Ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter

REF R2476096 .....96 pruebas **ES**

1. INDICACIONES DE USO

El ensayo de microplaca ProSpecT™ Campylobacter es un inmunoensayo enzimático (EIA) de microplaca IN VITRO para la detección cualitativa del antígeno específico de *Campylobacter* en muestras fecales y cultivos fecales enriquecidos con caldo. El ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter está indicado para facilitar el diagnóstico de las infecciones por *Campylobacter*.

2. RESUMEN

La bacteria enteropatógena *Campylobacter jejuni* está reconocida como uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea aguda en humanos[1,2,3]. Es la principal causa de diarrea bacteriana en EE.UU., y supera a la *Salmonella* y a la *Shigella* juntas[4,5]. Aunque la enfermedad está presente en todo el mundo, es especialmente grave en los países en vías de desarrollo. Las infecciones por *Campylobacter jejuni* causan diarrea, que puede ser acuosa y contener sangre, habitualmente oculta, y leucocitos fecales[6]. Otros síntomas incluyen fiebre, dolor abdominal, náuseas, cefalea y dolor muscular. La enfermedad se manifiesta de 2 a 5 días después de la ingestión de alimentos o agua contaminados, y puede durar de 7 a 10 días. La mayoría de las infecciones remiten espontáneamente y no requieren tratamiento antibiótico[9]. Las complicaciones son poco frecuentes, aunque se ha informado de que las infecciones pueden concurrir con artritis reactiva, síndrome urémico hemolítico, meningitis, colitis recurrente, colecistitis aguda y síndrome de Guillain-Barré[4]. Las infecciones por *Campylobacter jejuni* son más frecuentes en niños menores de 5 años y en adultos jóvenes (de 15 a 29 años) que en los demás grupos de edad.

El diagnóstico de la campilobacteriosis se basa actualmente en el aislamiento y el cultivo del microorganismo en un caldo de enriquecimiento y en medios selectivos que contienen varios suplementos antibióticos en una atmósfera microaerófila con un 5% de oxígeno y un 10% de dióxido de carbono. El aislamiento puede tardar entre 2 días y una semana.

El antígeno específico (AE) de *Campylobacter* es un antígeno de superficie de *Campylobacter*. El análisis de inmunotransferencia (Western blot) revela 2 bandas con unos pesos moleculares aproximados de 15 y 66 kDa. Los estudios de reactividad cruzada indican que se trata de un antígeno compartido por *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter es un inmunoensayo en fase sólida para la detección del antígeno específico (AE) de *Campylobacter*. Se añaden muestras de heces diluidas a los pocillos separables de la microplaca a los que se encuentra unido anticuerpo policlonal anti-AE de *Campylobacter* de conejo. Si hay presente AE de *Campylobacter*, éste es "capturado" por el anticuerpo unido. Los pocillos se incuban y, a continuación, se lavan para retirar el material no unido. Se añade el conjugado enzimático (anticuerpo policlonal anti-AE de *Campylobacter* de conejo marcado con enzima peroxidasa de rábano picante). Los pocillos se incuban y, a continuación, se lavan para retirar el conjugado enzimático no unido. En una reacción positiva, el antígeno específico de Campylobacter capturado une el conjugado enzimático al pocillo. Se añade el sustrato para la enzima, 3,3'-5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). En una reacción positiva, la enzima unida al pocillo por el AE de *Campylobacter* convierte el sustrato en un producto de reacción coloreado. La formación del color puede detectarse visualmente o mediante espectrofotometría. En una reacción negativa, no hay AE de *Campylobacter* presente o su concentración es insuficiente para unir el conjugado enzimático y no se desarrolla ningún producto de reacción coloreado.

4. DEFINICIONES DE LOS SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
Σ	Contenido suficiente para <n> pruebas
	Consulte las instrucciones de uso (IFU)
2°C 8°C	Límite de temperatura (temperatura de almacenamiento)
LOT	Código de lote (número de lote)
	Fecha de caducidad
	Fabricante
DILUTED SAMPLE	Muestra diluida

5. CONTENIDO DEL KIT, PREPARACIÓN PARA EL USO Y ALMACENAMIENTO

El ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter incluye suficientes reactivos para realizar Σ 96 pruebas.

