

ProSpec™ Campylobacter Microplate Assay

REF	R247609696 testes	PT	
------------	-------------------------	-----------	--

1. UTILIZAÇÃO PREVISTA

O ProSpec™ Campylobacter Microplate Assay é um imunoensaio enzimático de microplacas IN VITRO (EIA) para a detecção qualitativa do antígeno específico do *Campylobacter* em amostras fecais e culturas fecais enriquecidas com caldo. O ProSpecT Campylobacter Microplate Assay destina-se a ajudar no diagnóstico das infecções por *Campylobacter*.

2. RESUMO

A bactéria enteropatogénica *Campylobacter jejuni* é reconhecida como um dos maiores agentes etiológicos da diarreia aguda nos humanos^{1,2,3}. É a causa principal da diarreia bacteriana nos E.U.A. que excede a Salmonella e a Shigella combinadas^{4,5}. Apesar de a doença ter uma distribuição mundial, é especialmente grave nos países em vias de desenvolvimento. As infecções por *Campylobacter jejuni* provocam diarreia que pode ser aguada e conter sangue, geralmente oculto, e leucócitos fecais⁶. Outros sintomas são febre, dores abdominais, náuseas, dores de cabeça e dores musculares. A doença ocorre 2-5 dias após a ingestão de água ou alimentos contaminados e pode durar 7-10 dias. A maioria das infecções são limitadas e a terapia de antibióticos não é necessária⁹. As complicações são raras, no entanto, foi comunicado que as infecções podem ser concorrentes com a artrite reactiva, síndrome urémico hemolítico, meningite, colite recorrente, colecistites agudas e síndrome de Guillain-Barre⁴. As crianças com menos de 5 anos e os adultos jovens (15-29) são afectados mais frequentemente com infecções por *Campylobacter jejuni* do que outros grupos etários.

O diagnóstico das infecções de Campilobacteriose depende actualmente do isolamento e do cultivo do organismo em caldo enriquecido e meio selectivo contendo vários suplementos de antibióticos numa atmosfera micro-aerofílica de 5% de oxigénio e 10% de dióxido de carbono. O isolamento pode demorar de 2 dias a uma semana.

O antígeno específico (SA) do *Campylobacter* é um antígeno de superfície do Campylobacter. A análise Western blot revela 2 bandas com pesos moleculares aproximados de 15Kd e 66Kd. Os estudos de reactividade cruzada indicam que este é um antígeno partilhado por *Campylobacter jejuni* e o *Campylobacter coli*.

3. PRINCÍPIOS DO TESTE

O ProSpecT Campylobacter Microplate Assay é um imunoensaio de fase sólida para a detecção do antígeno específico (SA) do *Campylobacter*. As amostras fecais diluídas são adicionadas aos poços de microplacas separáveis a que o anticorpo anti-*Campylobacter* SA policlonal de coelho está ligado. Se o *Campylobacter* SA existir, é ‘capturado’ pelo anticorpo ligado. Os poços são incubados e limpos para remover o material não ligado. O conjugado enzimático (anti-*Campylobacter* SA policlonal de coelho marcado com enzima de peroxidase de rábano) é adicionado. Os poços são incubados e limpos para

remover o conjugado enzimático não ligado. Numa reacção positiva, o antígeno específico do Campylobacter capturado liga o conjugado enzimático ao poço. O substrato para a enzima, 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB), é adicionado. Numa reacção positiva, a enzima ligada ao poço pelo *Campylobacter* SA converte o substrato num produto de reacção com cor. Pode detectar o desenvolvimento da cor visual ou espectrofotometricamente. Numa reacção negativa, não existe nenhum *Campylobacter* SA ou existe um nível insuficiente de antígeno para ligar o conjugado enzimático e não se desenvolve nenhum produto de reacção com cor.

4. DEFINIÇÕES DOS SÍMBOLOS

REF	Número do catálogo	CONTROL +	
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	CONTROL -	
	Contém o suficiente para <n> testes	SAMPLE DILUENT	
	Consulte as Instruções de utilização (IFU)	SAMPLE DILUENT	
	Limite de temperatura (Temperatura de armazenamento)	WASH BUFFER (x10)	
LOT	Código do lote (Número do lote)	WASH BUFFER (x10)	
	Prazo de validade (Data de expiração)	SUBSTRATE TMB	
	Fabricante	STOP SOLUTION	

DILUTED SAMPLE Amostra diluída

5. CONTEÚDO DO KIT, PREPARAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO E ARMAZENAMENTO

O ProSpecT Campylobacter Microplate Assay inclui os reagentes suficientes para efectuar  96 testes.

