

# ProSpecT

## Campylobacter Saggio su micropiastra

**REF** R2476096 .....Kit per 96 test

### 1. USO PREVISTO

Il saggio su micropiastra ProSpecT™ Campylobacter è un immunodosaggio enzimatico su micropiastra IN VITRO (EIA) per la determinazione qualitativa dell'antigene specifico di *Campylobacter* in campioni fecali e in colture fecali arricchite con brodo. Il saggio su micropiastra ProSpecT Campylobacter è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi delle infezioni da *Campylobacter*.

### 2. SOMMARIO

Il batterio enteropatogeno *Campylobacter jejuni* è considerato uno dei maggiori agenti eziologici della diarrea acuta negli esseri umani<sup>1,2,3</sup>. È la causa principale della diarrea batterica negli Stati Uniti e supera sia la *Salmonella* sia la *Shigella* abbinate<sup>4,5</sup>. Pur avendo una diffusione a livello mondiale, la malattia è particolarmente grave nei paesi in via di sviluppo. Le infezioni da *Campylobacter jejuni* provocano diarrea che può essere acquosa e può contenere sangue, di solito occulto, e leucociti fecali<sup>6</sup>. Gli altri sintomi sono febbre, dolori addominali, nausea, emicranie e dolori muscolari. La malattia si manifesta 2-5 giorni dopo l'ingestione di cibo o acqua contaminati e può durare 7-10 giorni. La maggior parte delle infezioni è autolimitante e non richiede terapia antibiotica<sup>9</sup>. Le complicanze sono rare, ma è stato riscontrato che le infezioni possono essere concomitanti con artrite reattiva, sindrome uremica emolitica, meningite, colite ricorrente, colecisti acuta e sindrome di Guillain-Barre<sup>4</sup>. I bambini al di sotto dei 5 anni e i giovani (15-29) sono più soggetti alle infezioni da *Campylobacter jejuni* rispetto alle persone nelle altre fasce di età.

La diagnosi delle infezioni da *Campylobacter* attualmente dipende dall'isolamento e dalla coltivazione dell'organismo in brodo di arricchimento e su uno strato selettivo contenente numerosi supplementi antibiotici in un'atmosfera microaerofila con ossigeno al 5% e biossido di carbonio al 10%. L'isolamento può durare da 2 giorni a una settimana.

L'antigene specifico (SA) di *Campylobacter* è un antigene che si trova sulla superficie del *Campylobacter*. L'analisi Western Blot rivela 2 strisce con pesi molecolari di circa 15Kd e 66Kd. Gli studi di reattività crociata indicano che si tratta di un antigene condiviso da *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*.

### 3. PRINCIPIO DEL TEST

Il saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* è un immunodosaggio in fase solida per la determinazione dell'antigene specifico di *Campylobacter*. I campioni fecali diluiti sono aggiunti nei pozzetti, frazionabili singolarmente, rivestiti con anticorpo policlonale di coniglio anti-*Campylobacter*. Se presente, l'antigene specifico di *Campylobacter* è "catturato" dall'anticorpo che riveste il pozzetto. I pozzetti sono nuovamente incubati e successivamente lavati per rimuovere il materiale non legato, dopodiché si aggiunge il coniugato enzimatico (anticorpo

policlonale di coniglio dell'antigene specifico di *Campylobacter* marcato con enzima perossidasi estratto da radice di rafano). I pozzetti sono nuovamente incubati e successivamente lavati per rimuovere il coniugato enzimatico non legato. In caso di reazione positiva, l'antigene specifico anti-*Campylobacter* catturato lega il coniugato enzimatico al pozzetto. A questo punto si aggiunge il substrato per l'enzima 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). In caso di reazione positiva, l'enzima fissato al pozzetto dell'antigene specifico di *Campylobacter* converte il substrato dando luogo a una reazione colorata. Lo sviluppo del colore può essere osservato a occhio nudo o mediante spettrofotometro. In caso di reazione negativa, l'antigene specifico di *Campylobacter* non è presente oppure è presente a una concentrazione insufficiente per consentire il legame con il coniugato enzimatico, pertanto non si sviluppa alcuna reazione colorimetrica.

