba en la zona de muestra (S). Inicie el temporizador e interprete resultados según lo descrito.

Interpretación de los resultados



(Refiera a la imagen anterior)

POSITIVO: Aparecen dos líneas. Una línea de color debe estar en la zona de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la zona de la línea de prueba (T).
NOTA: La intensidad del color en la zona de la línea de prueba (T) variará según la concentración de antígenos de *Campylobacter* presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la zona de la línea de prueba (T) debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la zona de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la zona de la línea de prueba (T). Un resultado negativo indica que el antígeno de *Campylobacter* no está presente en la muestra o se encuentra en baja concentración que no es detectable en la prueba.

INVÁLIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

Control de calidad

Un control interno está incluido en la prueba. Una línea roja que aparece en la región de control (C) es el procedimiento del control interno. Confirma que la cantidad de muestra es suficiente y que el procedimiento es correcto. Los controles no se suministran con este kit, sin embargo, se recomienda que un control positivo y un control negativo sean utilizados para confirmar que el procedimiento de prueba y para verificar su rendimiento.

Limitaciones

1. La prueba es cualitativa y no puede indicar la cantidad de antígenos presentes en la muestra.
2. La presentación clínica y otros resultados de las pruebas deben tenerse en cuenta para establecer un diagnóstico.
3. Un resultado positivo o negativo de la prueba no descarta la posibilidad de que otros patógenos puedan estar presentes.
4. Esta prueba es una prueba de detección de fase aguda. Especímenes que se recolectan después de esta fase puede contener títulos de antígeno por debajo del umbral de sensibilidad de la prueba. Si una muestra da negativo, a pesar de los síntomas observados, se requieren más pruebas con métodos alternativos.

Valores esperados

En individuos sanos no infectados, la prueba rápida de *Campylobacter* debe dar un resultado negativo de la prueba. La prueba rápida de *Campylobacter* (heces) ha sido comparada con una técnica de aglutinación de látex. La correlación entre los dos sistemas es del 94,2%.

Características de presentación

Se evaluó el rendimiento de la prueba rápida *Campylobacter* (heces) con 139 especímenes clínicos recolectados de niños comparando con la técnica de aglutinación con látex. Los resultados muestran que la sensibilidad relativa de la prueba rápida de *Campylobacter* (heces) es del 95,2 % y la especificidad relativa es del 93,5 %.

Método		Aglutinación en látex		Total de resultados
Prueba rápida de <i>Campylobacter</i> (heces)	RESULTADO	Positivo (+)	Negativo (-)	
	Positivo (+)	59	5	64
	Negativo (-)	3	72	75
Total de Resultados		62	77	139

Sensibilidad relativa: 95,2 %

Especificidad relativa: 93,5 %

Precisión: 94,2 %

*Intervalos de confianza

(95 % IC*: 86,5 %~99,0 %);

(95 % IC*: 85,5 %~97,8 %);

(95 % IC*: 89,0 %~97,5 %).

Precisión

Intra-ensayo

La precisión dentro de la serie se ha determinado mediante el uso de 3 réplicas de cuatro especímenes: negativos, positivos de concentración baja, positivos de concentración media y positivos de concentración alta. Las muestras se identificaron correctamente >99% de las veces.

Inter-ensayo

La precisión entre determinaciones ha sido evaluada por 3 ensayos independientes en los mismos cuatro especímenes: negativos, positivos de concentración baja, positivos de concentración media y positivos de concentración alta. Tres lotes diferentes de la prueba rápida de *Campylobacter* (heces) han sido probado usando estos especímenes. Los especímenes fueron identificados correctamente >99% de las veces.

Reactividad cruzada

Se ha estudiado la reactividad cruzada con los siguientes organismos a 1,0 x 10⁷ organismos/mL. Los siguientes organismos no mostraron reactividad cruzada cuando se analizaron con la prueba rápida de *Campylobacter* (heces).

<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Echovirus	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>E.coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>Neisseria gonorrhea</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rotavirus	Adenovirus
<i>Salmonella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>H.pylori</i>	<i>Corynebacterium diphtheria</i>	

Referencias

- [1]. Adedayo O, Kirkpatrick BD. 2008. *Campylobacter jejuni* infections: update on presentation, diagnosis, and management. Hosp. Phys. 44:9-15.
- [2]. Allos BM. 2001. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. Clin. Infect. Dis. 32:1201-1206. Garcia L. et al.; Detection of *Campylobacter* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens using the ColorPac combination rapid solid-phase qualitative immunochromatographic assay; Journal of Clinical Microbiology, p.1267-1268, Mar. 2000
- [3]. Garcia LS (ed). 2007. Fecal culture for *Campylobacter* and related species, p 3.8.2.5-3.8.2.14. In Clinical microbiology procedures handbook, 3rd ed. LSG & Associates, Santa Monica, CA. McIver C.J. et al.; Diagnosis of enteric pathogens in children with gastroenteritis; Pathology 33(3): 353-8, Aug. 2001
- [4]. M'ikanatha NM, Dettinger LA, Perry A, Rogers P, Reynolds SM, Nachamkin I. 2012. Culturing stool specimens for *Campylobacter* spp., Pennsylvania, U. S. A. Emerg. Infect. Dis. doi:10.3201/eid1803.111266.MS Wolfe; Giardiasis; Clinical Microbiology Review, Vol5: 93-100, 1992
- [5]. Granato PA, Chen L, Holiday I, Rawling RA, Novak-Weekley SM, Quinlan T, Musser KA. 2010. Comparison of Premier CAMPY enzyme immunoassay (EIA), ProSpecT *Campylobacter* EIA, and ImmunoCard STAT! CAMPY tests with culture for laboratory diagnosis of *Campylobacter* enteric infections. J. Clin. Microbiol. 48:4022- 4027.

Índice de símbolos

	Consultar manual de uso
	Solo para evaluación de desempeño in vitro
	Almacenar entre 2 - 30 °C.
	No utilizar si el paquete está dañado
UPI	Uso para investigación

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
2	No reutilizar