Consulte también la sección **6**, **Precauciones**.

La fecha de caducidad de cada kit se indica en la etiqueta del envase.

Almacene todos los componentes a 2-8 °C.

Antes de su uso, deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20-25 °C) y mézclelos suavemente. Después del uso, vuelva a guardar en el refrigerador los reactivos no utilizados.

Todos los reactivos, excepto el tampón de lavado, se suministran a la concentración de trabajo. Los reactivos pueden administrarse directamente desde los frascos cuentagotas o extraerse para utilizarlos con pipetas multicanal. Si se ha extraído más reactivo del necesario, el sobrante debe desecharse. No devuelva el reactivo sobrante al frasco.

Instrucciones de uso

Pipetas de transferencia
Soporte y cubierta para tiras de microplaca
Tarjeta de procedimiento

MICROTITRATION PLATE **Microplaca*** (8 pocillos por tira)

6 tiras (R2476048) o 12 tiras (R2476096) recubiertas con anticuerpo policlonal anti-AE de *Campylobacter* de conejo. Las tiras no utilizadas de la microplaca deben guardarse en la bolsa de papel de aluminio que contiene desecante para impedir la entrada de humedad.

CONJUGATE **Conjugado enzimático***

Un frasco cuentagotas con 12 ml (R2476048) o 25 ml (R2476096) de anticuerpo policlonal anti-AE de *Campylobacter* de conejo marcado con enzima peroxidasa de rábano picante combinado con antimicrobianos.

CONTROL + **Control positivo**

Un frasco cuentagotas con 4 ml de sobrenadante de cultivo de *Campylobacter jejuni* inactivado suspendido en una solución tamponada con suero fetal bovino y antimicrobianos.

CONTROL – **Control negativo**

Un frasco cuentagotas con 4 ml de una solución tamponada combinada con suero de conejo, tinte rojo y antimicrobianos.

SAMPLE DILUENT **Diluyente de muestras bacterianas**

Un frasco con 120 ml de una solución tamponada combinada con suero de conejo, tinte rojo y antimicrobianos.

WASH BUFFER (x10) **Tampón de lavado**

Un frasco con 120 ml de una solución tamponada concentrada (x10) combinada con antimicrobianos.

Diluya el concentrado de tampón de lavado (x10) a (x1) añadiendo 1 parte de concentrado a 9 partes de agua destilada o desionizada. El tampón de lavado diluido es estable durante 1 mes si se almacena a 2-8 °C.

SUBSTRATE TMB **Sustrato de color**

Un frasco cuentagotas con 12 ml (R2476048) o 25 ml (R2476096) de 3,3'-5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) en tampón.

El sustrato de color debe conservarse en el frasco protegido de la luz en el que se suministra, y utilizarse desde dicho frasco. Si se extrae una alícuota del frasco original por cualquier razón, no devuelva el sustrato de color no utilizado al frasco original.

STOP SOLUTION **Solución de parada**

Un frasco cuentagotas con 12 ml de ácido sulfúrico a una concentración de 0,46 mol/l.

6 tiras (R2476048) ou 12 tiras (R2476096) revestidas com anticorpo anti-Campylobacter SA polyclonal de coelho. Deve guardar as tiras de microplacas não utilizadas na embalagem de alumínio com dessecante para excluir a humidade.

***Nota:** No intercambie reactivos entre kits de números de lote diferentes.

6. PRECAUCIONES

IVD

Los reactivos son para uso diagnóstico *in vitro* solamente.

Para uso por profesionales solamente.

Para obtener información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de datos sobre seguridad y la documentación del producto.

INFORMACIÓN SANITARIA Y DE SEGURIDAD

6.1. Los reactivos están preparados a partir de material biológico y deben manipularse como material potencialmente infeccioso. Deséchelos empleando procedimientos adecuados para productos biopeligrosos.

6.2. No pipetee con la boca. Lleve puestos guantes desechables y protección ocular cuando manipule muestras y cuando realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando acabe.

6.3. Las muestras pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manipularse con el nivel de bioseguridad 2, según lo recomendado en el manual de los CDC y el NIH "Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina", 5ª edición.

6.4. El tampón de lavado contiene un producto que puede provocar sensibilización cutánea (<1% v/v). Evite el contacto con la piel. Utilice guantes desechables de vinilo o nitrilo.