### 4. DEFINIZIONI DEI SIMBOLI

<b>REF</b>	Numero di catalogo
<b>IVD</b>	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Contiene materiale sufficiente per <n> test
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Limite di temperatura (temp. di conservazione)
<b>LOT</b>	Codice del lotto (numero lotto)
	Utilizzare entro (data di scadenza)
	Fabbricante
<b>DILUTED SAMPLE</b>	Campione diluito

### 5. CONTENUTO DEL KIT, PREPARAZIONE PER L'USO E CONSERVAZIONE

Il saggio su micropiastra ProSpecT Campylobacter contiene reagenti sufficienti per eseguire  $\sqrt[3]{96}$  test.

Consultare la sezione **6 Precauzioni**.

La data di scadenza di ciascun kit è riportata sull'etichetta della confezione.

Conservare tutti i componenti a 2-8°C.

Prima dell'uso, portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) e agitarli delicatamente. Dopo l'uso, riporre in frigorifero i reagenti non utilizzati.

Tutti i reagenti, tranne il tampone di lavaggio, sono forniti già pronti per l'uso. I reagenti possono essere dispensati direttamente dal flacone contagocce oppure mediante pipette automatiche multicanale. Se si preleva troppo reagente, la quantità in eccesso deve essere eliminata. Non rimettere mai il reagente in eccesso nel flacone.



#### Istruzioni per l'uso

#### Pipette di trasferimento

#### Portastrisce e coperchio per micropiastra Scheda della procedura

#### Micropiastra\* (8 pozzetti per striscia)

6 strisce (R2476048) o 12 strisce (R2476096) rivestite con anticorpo policlonale di coniglio dell'antigene specifico di *Campylobacter*. Le strisce inutilizzate devono essere conservate

**MICROTITRATION PLATE**

**CONJUGATE**

nella busta metallizzata fornita contenente essiccante per proteggerle dall'umidità.

#### Coniugato enzimatico\*

Un flacone contagocce contenente 12 ml (R2476048) o 25 ml (R2476096) di anticorpo policlonale di coniglio coniugato con perossidasi estratto da radice di rafano dell'antigene specifico di *Campylobacter* e agenti antimicrobici.

**CONTROL +**

#### Controllo positivo

Un flacone contagocce contenente 4 ml di coltura sovranatante di *Campylobacter jejuni* sospesa in soluzione tampone con siero bovino fetale e agenti antimicrobici.

**CONTROL -**

#### Controllo negativo

Un flacone contagocce contenente 4 ml di soluzione tampone con siero di coniglio, un colorante rosso e agenti antimicrobici.

**SAMPLE DILUENT**

#### Tampone di diluizione campione

Un flacone contenente 120 ml di soluzione tampone con siero di coniglio, un colorante rosso e agenti antimicrobici.

**WASH BUFFER (x10)**

#### Tampone di lavaggio

Un flacone contenente 120 ml di soluzione tampone concentrata (10x) e agenti antimicrobici.

Diluire 1 parte di tampone di lavaggio concentrato (10x) con 9 parti di acqua distillata o deionizzata. Il tampone di lavaggio diluito rimane stabile per 1 mese e deve essere conservato a 2-8°C.

**SUBSTRATE TMB**

#### Substrato cromogeno

Un flacone contagocce contenente 12 ml (R2476048) o 25 ml (R2476096) di 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) in soluzione tampone.

Il substrato cromogeno deve essere conservato e dispensato direttamente dal flacone originale, per proteggerlo dalla luce. Se per qualsiasi motivo si estrae un'aliquota maggiore di substrato cromogeno dal flacone originale, non rimettere mai il substrato inutilizzato nel flacone originale.

**STOP SOLUTION**

#### Soluzione bloccante

Un flacone contagocce contenente 12 ml di acido solforico 0,46 mol/l.

\*Nota: non scambiare tra loro componenti del kit appartenenti a lotti diversi.

### 6. PRECAUZIONI

**IVD**

I reagenti sono solo per uso diagnostico *in vitro*.

Il prodotto deve essere utilizzato solo da operatori specializzati.

Controllare la scheda di sicurezza (SDS) e l'etichetta del prodotto per informazioni su componenti potenzialmente pericolosi.