Consulte também **Precauções**, secção 6.

O prazo de validade de cada kit é indicado no rótulo da embalagem.

Guarde todos os componentes a uma temperatura entre os 2 e 8°C.

Antes da sua utilização, restaure os reagentes à temperatura ambiente (20 - 25°C) e agite suavemente. Coloque todos os reagentes não utilizados no frigorífico após a utilização.

Todos os reagentes, à excepção do tampão de lavagem, são fornecidos com a concentração de trabalho necessária. Os reagentes podem ser dispensados directamente a partir de frascos conta-gotas ou colocados com as pipetas multicanais. Se colocar uma quantidade excessiva de reagente, tem de retirar a quantidade em excesso. Não volte a deitar o reagente em excesso no frasco.



Instruções de utilização

Pipetas de transferência

Tampa e suporte de tiras de microplacas

Cartão de procedimento

Microplaca* (8 poços / tira)

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.

Conjugado enzimático*

Um frasco conta-gotas com 12 ml (R2476048) ou 25 ml (R2476096) de anticorpo anti-Campylobacter SA policlonal de coelho marcado com peroxidase de rábano, com agentes microbianos.

Controlo positivo

Um frasco conta-gotas com 4 ml de sobrenadante de cultura Campylobacter jejuni inactivo suspenso numa solução tamponada com soro bovino fetal e agentes antimicrobianos.

Controlo negativo

Um frasco conta-gotas com 4 ml de uma solução tamponada com soro de coelho, um corante vermelho e agentes antimicrobianos.

Diluyente da amostra bacteriana

Um frasco com 120 ml de uma solução tamponada com soro de coelho, um corante vermelho e agentes antimicrobianos.

Tampão de lavagem

Um frasco com 120 ml de uma solução tamponada concentrada (x10) com agentes antimicrobianos.

Dilua o concentrado do tampão de lavagem (10x) para (x1) através da adição de 1 parte de concentrado a 9 partes de água destilada ou desionizada. O tampão de lavagem diluído é estável durante 1 mês quando guardado a uma temperatura de 2 a 8°C.

Substrato de cor

Um frasco conta-gotas com 12 ml (R2476048) ou 25 ml (R2476096) de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) em tampão.

O substrato de cor deve ser guardado e utilizado a partir do frasco com protecção contra a luz fornecido. Se retirar uma alíquota do frasco original por qualquer motivo, não volte a colocar o substrato de cor não utilizado no frasco original.

Solução de paragem

Um frasco conta-gotas com 12 ml de 0,46 mol/l de ácido sulfúrico.

***Nota:** Não misture reagentes entre kits com códigos de lotes diferentes.

6. PRECAUÇÕES

IVD

Os reagentes servem apenas para diagnóstico *in vitro*.

Apenas para utilização profissional.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança (FDS) e a rotulagem do produto para obter informações sobre componentes potencialmente perigosos.

INFORMAÇÕES A NÍVEL DA SAÚDE E SEGURANÇA

6.1. Os reagentes são preparados a partir de materiais biológicos e devem ser manuseados como material potencialmente infeccioso. Elimine-os de acordo com os procedimentos de ameaça biológica adequados.

6.2. Não pipete os reagentes com a boca. Use luvas descartáveis e protecções dos olhos durante o manuseamento das amostras e a realização do ensaio. Lave as mãos cuidadosamente quando terminar.

6.3. As amostras podem conter agentes potencialmente infecciosos e devem ser manuseadas de acordo com o Nível 2 da Biosegurança conforme recomendado no manual CDC/NIH, “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories”, 5ª Edição.

6.4. O tampão de lavagem contém um potencial agente sensibilizador cutâneo (< 1% v/v). Evite o contacto com a pele. Use luvas descartáveis de vinil ou nitrilo.