6.5. Deseche el tampón de lavado en recipientes adecuados para productos biopeligrosos.

PRECAUCIONES ANALÍTICAS

6.6. Lea y siga atentamente todas las instrucciones de estas instrucciones de uso.

6.7. Todos los reactivos, excepto el concentrado de tampón de lavado, se suministran a la concentración de trabajo necesaria. No diluya los reactivos a no ser que se indique.

6.8. No utilice los reactivos después de sus fechas de caducidad. La fecha de caducidad de cada reactivo está impresa en su etiqueta. El uso de los reactivos después de la fecha de caducidad puede afectar a la exactitud de los resultados.

6.9. Los siguientes reactivos comunes pueden utilizarse en toda la línea de productos ProSpecT: tampón de lavado, sustrato de color y solución de parada.

6.10. La contaminación microbiana de los reactivos puede reducir la exactitud del ensayo. Evite la contaminación microbiana de los reactivos utilizando pipetas desechables estériles para extraer alícuotas de los frascos de reactivo.

6.11. Deje que todos los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (20-25 °C) antes de utilizarlos.

6.12. Las tiras de la microplaca deben guardarse en la bolsa resellable de papel de aluminio, con desecante, para proteger los pocillos de la microplaca de la humedad.

6.13. Las muestras de heces deben mezclarse bien antes de procesarlas para asegurarse de obtener una representación exacta de la muestra. NO CONCENTRE LAS MUESTRAS ANTES DE REALIZAR EL ENSAYO.

6.14. El sustrato de color es sensible a la exposición a la luz. El reactivo debe desecharse si se expone a la luz y toma color.

6.15. Es posible que las personas daltónicas o con deficiencias visuales no puedan leer visualmente los resultados de la prueba, por lo que deberán utilizar lecturas espectrofotométricas para interpretar los resultados.

6.16. Añada los reactivos a los pocillos del ensayo en el mismo orden durante todo el procedimiento. Para evitar su contaminación, no toque el líquido de los pocillos con las puntas de los frascos.

6.17. Mida con exactitud la duración de cada incubación. Comience a medir el tiempo después de añadir reactivo al último pocillo de cada microplaca en la que se vaya a realizar el ensayo. Para asegurar una medición exacta del tiempo, no procese más de tres placas de 96 pocillos a la vez. Cualquier desviación respecto del procedimiento establecido puede afectar a la precisión del ensayo.

6.18. Es importante mantener los frascos cuentagotas en vertical y que la gota se forme en la punta del pico. Si el pico se moja, se formará una gota de un volumen incorrecto alrededor del extremo, y no en la punta; si ocurre esto, seque el pico antes del procesamiento.

7. RECOGIDA DE LAS MUESTRAS FECALES

El análisis directo de muestras de heces obtendrá resultados óptimos si las heces se analizan inmediatamente después de su llegada al laboratorio. En los análisis enriquecidos con caldo, la muestra de heces deberá añadirse al caldo de enriquecimiento inmediatamente después de su llegada al laboratorio.

FRESCAS Las muestras de heces sin conservante pueden almacenarse a 2-8 °C y analizarse en las 72 horas posteriores.

Las muestras pueden diluirse en una proporción de 1:3 en el diluyente de muestras bacterianas y almacenarse refrigeradas a 2-8 °C durante un máximo de 72 horas antes de su análisis.

CONGELADAS Almacene las heces a una temperatura de -20 °C o inferior si los análisis se van a llevar a cabo después de 72 horas. Evite la congelación-descongelación repetida.

CARY BLAIR Las muestras de heces recogidas en medios de transporte Cary Blair deberán refrigerarse a 2-8 °C y analizarse en la semana posterior a la recogida.

8. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

MATERIALES NECESARIOS SUMINISTRADOS

Consulte la sección **5**, **Contenido del kit**.