### INFORMAZIONI SU SALUTE E SICUREZZA

6.1. I reagenti sono preparati con materiali biologici e devono pertanto essere trattati come prodotti potenzialmente infettivi. Smettere secondo le procedure previste per rifiuti speciali a rischio biologico.

6.2. Non pipettare i materiali con la bocca. Utilizzare guanti monouso e protezioni oculari durante la manipolazione dei campioni e l'esecuzione del test. Al termine del test, lavarsi accuratamente le mani.

6.3. I campioni possono contenere agenti potenzialmente infettivi e devono pertanto essere maneggiati come agenti biologici di classe II (Biosafety Level 2) come raccomandato nel manuale dei Centri per il Controllo delle Malattie/Istituti Sanitari Nazionali statunitensi (CDC/NIH) dal titolo: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", quinta edizione.

6.4. Il tampone di lavaggio contiene un potenziale sensibilizzante della cute (< 1% v/v). Evitare il contatto con la pelle. Utilizzare guanti monouso in vinile o nitrile.

6.5. Smettere il tampone di lavaggio in contenitori per rifiuti speciali a rischio biologico.

### PRECAUZIONI ANALITICHE

6.6. Leggere e attenersi scrupolosamente alle indicazioni riportate nel presente foglio illustrativo.

6.7. I reagenti sono già diluiti in misura ottimale, eccetto la soluzione tampone di lavaggio che è concentrata. Non diluire i reagenti qualora ciò non sia espressamente richiesto.

6.8. Non utilizzare reagenti scaduti. La data di scadenza è impressa sull'etichetta di ciascun reagente. L'impiego di reagenti scaduti può influire negativamente sull'accuratezza dei risultati.

6.9. I reagenti utilizzabili con tutta la gamma di prodotti ProSpecT sono i seguenti: tampone di lavaggio, substrato cromogeno e soluzione bloccante.

6.10. La contaminazione microbica dei reagenti può ridurre la sensibilità e compromettere l'accuratezza del saggio. Per evitare la contaminazione microbica dei reagenti, utilizzare pipette sterili monouso quando si prelevano le rispettive aliquote dai flaconi.

6.11. Attendere che i reagenti e i campioni raggiungano la temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'uso.

6.12. Le strisce di micropiastra devono essere conservate all'interno della busta metallica richiudibile, con l'essiccante, per proteggere i micropozzetti dall'umidità.

6.13. I campioni di feci devono essere accuratamente miscelati prima della procedura per assicurarne la rappresentatività. NON CONCENTRARE I CAMPIONI PRIMA DEL TEST.

6.14. Il substrato cromogeno è sensibile alla luce. Se il reagente è rimasto esposto alla luce, con conseguente sviluppo di colore, deve essere scartato.

6.15. Chi è affetto da daltonismo o altri disturbi della vista o della percezione dei colori può non essere in grado di leggere il risultato a occhio nudo e deve pertanto procedere all'interpretazione dei risultati mediante spettrofotometro.

6.16. L'aggiunta di reagenti nei pozzetti deve avvenire rispettando sempre lo stesso ordine procedurale. Per

evitare contaminazioni, non toccare il fluido contenuto nei pozzetti con la punta del contagocce.

6.17. Controllare accuratamente la durata di ciascuna incubazione. Iniziare a cronometrare il tempo dopo aver aggiunto il reagente nell'ultimo pozzetto di ciascuna micropiastra. Per garantire tempi corretti, trattare non più di tre piastre da 96 pozzetti per volta. Ogni scostamento dalla procedura stabilita può alterare le prestazioni del saggio.

6.18. È importante mantenere i flaconi contagocce in posizione verticale per consentire la corretta formazione della goccia sulla punta del beccuccio. Se il beccuccio si bagna prima che arrivi la goccia, si rischia di dispensare gocce di volume inappropriato formatesi attorno al bordo invece che sulla punta. In tal caso, è necessario asciugare il beccuccio prima di procedere.

## 7. RACCOLTA DI CAMPIONI FECALI

Per il test diretto di campioni fecali, si ottengono risultati ottimali qualora si proceda immediatamente al test appena arrivano in laboratorio. Per il test arricchito con brodo, è necessario aggiungere i campioni fecali al brodo di arricchimento immediatamente dopo il loro arrivo in laboratorio.

