



Instruções de utilização

CAMPYLOBACTER SPECIES AG CARD

TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO RÁPIDO PARA A DETEÇÃO QUALITATIVA DE *CAMPYLOBACTER SPP* (IDENTIFICA AS ESPÉCIES PATOGENICAS *CAMPYLOBACTER JEJUNI* E *CAMPYLOBACTER COLI*) EM FEZES HUMANAS E EM COLÓNIAS SUSPEITAS

1 - SIGNIFICADO CLÍNICO E utilização PRETENDIDA

Apenas para diagnóstico *in vitro*

A Campilobacteriose é a doença causada pela presença de *Campylobacter* spp. As vias comuns de transmissão são o contacto fecal-oral, o contacto sexual pessoa a pessoa, a ingestão de alimentos ou água contaminados, e a ingestão de carne crua. O aparecimento dos sintomas da doença ocorre geralmente dois a cinco dias após a infeção, mas pode variar de um a dez dias.

Existem 16 espécies e 6 subespécies atribuídas ao género *Campylobacter*, das quais as mais frequentemente notificadas na doença humana são *C. jejuni* (subespécie *jejuni*) e *C. coli* (99% *C. jejuni*). *C. laridis* e *C. upsaliensis* são também consideradas como agentes patogénicos primários, mas são geralmente relatadas com muito menos frequência em casos de doença humana.

Os sintomas clínicos mais comuns das infeções por *Campylobacter* incluem diarreia (frequentemente com sangue nas fezes), dor abdominal, febre, dores de cabeça, náuseas e/ou vômitos. Os sintomas duram tipicamente de três a seis dias.

Campylobacter Species Ag Card é um teste imunocromatográfico manual e rápido para a deteção qualitativa de *Campylobacter* spp. (identifica as espécies patogénicas *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*) em amostras de fezes e colónias suspeitas de *Campylobacter* em cultura de fezes. O teste oferece um ensaio de rastreio simples e altamente sensível para fazer um diagnóstico presuntivo da infeção por *Campylobacter* (campilobacteriosis) e poderá ser utilizado para identificar isolados suspeitos de *Campylobacter* a partir de meios seletivos (cultura de fezes).

2 - PRINCÍPIO DO MÉTODO

O *Campylobacter* Species Ag Card é um método imunocromatográfico não invasivo, simples de executar, rápido e muito preciso para a determinação de *Campylobacter* em amostras de fezes e de colónias suspeitas de *Campylobacter* em cultura de fezes.

A tira consiste numa membrana de nitrocelulose pré-revestida com anticorpos monoclonais de ratinho na linha de teste (T), na janela de resultados, contra *Campylobacter* e com anticorpos policlonais de coelho, na linha de controlo (C), contra uma proteína específica. A parte absorvente da tira é pulverizada com solução contendo anticorpos monoclonais de ratinho anti-*Campylobacter* conjugados com látex de poliestireno vermelho e com uma solução contendo uma proteína de ligação específica conjugada com látex de poliestireno verde, formando complexos conjugados coloridos.

Se a amostra for positiva para *Campylobacter*, o antígeno da amostra diluída reage com o complexo conjugado de cor vermelha (microesferas de poliestireno vermelho conjugadas com anticorpos monoclonais anti-*Campylobacter*) que estava previamente seco na tira absorvente. A mistura migra então para cima sobre a membrana por capilaridade. À medida que a amostra flui através da membrana de teste, os complexos conjugados de ligação migram. Os anticorpos anti-*Campylobacter* presentes na membrana (linha de teste) capturam o conjugado colorido e a linha vermelha será visível. Esta banda é utilizada para interpretar o resultado.

Se a amostra for negativa, não há presença do antígeno *Campylobacter* ou o antígeno pode estar presente numa concentração inferior ao limite de deteção, com a qual a reação não terá lugar com o complexo conjugado de cor vermelha. Os anticorpos anti-*Campylobacter* presentes na membrana (linha de teste) não capturam o complexo conjugado de cor vermelha do antígeno (não formado), por isso a linha vermelha não aparecerá. Quer a amostra seja positiva ou não, a mistura continua a migrar através da membrana para os anticorpos específicos imobilizados colocados na linha de controlo. Os anticorpos proteicos específicos presentes na membrana irão capturar o complexo de controlo conjugado verde e a linha de controlo irá sempre aparecer. A presença desta linha verde serve para: 1) verificar que é adicionado volume suficiente, 2) confirmar que é obtido um fluxo adequado e 3) funcionar como 1 controlo interno para os reagentes.