6.5. Coloque o tampão de lavagem usado nos recipientes contra ameaças biológicas adequados.

PRECAUÇÕES ANALÍTICAS

6.6. Leia e cumpra cuidadosamente todas as instruções descritas nestas Instruções de utilização.

6.7. Os reagentes são fornecidos com a concentração de trabalho necessária, com excepção do concentrado do tampão de lavagem. Não dilua reagentes, excepto quando instruído.

6.8. Não utilize os reagentes para além da data de validade. Os prazos de validade estão impressos nos rótulos dos reagentes. A utilização dos reagentes para além do prazo de validade pode afectar a precisão dos resultados.

6.9. Pode utilizar os seguintes reagentes comuns na gama de produtos ProSpecT: tampão de lavagem, substrato de cor e solução de paragem.

6.10. A contaminação microbiana dos reagentes pode reduzir a precisão do ensaio. Evite a contaminação microbiana dos reagentes através da utilização de pipetas descartáveis estéreis quando remover alíquotas dos frascos de reagentes.

6.11. Deixe todos os reagentes e amostras atingirem a temperatura ambiente (de 20 a 25°C) antes da utilização.

6.12. Tem de guardar as tiras das microplacas na embalagem de alumínio reselável, com dessecante, para proteger os poços das microplacas da humidade.

6.13. Deve misturar as amostras fecais antes de processar a amostra para garantir a representação precisa da amostra. **NÃO CONCENTRE AMOSTRAS ANTES DO TESTE.**

6.14. O substrato de cor é sensível à luz. Se o reagente for exposto à luz e desenvolver cor, tem de eliminar o reagente.

6.15. As pessoas daltónicas ou com insuficiência visual podem não conseguir ler o teste visualmente e devem utilizar as leituras espectrofotométricas para interpretar os resultados.

6.16. Adicione os reagentes aos poços do teste pela mesma ordem ao longo do procedimento. Para evitar a contaminação, não toque o fluido nos poços com as extremidades dos frascos.

6.17. Escolha o tempo para cada incubação com precisão. Inicie o tempo depois de adicionar o reagente ao último poço em cada microplaca que pretende testar. Para garantir o tempo preciso, não processe mais de três placas de 96 poços de cada vez. O desvio ao procedimento estabelecido pode alterar o desempenho do ensaio.

6.18. É importante manter os frascos conta-gotas na vertical e que a gota se forme na extremidade do bocal. Se o bocal ficar húmido, forma-se uma gota com um volume incorrecto à volta da extremidade e não na ponta; se isto ocorrer, seque o bocal antes de continuar.

7. RECOLHA DE AMOSTRAS FECAIS

Para testes directos de amostras fecais, os resultados óptimos serão obtidos se as fezes forem testadas imediatamente após a recepção no laboratório. Para testes enriquecidos em caldo, as amostras fecais devem ser adicionadas ao caldo enriquecido imediatamente após a recepção no laboratório.

FRESCO Pode guardar as amostras fecais não preservadas a uma temperatura de 2 a 8°C e testá-las no prazo de 72 horas.

Pode diluir as amostras 1:3 no diluente de amostra bacteriana e guardá-las no frigorífico a uma temperatura de 2 a 8°C até 72 horas antes do teste.

CONGELADO Guarde as fezes a uma temperatura de -20°C ou inferior se efectuar o teste após 72 horas. Evite vários processos de congelação-descongelação.

CARY BLAIR Deve guardar as amostras recolhidas no meio de transporte Cary Blair no frigorífico a uma temperatura de 2 a 8°C e testá-las no prazo de 1 semana após a recolha.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

MATERIAIS NECESSÁRIOS FORNECIDOS

Consulte **Conteúdo do kit**, secção 5

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Recipientes de recolha de amostras fecais
Temporizador com medição de minutos
Frasco de lavagem para tampão de lavagem
Água destilada ou desionizada

MATERIAIS OPCIONAIS NÃO FORNECIDOS

Leitor de microplacas capaz de ler de 450 nm ou de 450/620 a 650 nm
Aplicadores com pontas de algodão ou seda artificial
Micropipeta para fornecer volumes até 200 µl
Tubos de ensaio descartáveis de plástico ou vidro
Misturador de vórtice com agitador ou adaptador de placas

PROCEDIMENTO

8.1. **Preparação de amostras para ensaio:** Pode adicionar amostras em meio de transporte Cary Blair directamente aos poços de microplacas para teste (consulte Passo 8.4 abaixo). Não se esqueça de misturar as amostras no meio de transporte antes de transferir as amostras para o poço de microplacas.