**CAMPIONI FRESCHI** I campioni fecali freschi e non trattati devono essere conservati a 2-8°C ed esaminati entro 72 ore.

È possibile diluire i campioni in rapporto di 1:3 nel diluente per batteri e conservare i campioni in frigorifero a 2-8°C fino a 72 ore prima del test.

**CAMPIONI CONGELATI** Conservare i campioni a una temperatura di -20°C o inferiore se il test deve essere eseguito dopo 72 ore. Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento.

**TERRENO DI TRASPORTO CARY BLAIR** I campioni fecali raccolti in terreno di trasporto Cary Blair devono essere conservati in frigorifero a 2-8°C ed esaminati entro una settimana dal prelievo.

## 8. PROCEDURA DEL TEST

### MATERIALI NECESSARI FORNITI NEL KIT

Consultare la sezione 5 Contenuto del kit

### MATERIALI NECESSARI NON FORNITI NEL KIT

Contenitori per la raccolta di campioni fecali  
Timer contaminuti  
Spruzzetta per tamponi di lavaggio  
Acqua distillata o deionizzata

### MATERIALI OPZIONALI NON FORNITI NEL KIT

Lettole per micropiastre in grado di leggere a 450 nm o 450/620 - 650 nm  
Tamponcini applicatori con punta di cotone o rayon  
Micropipette da 200 µl  
Provette monouso di plastica o vetro  
Vortex con adattatore per piastre o agitatore

## PROCEDURA

8.1. **Preparazione dei campioni per il saggio:** È possibile aggiungere i campioni in terreno di trasporto Cary Blair direttamente nei pozzetti della micropiastra per il test (vedere punto 8.4). Assicurarsi di miscelare i campioni al terreno di trasporto prima di trasferirli nel pozzetto della micropiastra.

È necessario diluire i campioni fecali freschi o le colture arricchite con brodo (vedere il riquadro **A** o **B** qui sotto).

A	Test diretto delle feci per campioni freschi e non trattati
1	Aggiungere 0,6 ml di diluente per campioni batterici in una provetta monouso pulita di plastica o vetro.
2	Miscelare il più accuratamente possibile le feci.
3	Per le feci liquide e semi-solide, usare la pipetta per aggiungere circa 0,3 ml (terza tacca dalla punta della pipetta). Dispensare il campione nel diluente per campioni batterici e miscelare prelevandolo e rimettendolo nella provetta una sola volta. Lasciare la pipetta nella rispettiva provetta.
4	Per le feci solide, utilizzare un tamponcino applicatore per aggiungere 0,3 g (diametro ~6 mm). Utilizzando il tamponcino applicatore, emulsionare le feci nel diluente per campioni batterici. Posizionare una pipetta nella provetta e miscelare il contenuto prelevandolo e rimettendolo nella provetta una sola volta. Lasciare la pipetta nella rispettiva provetta.
5	<b>PASSARE AL PUNTO 8.2</b>

B	Metodo con brodo per campioni di arricchimento con brodo
1	Inoculare 150 µl o 3 gocce di feci in 5 ml di Brodo GN, Hajna.
2	Incubare a 35 ± 2°C in condizioni atmosferiche ambientali per 18 - 24 ore.
3	Aggiungere 0,6 ml di diluente per batteri in una provetta pulita di 12 x 75 mm.
4	Trasferire 0,3 ml di coltura di brodo in 0,6 ml di diluente per batteri, usando una pipetta. Lasciare la pipetta nella rispettiva provetta.
5	<b>PASSARE AL PUNTO 8.2</b>

8.2. Aprire la busta di alluminio, prelevare il numero necessario di strisce dalla micropiastra e posizionarle nell'apposito supporto. Utilizzare un pozzetto per il campione di controllo negativo e un pozzetto per il campione di controllo positivo. Se si utilizzano meno di 8 pozzetti, staccare dalle strisce il numero di pozzetti necessario e riporre i micropozzetti inutilizzati nella busta di alluminio con essiccante. **RICHIUDERE ERMETICAMENTE LA BUSTA PER PROTEGGERLA DALL'UMIDITÀ E RIPORLA IN FRIGORIFERO.**

8.3. Aggiungere **4 gocce** (200 µl) di controllo negativo nel pozzetto A1. Aggiungere **4 gocce** (200 µl) di controllo positivo nel pozzetto B1.