3 - MATERIAIS FORNECIDOS - EMBALAGEM

Produto	Tipo	REF	Conteúdo
Campylobacter Species Ag Card CND: W0105011401; EDMA: 14.70.01.90; RDM: 1424105/R	Teste Imunocromatográfico	VC1007 (25 testes)	25 invólucros de alumínio selados contendo a cassete, com excicante. 25 tubos de plástico com ponta conta-gotas contendo o líquido de extração. Para utilizar também como controlo negativo (25 x 1 mL). Embalagem secundária: caixa de cartão.

4 - MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Recipiente de recolha de amostras, tubos para teste, conta-gotas de plástico, luvas descartáveis, cronómetro.

5 - PRECAUÇÕES E AVISOS

- Todas as operações ligadas à utilização do teste devem ser realizadas em conformidade com as Boas Práticas de Laboratório.
- *Campylobacter* Species Ag Card é um teste qualitativo apenas para diagnóstico *in vitro*, para uso profissional; deve ser utilizado por pessoal de laboratório adequadamente treinado e qualificado.
- Este produto não é classificado como perigoso de acordo com a atual legislação europeia.
- Evite tocar na nitrocelulose com os dedos.
- Todas as amostras devem ser consideradas potencialmente perigosas e manuseadas da mesma forma que um agente infeccioso.
- Cada cassete de teste e cada frasco tampão de extração são apenas para uma única utilização.
- Nunca utilizar reagentes de outro lote.
- O teste deve permanecer no invólucro selado até à sua utilização, e o teste deve ser realizado no prazo de 2 horas após a abertura do invólucro selado.
- Não utilizar o teste se o invólucro estiver danificado.
- A presença de linhas amarelas na janela de resultados (controlo e zona da linha de teste), que são visíveis antes da utilização do teste, são completamente normais. Isto não significa falha na funcionalidade do teste.
- Usar luvas ao manusear a amostra.
- Descartar as luvas descartáveis, tampão de extração, tubos de ensaio e cassetes usadas num recipiente de risco biológico.
- A qualidade dos reagentes não pode ser garantida depois da data de validade ou se os reagentes forem armazenados em condições inadequadas.
- Os Certificados de Análise e a Ficha de Dados de Segurança do produto estão disponíveis no website www.masciabrunelli.it.





- Se o dispositivo contiver matérias-primas de origem animal, a matéria-prima envolvida é derivada de animais que foram abatidos num matadouro autorizado e, na sequência de uma inspeção *antemortem*, que não mostraram qualquer sinal de doença transmissível a seres humanos ou animais. Em qualquer caso, recomenda-se que o kit seja tratado como potencialmente infeccioso, e manuseado seguindo as precauções específicas habituais: não ingerir, inalar, ou deixar entrar em contacto com a pele, olhos, membranas mucosas.
- As informações fornecidas neste documento foram elaboradas com o melhor dos nossos conhecimentos e capacidades e representam uma orientação para a utilização adequada do produto, mas sem obrigação ou responsabilidade. Em todo o caso, o utilizador final deve respeitar as leis, regulamentos e procedimentos locais para o teste de amostras colhidas de diferentes origens humanas e animais, amostras ambientais e para produtos destinados ao consumo humano ou animal. As nossas informações não isentam os nossos clientes da sua responsabilidade de verificar a adequação do nosso produto para o fim pretendido.
- Notificar a Mascia Brunelli Spa e as autoridades competentes de quaisquer incidentes graves que ocorram relacionados com o dispositivo de diagnóstico *in vitro*. complaint@masciabrunelli.it

6 - CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após receção, armazenar o kit na sua embalagem original à temperatura refrigerada ou ambiente (2-30°C/36-89°F). Se for devidamente armazenado, o kit pode ser utilizado até à data de validade. A cassette de teste deve permanecer no invólucro selado até à sua utilização. Não utilizar a cassette de teste após 2 horas da abertura do invólucro selado. Não congelar.

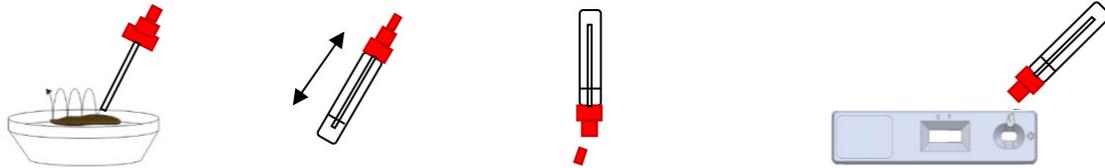
7 – COLHEITA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Amostras fecais: As amostras de fezes devem ser colhidas em recipientes limpos e secos. As amostras podem ser armazenadas no frigorífico (2-8°C) durante **1-2 dias** antes de serem testadas. Para armazenamento mais prolongado, máximo de **1 ano**, a amostra deve ser mantida congelada a -20°C. Neste caso, a amostra terá de ser totalmente descongelada e deixada atingir a temperatura ambiente antes de ser testada. Homogeneizar a amostra de fezes o mais completamente possível antes da preparação. Não são recomendados ciclos de congelação e descongelação.