Tem de diluir as amostras fecais frescas ou as culturas enriquecidas com caldo (consulte Caixa **A** ou **B** abaixo).

A	Teste directo de fezes para amostras não preservadas frescas
1	Adicione 0,6 ml de diluente de amostra bacteriana a um tubo descartável limpo de plástico ou vidro.
2	Misture as fezes o mais cuidadosamente possível.

3	Para fezes líquidas ou semi-sólidas, utilize uma pipeta de transferência para adicionar cerca de 0,3 ml (terceira marca a partir da ponta da pipeta). Coloque a amostra no diluente de amostra bacteriana e puxe e baixe uma vez para misturar. Deixe a pipeta de transferência no tubo.
4	Para fezes sólidas, utilize um aplicador para adicionar 0,3 gm (~6 mm de diâmetro). Utilize o aplicador para emulsionar as fezes no diluente de amostra bacteriana. Coloque uma pipeta de transferência no tubo e misture o conteúdo do tubo, puxando e baixando uma vez. Deixe a pipeta de transferência no tubo.
5	CONTINUAR PARA O PASSO 8.2

B	Método do caldo para amostras enriquecidas com caldo
1	Inocule 150 µl ou 3 gotas de fezes em 5 ml de caldo GN, Hajna.
2	Incube a uma temperatura de 35 ± 2°C em condições atmosféricas ambiente durante 18 - 24 horas.
3	Adicione 0,6 ml de diluente de amostra bacteriana a um tubo limpo de 12 x 75 mm.
4	Transfira 0,3 ml de caldo de cultura para 0,6 ml de diluente de amostra bacteriana com uma pipeta de transferência. Deixe a pipeta de transferência no tubo.
5	CONTINUAR PARA O PASSO 8.2

8.2. Abra a embalagem de alumínio, remova o número indicado de tiras de microplacas e coloque-as num suporte de tiras de microplacas. Utilize um poço para o controlo negativo e um poço para o controlo positivo. Se utilizar menos de 8 poços, separe o número necessário de poços de uma tira e volte a colocar os poços não utilizados na embalagem de alumínio com dessecante. VOLTE A VEDAR PARA EXCLUIR A HUMIDADE E VOLTE A COLOCAR NO FRIGORÍFICO.

8.3. Adicione **4 gotas** de (200 µl) controlo negativo ao poço A1. Adicione **4 gotas** de (200 µl) controlo positivo ao poço B1.

8.4. Utilize uma pipeta de transferência para adicionar **4 gotas** de amostra diluída ou caldo de cultura enriquecido, ou **4 gotas** de amostra em meio de transporte por poço. Nota: Coloque a abertura da pipeta de transferência no interior do poço para evitar os salpicos para os poços adjacentes.

8.5. **Cubra** a microplaca e incube à temperatura ambiente (20 - 25°C) durante **60 minutos**. Inicie o tempo após a adição da última amostra.

8.6. Sacuda ou aspire o conteúdo dos poços. Encha completamente cada poço com tampão de lavagem **diluído** para lavar o poço (~350-400 µl/poço). Após cada lavagem, sacuda ou aspire todo o líquido existente nos poços. Lave **3 vezes**. Após a última lavagem, remova o conteúdo e dê pancadinhas com a placa em cima de toalhas de papel limpas ou aspire. Retire a maior quantidade possível de tampão de lavagem, mas nunca deixe os poços secarem.

8.7. Adicione **4 gotas** (200 µl) de conjugado enzimático a cada poço.

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

8.9. Sacuda ou aspire e lave cada poço **5 vezes** conforme indicado no passo 8.6.

8.10. Adicione **4 gotas** (200 µl) de substrato de cor a cada poço.

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

8.12. Adicione **1 gota** (50 µl) de solução de paragem a cada poço. Bata gentilmente ou agite os poços até a cor amarela estar uniforme. Leia as reacções **10 minutos** após a adição da solução de paragem.