8.4. Usando una pipetta, aggiungere **4 gocce** di campione diluito o coltura arricchita con brodo o **4 gocce** di campione in terreno di trasporto per ogni pozzetto. Nota: posizionare la punta della pipetta esattamente all'interno di ogni pozzetto per evitare la formazione di schizzi che contaminerebbero i pozzetti adiacenti.

8.5. **Coprire** la micropiastra e incubare a temperatura ambiente (20-25°C) per **60 minuti**. Far partire il timer dopo aver aggiunto l'ultimo campione.

8.6. Decantare o aspirare il contenuto dei pozzetti. Eseguire un lavaggio riempiendo completamente ciascun pozzetto con tampone di lavaggio **diluito** (~350-400 µl per pozzetto). Dopo ciascun lavaggio, decantare o aspirare tutto il fluido contenuto nei pozzetti. Eseguire in totale **3 lavaggi**. Dopo l'ultimo lavaggio, rimuovere il contenuto e picchiare la piastra su panno carta pulito o aspirare.

Svuotare il più possibile i pozzetti senza lasciarli asciugare completamente.

8.7. Aggiungere **4 gocce** (200 µl) di coniugato enzimatico in ciascun pozzetto.

8.8. **Coprire** la micropiastra e incubare a temperatura ambiente (20-25°C) per **30 minuti**.

8.9. Decantare o aspirare ed eseguire **5 lavaggi** in ciascun pozzetto, come da punto 8.6.

8.10. Aggiungere **4 gocce** (200 µl) di substrato cromogeno in ciascun pozzetto.

8.11. **Coprire** la micropiastra e incubare a temperatura ambiente (20-25°C) per **10 minuti**.

8.12. Aggiungere **1 goccia** (50 µl) di soluzione bloccante in ciascun pozzetto. Picchiare delicatamente o passare su Vortex i pozzetti fino a ottenere un colore giallo uniforme. Leggere i risultati entro **10 minuti** dall'aggiunta della soluzione bloccante.

8.13. Leggere i risultati a occhio nudo o mediante spettrofotometro a 450 nm (singola lunghezza d'onda) o 450/620 - 650 nm (doppia lunghezza d'onda).

## 9. CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario includere i controlli positivo e negativo ogni volta che si esegue il test. I controlli positivo e negativo fungono sia da reagenti sia da controlli procedurali e consentono di evidenziare eventuali perdite di efficacia dei reagenti. Il controllo positivo non garantisce la precisione del valore di cut-off del test.

La densità ottica (D.O.) del controllo negativo deve risultare < 0,100 a 450 nm o < 0,070 a 450/620 - 650 nm. Il controllo negativo deve risultare incolore alla lettura effettuata a occhio nudo. Se il controllo negativo risulta di colore giallo corrispondente o superiore al valore di riferimento 1+ riportato sulla scheda della procedura, è necessario ripetere l'esame prestando particolare attenzione all'accuratezza della procedura di lavaggio.

La D.O. del controllo positivo deve risultare > 0,500 a 450 nm o 450/620 - 650 nm. Alla lettura effettuata a occhio nudo, l'intensità di colore del controllo positivo deve risultare corrispondente o superiore al valore di riferimento 2+ riportato sulla scheda della procedura. Se il colore è meno intenso, contattare il servizio di assistenza tecnica.

## 10. RISULTATI

**Per l'interpretazione dei risultati colorimetrici, utilizzare la scala cromatica di riferimento riportata sulla scheda grafica della procedura.**

### LETTURA A OCCHIO NUDO

10.1. Leggere il risultato del test confrontando il colore del pozzetto con la scheda cromatica di riferimento riportata sulla scheda della procedura.