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Recipientes para recogida de muestras de heces
Temporizador que mida minutos
Frasco de lavado para el tampón de lavado
Agua destilada o desionizada

MATERIALES OPCIONALES NO SUMINISTRADOS

Lector de microplacas capaz de leer a 450 nm o a 450/620-650 nm
Bastoncillos aplicadores con punta de algodón o rayón
Micropipeta para suministrar volúmenes de hasta 200 µl
Tubos de ensayo desechables de plástico o vidrio
Mezclador vórtex con adaptador o agitador de placas

PROCEDIMIENTO

8.1. **Preparación de las muestras para el ensayo:** Las muestras recogidas en medios de transporte Cary Blair pueden añadirse directamente a los pocillos de la microplaca para su análisis (consulte el paso 8.4, más abajo). Asegúrese de mezclar las muestras en medios de transporte antes de transferirlas a los pocillos de la microplaca.

Las muestras de heces frescas o los cultivos enriquecidos con caldo deben diluirse (consulte los recuadros **A o B**, más abajo).

A	**Análisis directo de muestras de heces frescas sin conservante**
1	Añada 0,6 ml de diluyente de muestras bacterianas a un tubo desechable de plástico o vidrio limpio.
2	Mezcle las heces todo lo posible.
3	Para analizar muestras de heces líquidas o semisólidas, utilice una pipeta de transferencia para añadir unos 0,3 ml (tercera marca desde la punta de la pipeta). Expulse la muestra en diluyente de muestras bacterianas y mezcle extrayendo y expulsando una vez. Deje la pipeta de transferencia en el tubo.
4	Para analizar muestras sólidas, utilice un bastoncillo aplicador para añadir 0,3 g (~6 mm de diámetro). Empleando el bastoncillo aplicador, emulsione la muestra de heces en el diluyente de muestras bacterianas. Ponga una pipeta de transferencia en el tubo y mezcle el contenido de éste extrayendo y expulsando una vez. Deje la pipeta de transferencia en el tubo.
5	**VAYA AL PASO 8.2**

B	**Método de caldo para muestras con caldo de enriquecimiento**
1	Inocule 150 µl o 3 gotas de heces en 5 ml de caldo GN, Hajna.
2	Incube a 35 ± 2 °C en condiciones atmosféricas ambiente durante 18-24 horas.
3	Añada 0,6 ml de diluyente de muestras bacterianas a un tubo de 12 x 75 mm limpio.
4	Transfiera 0,3 ml de cultivo de caldo en 0,6 ml de diluyente de muestras bacterianas empleando una pipeta de transferencia. Deje la pipeta de transferencia en el tubo.
5	**VAYA AL PASO 8.2**

8.2. Abra la bolsa de papel de aluminio, extraiga el número requerido de tiras de microplaca y colóquelas en un soporte de tiras de microplaca. Utilice un pocillo para el control negativo y un pocillo para el control positivo. Si va a utilizar menos de 8 pocillos, separe el número requerido de pocillos de una tira y vuelva a poner los pocillos no utilizados en la bolsa de papel de aluminio con desecante. VUELVA A CERRAR BIEN LA BOLSA PARA EVITAR LA ENTRADA DE HUMEDAD Y GUÁRDELA EN EL REFRIGERADOR.

8.3. Añada **4 gotas** (200 µl) de control negativo al pocillo A1. Añada **4 gotas** (200 µl) de control positivo al pocillo B1.

8.4. Empleando una pipeta de transferencia, añada **4 gotas** de muestra diluida o cultivo de caldo enriquecido, o **4 gotas** de muestra en medio de transporte por pocillo. Nota: Coloque la abertura de la pipeta de transferencia dentro del pocillo para evitar derramar la muestra en los pocillos adyacentes.

8.5. **Cubra** la microplaca e incúbela a temperatura ambiente (20-25 °C) durante **60 minutos**. Comience a medir el tiempo después de la adición de la última muestra.

8.6. Vacíe los pocillos mediante agitación o aspiración. Lave todos los pocillos llenándolos por completo con tampón de lavado **diluido** (~350-400 µl por pocillo). Después de cada lavado, extraiga todo el líquido de los pocillos mediante agitación o aspiración. Lleve a cabo **3 lavados**. Tras el lavado final, extraiga el contenido de la placa golpeándola suavemente contra toallitas de papel limpias o mediante aspiración. Extraiga tanto tampón de lavado como sea posible, pero no permita que los pocillos se sequen por completo en ningún momento.