8.13. Leia visual ou espectrofotometricamente a 450 nm (comprimento de onda individual) ou de 450/620 a 650 nm (comprimento de onda duplo).

9. CONTROLO DE QUALIDADE

Tem de incluir os controlos positivos e negativos sempre que efectuar o teste. Os controlos positivos e negativos servem como controlos de procedimentos e de reagentes. Os controlos destinam-se a monitorizar falhas substanciais dos reagentes. O controlo positivo não garante a precisão no corte do ensaio.

A densidade óptica (D.O.) do controlo negativo deve ser < 0,100 a 450 nm ou < 0,070 de 450/620 a 650 nm. O controlo negativo não deve ter cor quando lido visualmente. Se aparecer a cor amarela igual a 1+ ou superior no cartão de procedimento no controlo negativo, deve repetir o teste com especial atenção ao procedimento de lavagem.

A densidade óptica do controlo positivo deve > 0,500 a 450 nm ou de 450/620 a 650 nm. Visualmente, a intensidade da cor no controlo positivo deve ser igual ou superior à reacção 2+ no cartão de procedimento. Se existir menos cor, contacte a assistência técnica.

10. RESULTADOS

Consulte o cartão de procedimento fornecido para as interpretações de cores.

VISUAL

10.1. Leia os resultados dos testes, comparando com as cores de reacção do cartão de procedimento.

Positivo: Cor amarela com uma intensidade mínima de 1+
Negativo: Sem Cor

Indeterminado: Cor amarela desmaiada, inferior à reacção 1+

10.2. Interpretação dos resultados visuais:

Positivo: Se aparecer a cor amarela com uma intensidade mínima de 1+ no poço de teste, a amostra contém *Campylobacter* SA e o teste é positivo.

Negativo: Uma reacção Sem Cor é um resultado negativo e indica que não existe *Campylobacter* SA ou existe um nível indetectável de *Campylobacter* SA na amostra testada.

Indeterminado: Se aparecer a cor amarela desmaiada inferior à reacção 1+, o teste é indeterminado. Os resultados indeterminados devem ser repetidos. Se os resultados do teste repetido forem positivos, a amostra é positiva. Se os resultados do teste repetido forem negativos, a amostra é negativa. Se os resultados do teste repetido permanecerem indeterminados, deve obter e testar outra amostra.

ESPECTROFOTOMÉTRICA

10.3. Leia os resultados no comprimento de onda individual (450 nm) ou duplo (de 450/620 a 650 nm).

10.4. Leia os resultados do teste:

A. Comprimento de onda individual	Fezes frescas	Material de transporte/Caldo
Negativo:	D.O. < 0,130	< 0,100
Indeterminado:	D.O. 0,130 - 0,170	0,100 - 0,130
Positivo:	D.O. > 0,170	> 0,130
B. Comprimento de onda duplo	Fezes frescas	Material de transporte/Caldo
Negativo:	D.O. < 0,100	< 0,070
Indeterminado:	D.O. 0,100 - 0,140	0,070 - 0,100
Positivo:	D.O. > 0,140	> 0,100

10.5. Interpretação dos resultados espectrofotométricos:

Positivo: Uma leitura de densidade óptica superior ao corte indicado para o comprimento de onda individual ou duplo por tipo de amostra é um resultado positivo e indica a presença de *Campylobacter* SA.

Negativo: Uma leitura de densidade óptica inferior ao corte indicado para o comprimento de onda individual ou duplo por tipo de amostra é um resultado negativo e indica que não existe *Campylobacter* SA ou existe um nível indetectável de *Campylobacter* SA na amostra testada.

Indeterminado: As leituras da densidade óptica existentes no intervalo indeterminado indicado por tipo de amostra são resultados indeterminados. Os resultados indeterminados devem ser repetidos. Se os resultados do teste repetido forem positivos, a amostra é positiva. Se os resultados do teste repetido forem negativos, a amostra é negativa. Se os resultados do teste repetido permanecerem indeterminados, deve obter e testar outra amostra.