**Positivo:** colore giallo di intensità almeno pari a 1+

**Negativo:** nessun colore

**Indeterminato:** colore giallo pallido, inferiore alla reazione 1+

10.2. Interpretazione dei risultati (lettura a occhio nudo):

**Positivo:** se nel pozzetto in esame si sviluppa colore giallo di intensità almeno pari a 1+, il campione contiene l'antigene specifico di *Campylobacter* e il test è positivo.

**Negativo:** una reazione senza produzione di colore costituisce un risultato negativo e indica l'assenza dell'antigene specifico di *Campylobacter* o la sua presenza a una concentrazione non rilevabile nel campione esaminato.

**Indeterminato:** se si sviluppa un colore giallo pallido inferiore alla reazione 1+, il test è indeterminato. I risultati indeterminati devono essere ripetuti. Se la ripetizione del test fornisce un risultato positivo, il campione è positivo. Se la ripetizione del test fornisce un risultato negativo, il campione è negativo. Se la ripetizione del test fornisce un risultato indeterminato, è necessario prelevare e sottoporre a prova un altro campione.

### LETTURA MEDIANTE SPETTROFOTOMETRO:

10.3. Leggere i risultati a singola lunghezza d'onda (450 nm) o doppia lunghezza d'onda (450/620 - 650 nm).

10.4. Leggere i risultati del test:

A. Singola lunghezza d'onda	Feci fresche	Terreno di trasporto/Brodo
<b>Negativo:</b>	D.O. < 0,130	< 0,100
<b>Indeterminato:</b>	D.O. 0,130 - 0,170	0,100 - 0,130
<b>Positivo:</b>	D.O. > 0,170	> 0,130
B. Doppia lunghezza d'onda	Feci fresche	Terreno di trasporto/Brodo
<b>Negativo:</b>	D.O. < 0,100	< 0,070
<b>Indeterminato:</b>	D.O. 0,100 - 0,140	0,070 - 0,100
<b>Positivo:</b>	D.O. > 0,140	> 0,100

10.5. Interpretazione dei risultati (lettura mediante spettrofotometro):

**Positivo:** un valore di D.O. maggiore di quello indicato per la singola o doppia lunghezza d'onda, a seconda del tipo di campione, è positivo e indica la presenza dell'antigene specifico di *Campylobacter*.

**Negativo:** un valore di D.O. minore di quello indicato per la singola o doppia lunghezza d'onda, a seconda del tipo di campione, è un risultato negativo e indica l'assenza dell'antigene specifico di *Campylobacter* o la presenza di antigeni anti-*Campylobacter* a una concentrazione non rilevabile nei campioni esaminati.

**Indeterminato:** i valori di D.O. che rientrano nel campo indeterminato indicato in base al tipo di campione, sono indeterminati. I risultati indeterminati devono essere ripetuti. Se la ripetizione del test fornisce un risultato positivo, il campione è positivo. Se la ripetizione del test fornisce un risultato negativo, il campione è negativo. Se la ripetizione del test fornisce un risultato indeterminato, è necessario prelevare e sottoporre a prova un altro campione.

Si ha un risultato indeterminato quando i risultati a occhio nudo e con spettrofotometro sono concordanti. I risultati indeterminati devono essere ripetuti. Se la ripetizione del test fornisce un risultato positivo, il campione è positivo. Se la ripetizione del test fornisce un risultato negativo, il campione è negativo. Se la ripetizione del test fornisce un risultato indeterminato, è necessario prelevare e sottoporre a prova un altro campione.

**Nota:** le letture sui pozzetti con un aspetto apparentemente incolore ma che forniscono un valore di D.O. che contrasta con la lettura a occhio nudo devono essere considerate incongruenti e i pozzetti in questione devono essere ricontrollati per verificare l'eventuale presenza di bollicine, di particelle in sospensione o di una patina opaca sul fondo del pozzetto. Eliminare tali elementi di disturbo, pulire l'estremità inferiore dei pozzetti ed effettuare nuovamente la lettura della D.O. In caso di persistenza della discordanza tra lettura a occhio nudo e valore D.O., il test deve essere ripetuto.

## 11. LIMITI DI PERFORMANCE

La validità dei risultati con il saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* è confermata se la reazione di controllo fornisce il risultato atteso. Consultare la sezione **9 Controllo di qualità**.