8.7. Añada **4 gotas** (200 µl) de conjugado enzimático a cada pocillo.

8.8. **Cubra** la microplaca e incúbela a temperatura ambiente (20-25 °C) durante **30 minutos**.

8.9. Extraiga el contenido de cada pocillo mediante agitación o aspiración y lave cada pocillo **5 veces** como en el paso 8.6.

8.10. Añada **4 gotas** (200 µl) de sustrato de color a cada pocillo.

8.11. **Cubra** la microplaca e incúbela a temperatura ambiente (20-25 °C) durante **10 minutos**.

8.12. Añada **1 gota** (50 µl) de solución de parada a cada pocillo. Golpee suavemente los pocillos o agítelos en un mezclador vórtex hasta que el color amarillo sea uniforme. Lea las reacciones en los **10 minutos** posteriores a la adición de la solución de parada.

8.13. Lea visual o espectrofotométricamente a 450 nm (longitud de onda simple) o a 450/620-650 nm (longitud de onda doble).

9. CONTROL DE CALIDAD

Los controles positivo y negativo deben incluirse cada vez que se realice el ensayo, y sirven como controles del reactivo y del procedimiento. Su objetivo consiste en determinar si hay algún fallo importante de los reactivos. El control positivo no asegurará la precisión en el punto de corte del ensayo.

La densidad óptica (D.O.) del control negativo deberá ser <0,100 a 450 nm o <0,070 a 450/620-650 nm. El control negativo deberá ser incoloro cuando se lea visualmente. Si el control negativo tiene un color amarillo de intensidad igual a 1+ o mayor según la tarjeta de procedimiento, la prueba deberá repetirse prestando especial atención al procedimiento de lavado.

La D.O. del control positivo deberá ser >0,500 a 450 o a 450/620-650 nm. Visualmente, la intensidad del color del control positivo deberá ser igual o superior a la reacción 2+ de la tarjeta de procedimiento. Si hay menos color, solicite asistencia técnica.

10. RESULTADOS

Consulte la tarjeta de procedimiento incluida para interpretar los colores.

LECTURA VISUAL

10.1. Lea los resultados del ensayo comparándolos con los colores de reacción mostrados en la tarjeta de procedimiento.

Positivo: color amarillo de una intensidad de al menos 1+
Negativo: incoloro
Dudoso: color amarillo débil, menor que la reacción 1+

10.2. Interpretación de los resultados visuales:

Positivo: si el pocillo del ensayo toma un color amarillo de una intensidad de al menos 1+, la muestra contiene AE de *Campylobacter* y la prueba es positiva.
Negativo: una reacción incolora constituye un resultado negativo, e indica que la muestra no contiene AE de *Campylobacter* o que la concentración de AE de *Campylobacter* es indetectable.

Dudoso: si se desarrolla un color amarillo débil menor que la reacción 1+, el resultado de la prueba es dudoso. Si se obtiene un resultado dudoso, la prueba deberá repetirse. Si la repetición de la prueba da positivo, la muestra es positiva. Si la repetición de la prueba da negativo, la muestra es negativa. Si la repetición de la prueba vuelve a dar un resultado dudoso, deberá obtenerse y analizarse otra muestra.

LECTURA ESPECTROFOTOMÉTRICA

10.3. Lea los resultados con una longitud de onda simple (450 nm) o doble (450/620-650 nm).

10.4. Lea los resultados del ensayo:

A. Longitud de onda simple	**Heces frescas**	**Medios de transporte/caldo**
Negativo:	D.O. < 0,130	< 0,100
Dudoso:	D.O. 0,130 - 0,170	0,100 - 0,130
Positivo:	D.O. > 0,170	> 0,130
B. Longitud de onda doble	**Heces frescas**	**Medios de transporte/caldo**
Negativo:	D.O. < 0,100	< 0,070
Dudoso:	D.O. 0,100 - 0,140	0,070 - 0,100
Positivo:	D.O. > 0,140	> 0.100