Um resultado indeterminado acontece quando as leituras visuais e espectrofotométricas estão de acordo. Os resultados indeterminados devem ser repetidos. Se os resultados do teste repetido forem positivos, a amostra é positiva. Se os resultados do teste repetido forem negativos, a amostra é negativa. Se os resultados do teste repetido permanecerem indeterminados, deve obter e testar outra amostra.

Nota: Qualquer poço que esteja visualmente limpo, mas forneça uma leitura de densidade óptica inconsistente com a interpretação visual deve ser considerado como fornecendo uma leitura discrepante e examinado para se verificar se existem bolhas, pequenas partículas ou uma película opaca no fundo do poço. Para remover a película, limpe a parte inferior dos poços e leia a densidade óptica novamente. Se a discrepância entre as leituras visuais e da densidade óptica persistir, repita o teste.

11. LIMITAÇÕES DE DESEMPENHO

A validade dos resultados com o ProSpecT *Campylobacter* Microplate Assay depende da reacção de controlo funcionar conforme previsto. Consulte **Controlo de qualidade**, secção 9.

Um resultado de teste negativo não exclui a possibilidade da presença do *Campylobacter*, e pode ocorrer quando o nível de antigénio na amostra for inferior ao nível de detecção do teste. A correlação entre a quantidade de antigénio numa amostra e a apresentação clínica não foi estabelecida.

Os resultados de todos os testes de diagnóstico IN VITRO devem ser interpretados por um médico juntamente com as conclusões clínicas e/ou outros resultados laboratoriais.

A recolha e o processamento adequados de amostra são essenciais para alcançar um desempenho óptimo do ensaio. Os resultados óptimos dos testes são obtidos a partir de amostras testadas logo após a recolha. Consulte **Recolha de amostras fecais**, secção 7.

O ProSpecT Campylobacter Microplate Assay não diferencia o *C. jejuni* e o *C. coli* e existem outros serotipos e subespécies que podem ou não ser detectados. Não se sabe se o *C. upsalensis*, o *C. hyointestinalis*, ou o *C. helveticus* têm reacções cruzadas.

12. VALORES ESPERADOS

O *Campylobacter jejuni* é a causa principal da diarreia bacteriana nos E.U.A. e as infecções ocorrem mais no período entre o Verão e o Outono⁵. As infecções são geralmente contraídas através da ingestão de água ou alimentos contaminados. O teste de amostras de aves congeladas comercialmente revelou taxas de contaminação de 30 a 90%⁶. O *C. jejuni* está muito generalizado no reino animal e foi isolado de vários animais domésticos, aves domésticas e de quase todas as espécies de aves selvagens. A transmissão por contacto sexual ou pela via fecal-oral foi também referida, assim como pela ingestão de água de superfície contaminada⁵. As crianças com menos de 5 anos e os adultos jovens (15-29) são afectados mais frequentemente do que outros grupos etários. Um estudo recente do College of American Pathologists de 601 instituições concluiu que é possível identificar um patógeno bacteriano em 6,4% das 59.500 amostras enviadas⁷. O *Campylobacter* foi identificado em 1,5% das amostras, a *Salmonella* em 1,15% e a *Shigella* em 0,9%. As taxas de prevalência do *C. jejuni* nos Estados Unidos vão de 1,0 a 4,6%⁸. Foram também encontradas taxas até 2,9% num estudo de 4 anos na Suíça⁹.

13. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

O ProSpecT Campylobacter Microplate Assay foi avaliado em três locais clínicos distintos geograficamente nos Estados Unidos e no Canadá. Os locais foram um Hospital Central em Illinois, um grande laboratório de referência em New Jersey e um laboratório de testes central em Ontário, Canadá. Todas as amostras foram testadas através de ensaios bioquímicos e culturas para confirmar o isolamento positivo do *Campylobacter*. Os resultados de cada local de testes após a repetição dos resultados indeterminados e das leituras discrepantes, conforme indicado pelas instruções nestas Instruções de utilização, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. ProSpecT Campylobacter Microplate Assay comparados com ensaios de culturas em amostras fecais directas.