Un risultato negativo non esclude completamente la presenza di *Campylobacter*; ciò si verifica quando il livello di antigene presente nel campione è inferiore alla soglia di sensibilità del test. Non è stata dimostrata alcuna correlazione tra quantità di antigene presente nel campione e quadro clinico.

Come per tutti gli altri test diagnostici IN VITRO, i risultati devono essere interpretati dal medico specialista in considerazione degli aspetti clinici e/o referti di altri esami di laboratorio.

Un corretto prelievo e un appropriato trattamento del campione sono essenziali per ottenere prestazioni ottimali con il presente saggio. La rapidità di trattamento del campione dopo il prelievo aumenta l'affidabilità dei risultati. Consultare la sezione **7 Raccolta di campioni fecali**.

Il saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* non differenzia tra *C. jejuni* e *C. coli* e possono sussistere altri sierotipi e sottospecie che possono essere determinati o non determinati con il presente saggio. Non è noto se *C. upsalensis*, *C. hyointestinalis* o *C. helveticus* manifestano reazioni crociate.

## 12. VALORI ATTESI

*Campylobacter jejuni* è la causa principale della diarrea batterica negli Stati Uniti e le infezioni raggiungono il massimo nel periodo dell'estate e dell'autunno<sup>5</sup>. Di solito le infezioni sono contratte attraverso l'ingestione di cibo o acqua contaminati. Test su campioni di pollame congelati per la distribuzione commerciale hanno evidenziato tassi di contaminazione dal 30 al 90%<sup>6</sup>. *C. jejuni* è diffuso nel regno animale ed è stato isolato da numerosi animali domestici, pollame e praticamente da ogni specie di uccelli selvatici. È stata inoltre riportata la trasmissione tramite contatto sessuale o per via fecale-orale, così come per aver bevuto acqua di superficie contaminata<sup>5</sup>. I bambini al di sotto dei 5 anni e i giovani (15-29) sono più soggetti alle infezioni rispetto alle persone nelle altre fasce di età. Un recente studio del collegio dei patologi americani di 601 istituzioni ha riscontrato che è possibile individuare un agente patogeno batterico nel 6,4% dei 59.500 campioni esaminati<sup>7</sup>. Il *Campylobacter* è stato individuato nell'1,5% dei campioni, la Salmonella nell'1,15% e la Shigella nello 0,9%. I tassi di incidenza per *C. jejuni* negli Stati Uniti oscillano dall'1,0 al 4,6%<sup>3</sup>. Tassi elevati di 2,9% sono stati riscontrati anche durante uno studio quadriennale in Svizzera<sup>8</sup>.

## 13. CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

### SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ

Il saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* è stato valutato in tre siti clinici distinti geograficamente negli Stati Uniti e in Canada. I siti erano un ospedale metropolitano dell'Illinois, un laboratorio clinico del New Jersey e un laboratorio di test centralizzato dell'Ontario, in Canada. Tutti i campioni sono stati sottoposti a saggi colturali e biochimici per confermare un isolamento positivo del *Campylobacter*. I risultati per ciascuno dei siti di test, dopo ripetizione dei risultati indeterminati e incongruenti come indicato nelle presenti istruzioni per l'uso, sono riportati nella Tabella 1.

**Tabella 1. Saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* rispetto a saggi colturali su campioni fecali diretti.**

RISULTATI DELLA COLTURA PER IL SITO 1				
		+	-	
ProSpecT	+	70	6	
Micropiastra	-	0	337	
Saggio		70	343	413

Sensibilità: 100%  
Specificità: 98,3%

RISULTATI DELLA COLTURA PER IL SITO 2				
		+	-	
ProSpecT	+	10	0	
Micropiastra	-	0	214	
Saggio		10	214	224

Sensibilità: 100%  
Specificità: 100%

RISULTATI DELLA COLTURA PER IL SITO 3				
		+	-	
ProSpecT	+	49	2	
Micropiastra	-	0	361	
Saggio		49	363	412