10.5. Interpretación de los resultados espectrofotométricos:

Positivo: Una lectura de D.O. superior al punto de corte indicado para la longitud de onda simple o la longitud de onda doble por tipo de muestra constituye un resultado positivo e indica la presencia de AE de Campylobacter.
Negativo: Una lectura de D.O. inferior al punto de corte indicado para la longitud de onda simple o la longitud de onda doble por tipo de muestra constituye un resultado negativo e indica que la muestra analizada no contiene AE de Campylobacter o que la concentración de AE de Campylobacter es indetectable.
Dudoso: Las lecturas de D.O. que estén dentro del intervalo dudoso indicado por tipo de muestra constituyen resultados dudosos. Si se obtiene un resultado dudoso, la prueba deberá repetirse. Si la repetición de la prueba da positivo, la muestra es positiva. Si la repetición de la prueba da negativo, la muestra es negativa. Si la repetición de la prueba vuelva a dar un resultado dudoso, deberá obtenerse y analizarse otra muestra.
Un resultado es dudoso cuando las lecturas visual y espectrofotométrica concuerdan. Si se obtiene un resultado dudoso, la prueba deberá repetirse. Si la repetición de la prueba da positivo, la muestra es positiva. Si la repetición de la prueba da negativo, la muestra es negativa. Si la repetición de la prueba vuelva a dar un resultado dudoso, deberá obtenerse y analizarse otra muestra.

Nota: Todos los pocillos que sean visualmente transparentes pero obtengan una lectura de D.O. que no corresponda con la interpretación visual deberán considerarse como de lectura discrepante y examinarse para comprobar si contienen burbujas, partículas pequeñas o una película opaca en el fondo de los pocillos. Para retirar la película, limpie la parte inferior de los pocillos y lea la D.O. de nuevo. Si la discrepancia entre la lectura visual y la de la D.O. persiste, repita el ensayo.

11. LIMITACIONES DE LA EFICACIA

La validez de los resultados obtenidos con el ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter depende de que las reacciones de los controles tengan lugar de la manera esperada. Consulte la sección **9**, **Control de calidad**.

Un resultado negativo no excluye la posibilidad de presencia de *Campylobacter*, y puede obtenerse cuando la concentración de antígeno de la muestra está por debajo del nivel de detección del ensayo. La correlación entre la cantidad de antígeno presente en una muestra y la presentación clínica no se ha establecido.

Como en todas las pruebas diagnósticas IN VITRO, los resultados deben ser interpretados por el médico junto con los signos y síntomas clínicos y/u otros resultados de laboratorio.

La recogida y el procesamiento correctos de las muestras son esenciales para conseguir la máxima precisión en el ensayo. Para obtener resultados óptimos, el ensayo debe realizarse lo antes posible después de obtener las muestras. Consulte la sección **7**, **Recogida de las muestras fecales**.

El ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter no diferencia entre *C. jejuni* y *C. coli*, y hay otros serotipos y subespecies que pueden detectarse o no detectarse. No se sabe si *C. upsalensis*, *C. hyointestinalis* o *C. helviticus* producen reacción cruzada.

12. VALORES ESPERADOS

Campylobacter jejuni es la principal causa de diarrea bacteriana en EE.UU., y las infecciones son más frecuentes en verano y otoño[5]. Por lo general, las infecciones se adquieren debido a la ingestión de alimentos o agua contaminados. Análisis de muestras de aves de corral congeladas a escala comercial han mostrado tasas de contaminación de entre un 30 y un 90%[6]. *C. jejuni* está muy extendido en el reino animal, y se ha aislado en diversos animales domésticos, aves de corral, y en prácticamente todas las especies de aves salvajes. También se ha descrito la transmisión por contacto sexual o por vía fecal-oral, así como por beber aguas de superficie contaminadas[5]. Los niños menores de 5 años y los adultos jóvenes (de 15 a 29 años) se ven afectados con más frecuencia que los demás grupos de edad. Un estudio reciente del College of American Pathologists realizado en 601 centros observó que se podía identificar un patógeno bacteriano en el 6,4% de las 59.500 muestras remitidas[7]. Se identificó *Campylobacter* en el 1,5% de las muestras, Salmonella en el 1,15%, y Shigella en el 0,9%. Las tasas de prevalencia de *C. jejuni* en Estados Unidos oscilan entre el 1,0 y el 4,6%[3]. En un estudio de cuatro años de duración realizado en Suiza se obtuvieron también unas tasas de hasta el 2,9%[8].

13. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

El ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter se evaluó en tres centros clínicos de áreas geográficas distintas de Estados Unidos y Canadá. Los centros fueron: un hospital metropolitano de Illinois (Estados Unidos), un gran laboratorio de referencia de Nueva Jersey (Estados Unidos) y un laboratorio analítico centralizado de Ontario (Canadá). Todas las muestras se analizaron mediante ensayos de cultivos y bioquímicos a fin de confirmar un aislamiento positivo de *Campylobacter*. Los resultados obtenidos en cada uno de los lugares tras repetir las pruebas que obtuvieron resultados dudosos y resultados de lecturas discrepantes según lo indicado en estas instrucciones de uso se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Comparación del análisis de microplaca ProSpecT Campylobacter con ensayos de cultivos de muestras directas de heces.

CENTRO 1: RESULTADOS DE LOS CULTIVOS

		+	-	
Ensayo de microplaca ProSpecT	+	70	6	
	-	0	337	
		70	343	413

Sensibilidad: 100 %
Especificidad: 98,3%

CENTRO 2: RESULTADOS DE LOS CULTIVOS

		+	-	
Ensayo de microplaca ProSpecT	+	10	0	
	-	0	214	
		10	214	224

Sensibilidade: 100%
Especificidade: 100%

CENTRO 3: RESULTADOS DE LOS CULTIVOS

		+	-	
Ensayo de microplaca ProSpecT	+	49	2	
	-	0	361	
		49	363	412

Sensibilidade: 100%
Especificidade: 99,4%

Tabla 2: Resultados con los datos combinados de los tres centros del estudio clínico con muestras directas de heces.

Directo

		+	-	
Ensayo de microplaca ProSpecT	+	129	8	
	-	0	912	
		129	920	1049

Sensibilidad: 100% (97,2-100%)
Especificidad: 99,1% (98,3-99,6%)
Correlación: 99,2% (98,5-99,7%)

Como muestra la Tabla 2, hubo una correlación de un 99,2% entre el ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter y el cultivo cuando se combinaron todos los resultados de los tres centros y se resolvieron todos los resultados dudosos y de lecturas discrepantes. Todos los resultados de lecturas discrepantes del EIA se resolvieron como negativos después de la repetición del análisis. Hubo una muestra que inicialmente fue positiva en el EIA y negativa en el cultivo. Tras repetir el análisis, el cultivo dio positivo y se resolvió como un positivo verdadero. De las otras 8 muestras que dieron positivo en el EIA y negativo en el cultivo, una dio negativo tras repetir el inmunoensayo enzimático. Las otras 7 volvieron a dar positivo.

En el centro 2 del estudio, todas las muestras analizadas en el ensayo de heces directas también se enriquecieron durante una noche en caldo GN, Hajna a 35 ± 2 °C en condiciones atmosféricas ambiente. A continuación, el cultivo enriquecido se analizó con el ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter y se comparó con el método estándar de cultivo de heces. Los resultados se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3: Comparación del análisis de microplaca ProSpecT Campylobacter con el ensayo de cultivos de heces enriquecidas con caldo.

CENTRO 2: RESULTADOS DE LOS CULTIVOS

		+	-	
Ensayo de microplaca ProSpecT	+	9	0	
	-	1	214	
		10	214	224

Sensibilidad: 90,0% (55,5-99,9%)
Especificidad: 100% (98,3-100%)
Correlación: 99,6% (97,5-100%)

Como muestra la Tabla 3, hubo una correlación de un 99,6% entre el ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter y el cultivo cuando las muestras se enriquecieron en caldo GN, Hajna y se resolvieron todos los resultados discrepantes. Todos los resultados dudosos y discrepantes del EIA se resolvieron como negativos después de la repetición del análisis.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter detecta aproximadamente 2,81 ng/ml de AE de *Campylobacter* y aproximadamente 10^5 UFC/ml.

REPRODUCIBILIDAD

El coeficiente de variación (CV) interensayo del ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter se evaluó seleccionando una muestra negativa y tres positivas con diferentes lecturas de densidad óptica. Cada muestra se analizó en 22-24 pocillos por cada tanda analítica de las tres tandas consecutivas que se realizaron. La media del CV interensayo fue de un 11,4%.