LOCAL 1 RESULTADOS DA CULTURA

		+	-	
ProSpecT	+	70	6	
Microplate	-	0	337	
Assay		70	343	413

Sensibilidade: 100 %
Especificidade: 98,3%

LOCAL 2 RESULTADOS DA CULTURA

		+	-	
ProSpecT	+	10	0	
Microplate	-	0	214	
Assay		10	214	224

Sensibilidade: 100%
Especificidade: 100%

LOCAL 3 RESULTADOS DA CULTURA

		+	-	
ProSpecT	+	49	2	
Microplate	-	0	361	
Assay		49	363	412

Sensibilidade: 100%
Especificidade: 99,4%

Tabela 2: Resultados com dados combinados dos três locais de testes clínicos em amostras fecais directas.

		Directas		
		+	-	
ProSpecT	+	129	8	
Microplate	-	0	912	
Assay		129	920	1049

Sensibilidade: 100% (97,2 - 100%)
Especificidade: 99,1% (98,3 - 99,6%)
Correlação: 99,2% (98,5 - 99,7%)

Conforme apresentado na Tabela 2, existiu uma correlação de 99,2% entre o ProSpecT Campylobacter Microplate Assay e a cultura quando os resultados dos três locais foram combinados e todos os resultados de leituras discrepantes e indeterminadas foram resolvidos. Todos os resultados de leituras EIA discrepantes foram resolvidos como negativos após a repetição do teste. Houve uma amostra que foi inicialmente EIA+, Cultura-. No teste repetido, a cultura deu resultado positivo e foi resolvida como um positivo verdadeiro. Das restantes 8 amostras EIA+, Cultura-, uma foi EIA negativa novamente. As outras 7 foram repetidamente positivas.

No local de ensaio 2, todas as amostras testadas no ensaio directo de fezes foram também enriquecidas com caldo GN durante a noite, Hajna @ 35 ± 2°C em condições atmosféricas ambiente. A cultura enriquecida foi testada com o ProSpecT Campylobacter Microplate Assay e comparada com a metodologia da cultura fecal standard. Os resultados aparecem na Tabela 3.

Tabela 3: ProSpecT Campylobacter Microplate Assay comparado com o ensaio de cultura em culturas fecais enriquecidas com caldo.

LOCAL DE ENSAIO 2 RESULTADOS DA CULTURA

		+	-	
ProSpecT	+	9	0	
Mikroplytka	-	1	214	
Test		10	214	224

Sensibilidade: 90,0% (55,5 - 99,9%)
Especificidade: 100% (98,3 - 100%)
Correlação: 99,6% (97,5 - 100%)

Conforme apresentado na tabela 3, existiu uma correlação de 99,6% entre o ProSpecT Campylobacter Microplate Assay e a cultura quando as amostras foram enriquecidas em caldo GN, Hajna e todos os resultados discrepantes foram resolvidos. Todos os resultados EIA discrepantes e indeterminados foram resolvidos como negativos após a repetição do teste.

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

O ProSpecT Campylobacter Microplate Assay detecta cerca de 2,81 ng/ml de antígeno específico do *Campylobacter* e cerca de 10⁵ UFC/ml.

REPRODUTIBILIDADE

O coeficiente de variação inter-ensaios ou de série para série do ProSpecT Campylobacter Microplate Assay foi avaliado através da selecção de uma amostra negativa e três amostras positivas com diferentes leituras de densidade óptica. Cada amostra foi testada em 22-24 poços/série em três séries consecutivas. O coeficiente de variação médio inter-ensaios foi 11,4%.

Amostra	Densidade óptica média	Desvio padrão	% 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 %

O coeficiente de variação intra-ensaio ou dentro da série foi avaliado através do teste de 22-24 poços com cada uma das 4 amostras. O coeficiente de variação médio intra-ensaio foi 4,0%.

Amostra	Densidade óptica média	Desvio padrão	% 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 %

REACTIVIDADE CRUZADA

Não existiu nenhuma reacção cruzada quando vários organismos da microflora do cólon humano foram testados no ProSpecT Campylobacter Microplate Assay. Os testes foram realizados através da colocação dos organismos listados abaixo em fezes positivas e negativas Campylobacter jejuni. As bactérias foram colocadas em concentrações >1 x 10⁷ UFC/ml de fezes.

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 é uma marca registada

ATCC® é uma marca registada da American Type Culture Collection



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

Para obter assistência técnica, contacte o distribuidor local.

IFU X7595A, Revisado dezembro 2012