Sensibilità: 100%  
Specificità: 99,4%

**Tabella 2. Risultati con dati combinati provenienti dai tre siti di trial clinici su campioni fecali diretti**

		Diretti		
		+	-	
ProSpecT	+	129	8	
Micropiastra	-	0	912	
Saggio		129	920	1049

Sensibilità: 100% (97,2 - 100%)  
Specificità: 99,1% (98,3 - 99,6%)  
Correlazione: 99,2% (98,5 - 99,7%)

Come mostra la Tabella 2, combinando i risultati di tutti e tre i siti e risolvendo i risultati di letture indeterminate o discrepanti, la correlazione tra saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* e saggio colturale è del 99,2%. Dopo ripetizione del test, tutti i risultati indeterminati dell'EIA sono stati risolti come negativi. Un solo campione inizialmente si presentava come EIA+, coltura-. In seguito a ripetizione del test, la coltura è risultata positiva ed è stata risolta come risultato effettivamente positivo. Dei rimanenti 8 campioni EIA+, coltura-, una ripetizione dell'EIA ha dato un risultato negativo. Gli altri 7 sono risultati ripetutamente positivi.

Nel sito di prova 2, tutti i campioni sottoposti a saggio colturale diretto sono stati anche arricchiti la sera prima con Brodo GN, Hajna @ 35 ± 2°C in condizioni atmosferiche ambientali. La coltura arricchita è stata quindi analizzata con il saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* e confrontata con la metodologia standard della coltura fecale. I risultati sono riportati nella Tabella 3.

**Tabella 3. Saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* rispetto a saggio colturale su colture fecali arricchite con brodo.**

RISULTATI DELLA COLTURA PER IL SITO DI PROVA 2				
		+	-	
ProSpecT	+	9	0	
Micropiastra	-	1	214	
Saggio		10	214	224

Sensibilità: 90,0% (55,5 - 99,9%)  
Specificità: 100% (98,3 - 100%)  
Correlazione: 99,6% (97,5 - 100%)

Come mostra la Tabella 3, una volta arricchiti i campioni con Brodo GN, Hajna e una volta risolti i risultati incongruenti, la correlazione tra saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* e coltura è del 99,6%. Dopo aver ripetuto il test, tutti i risultati indeterminati e incongruenti dell'EIA sono stati risolti come negativi.

### SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ

Il saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* rivela circa 2,81 ng/ml dell'antigene specifico anti-*Campylobacter* e circa 10<sup>5</sup> CFU per ml.

### RIPRODUCIBILITÀ

Il coefficiente di variazione (CV) inter-saggio o tra diversi cicli del saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* è stato valutato scegliendo un campione negativo e tre campioni positivi con densità ottiche diverse. Ciascun campione è stato sottoposto a test in 22-24 pozzetti per ciclo in tre cicli consecutivi. Il CV medio inter-saggio è stato dell'11,4%.

Campione	D.O. media	Deviazione standard	% 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 %

Il coefficiente di variazione (CV) intra-saggio o all'interno dello stesso ciclo è stato valutato esaminando 22-24 pozzetti con ciascuno dei 4 campioni. Il CV medio intra-saggio è stato del 4,0%.

Campione	D.O. media	Deviazione standard	% 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 %

### REATTIVITÀ CROCIATA

Al momento della prova con saggio su micropiastra ProSpecT *Campylobacter* di numerosi organismi della microflora del colon umano non si è verificata alcuna reattività crociata. I test sono stati condotti inseminando gli organismi elencati di seguito con feci risultate positive e negative al *Campylobacter jejuni*. I batteri sono stati inseminati a concentrazioni di feci > 1 x 10<sup>7</sup> CFU per ml.

*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 vulgaris* ATCC® 33420  
*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853  
*Salmonella typhimurium* SA 972229  
*Serratia liquefaciens* ATCC® 27592  
*Shigella dysenteriae* ATCC® 49347  
*Shigella flexneri* ATCC® 25929  
*Shigella sonnei* ATCC® 25931  
*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923  
*Yersinia enterocolitica* ATCC® 23715

### 14. BIBLIOGRAFIA

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

ProSpecT è un marchio registrato

ATCC® è un marchio registrato di American Type Culture Collection



Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24  
8PW UK

Per l'assistenza tecnica, rivolgersi al proprio distributore di zona.  
Istruzioni per l'uso X7595A, revisione dicembre 2012