Muestra	Media de la D.O.	Desviación estándar	% CV
1	1,325	0,033	9,6 %
2	0,535	0,070	13,1 %
3	0,342	0,050	14,6 %
4	0,045	0,004	8,4 %

El CV intraensayo se evaluó analizando 22-24 pocillos con cada una de 4 muestras. La media del CV intraensayo fue de un 4,0%.

Muestra	Media de la D.O.	Desviación estándar	% CV
1	1,268	0,033	2,61 %
2	0,501	0,015	2,95 %
3	0,320	0,009	2,84 %
4	0,047	0,004	7,70 %

REACTIVIDAD CRUZADA

El análisis de diversos microorganismos de la microflora colónica humana con el ensayo de microplaca ProSpecT Campylobacter no mostró ninguna reacción cruzada. Los análisis se realizaron añadiendo los microorganismos indicados a continuación en heces negativas y positivas para Campylobacter jejuni. Las bacterias se añadieron a concentraciones >1 x 10^7 UFC/ml de heces.

Arcobacter butzleri ATCC® 49616
Campylobacter curvis ATCC® 35224
Campylobacter fetus ATCC® 19438
Campylobacter lari ATCC® 35221
Campylobacter rectus ATCC® 33238
Campylobacter sputorum ATCC® 35980
Citrobacter braakii ATCC® 43162
Escherichia coli, EHEC, ATCC® 43890 (O157:H7)
Escherichia coli, EIEC, ATCC® 43893 (O124:NM)
Escherichia coli, EPEC, ATCC® 12014 (O55:NM)
Escherichia coli, EPEC, ATCC® 33780 (O111:NM)
Escherichia coli, ETEC/EPEC, ATCC® 43887 (O111:NM)
Escherichia coli, Stx negative, ATCC® 25922
Escherichia hermannii ATCC® 33660
Enterobacter cloacae ATCC® 13047
Enterococcus faecalis ATCC® 49149
Helicobacter cinaedi ATCC® 35683
Helicobacter pylori ATCC® 43504
Klebsiella pneumoniae ATCC® 27736
Proteus vulgarus ATCC® 33420
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Salmonella typhimurium SA 972229
Serratia liquefacians ATCC® 27592
Shigella dysenteriae ATCC® 49347
Shigella flexneri ATCC® 25929
Shigella sonnei ATCC® 25931
Staphylococcus aureus ATCC® 25923
Yersinia enterocolitica ATCC® 23715

14. BIBLIOGRAFÍA

1. **Guerrant, R.L. and D.A. Bobak. 1991.**
Review Article, Medical Progress, Bacterial and Protozoal Gastroenteritis. N. Engl. J. Med. 325(5): 327-340.
2. **Mitchell, J.E. and M.M. Skelton. 1988.**
Diarrhoeal Infections.
Am. Fam. Phys. May 37(5): 195-207.
3. **Guerrant, R.L., et al. 1985.**
Evaluation and Diagnosis of Acute Infectious Diarrhoea.
Am. J. Med. 78(6B): 91-98.
4. **Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook, *Campylobacter jejuni*. 1992.**
Bad Bug Book,
http://vm.cfsan.fda.gov/-mow/chap4.htm.
5. **Cohen, M.L., 1988.**
The Epidemiology of Diarrhoeal Disease in the United States
Infectious Diarrhoea, Division of Bacterial Disease, CDC, 557-570.
6. **Gilligan, P.H., et al, April 1992.**
Laboratory Diagnosis of Bacterial Diarrhoea.
ASM, Cumitech 12A: 8-10.
7. **Valenstein, P., et al, 1996.**
The Use and Abuse of Routine Stool Microbiology.
Arch. Pathol. Lab. Med., 120: 206-211.
8. **Rohner, P., et al, 1997.**
Etiological Agents of Infectious Diarrhoea: Implications for Requests for Microbial Culture.
J. Clin. Microbiol. 35(6): 1427-1432.
9. **Williams, E.K., 1986.**
Acute Infectious Diarrhoea. II. Diagnosis, Treatment and Prevention.
Pediatr. Infect. Dis. 5(4): 458-465.

ProSpecT es una marca registrada

ATCC® es una marca registrada de American Type Culture Collection

CE

Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24 8PW
Reino Unido

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su distribuidor local.

IFU X7595A, revisadas el diciembre 2012