Preparação das amostras

Desenroscar a parte superior do tubo de extração. Colher a amostra de fezes com a ponta do dispositivo de recolha mergulhando em *quatro* locais diferentes da mesma amostra de fezes. Verificar que é transferido uma pequena porção de fezes. Voltar a colocar o dispositivo de recolha no tubo de ensaio de plástico. Agitar o tubo de extração a fim de obter uma solução homogénea. Se necessário repetir as operações anteriores a fim de obter uma solução castanha-amarelada escura

A transferência de uma quantidade de fezes demasiado pequena, ou a não mistura e suspensão completa das fezes no tubo de extração pode resultar num resultado de teste falso-negativo. Deve-se ter o cuidado de transferir nem menos, nem mais do que a quantidade indicada. A amostra deve ser completamente misturada num vórtex antes de ser testada. A adição de uma quantidade excessiva de fezes pode causar resultados inválidos devido à restrição do fluxo da amostra. Para **amostras líquidas**, adicionar aproximadamente 125 µL no tubo de recolha de fezes usando uma micropipeta. Fechar o tubo com o diluente e a amostra de fezes. Agitar o tubo de modo a assegurar uma boa dispersão da amostra.



Colónias suspeitas de *Campylobacter* em cultura de fezes. Usar meios seletivos para o isolamento de *Campylobacter* (atmosfera microaeróbica, 48 horas/42°C). Após 48 horas de incubação em meios seletivos, as colónias típicas de *Campylobacter* já terão crescido.

1. Examinar as placas após 2 dias de incubação. Selecionar as colónias típicas de *Campylobacter*. Desenroscar a tampa do tubo de recolha. Utilizar a vareta ou uma ansa de inoculação para recolher 3 ou 4 colónias suspeitas de *Campylobacter* e adicioná-las ao tubo de recolha.
2. Fechar o tubo com o diluente e as colónias suspeitas. Agitar o tubo de modo a assegurar uma boa dispersão da amostra.

8 - EXECUÇÃO DO TESTE

Deixar que os testes, amostras de fezes e tampão atinjam a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes de serem testados. Não abrir os invólucros até estar pronto para realizar o teste.

- 1 Retirar a cassette de teste do invólucro de proteção. Identificar a cassette de plástico com os dados do doente.
2. Homogeneizar o tubo de ensaio que contém a amostra sob investigação. Partir a ponta do tubo de ensaio.
3. Pipetar 3 gotas da mistura extraída para o poço da amostra "S" da cassette. Evitar a adição de partículas sólidas juntamente com o líquido.
4. Ler o resultado 10 minutos após a adição da amostra. Não exceder os 10 minutos.

Se o teste não migrar devido a partículas sólidas, agitar a amostra adicionada na janela da amostra (S) com uma vareta. Se não funcionar, adicionar uma gota de diluente até ver o líquido a migrar através da zona de reação.

9 - LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Interpretar os resultados da seguinte forma:



Positivo

Negativo

Inválido

	Campylobacter	Interpretação dos resultados
1.	- VERDE	Não há presença de <i>Campylobacter</i> . Não há infeção causada por <i>Campylobacter</i> . Resultado negativo.
2.	+ VERMELHO- VERDE	Presença de <i>Campylobacter</i> . Infeção por <i>Campylobacter</i> , que pode significar diarreia, dor abdominal, febre, dor de cabeça, náuseas e/ou vômitos.
3.	OUTROS RESULTADOS	Resultado inválido, recomenda-se a repetição do teste utilizando a mesma amostra com outra cassette.





INVÁLIDO: Ausência total de qualquer banda colorida de controlo (VERDE) independentemente do aparecimento ou não da banda de teste (VERMELHO). As principais razões para a falha das linhas de controlo são, na sua maioria, volume insuficiente de amostra, procedimentos de teste incorretos ou deterioração dos reagentes. Rever o procedimento e repetir o ensaio com um novo teste. Se os sintomas ou a situação ainda persistirem, descontinuar a utilização do kit de teste e contactar o distribuidor local.

NOTAS SOBRE A INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A intensidade da banda de cor vermelha na linha de teste (T) na janela de resultados irá variar dependendo da concentração de antígenos presentes na amostra. No entanto, nem o valor quantitativo nem a taxa de aumento dos antígenos podem ser determinados por este teste qualitativo.

10 - CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO

O procedimento de Controlo de Qualidade Interno está incluído em cada tira de teste. Uma linha que aparece na região de controlo (C) é o controlo interno. Confirma volume suficiente de amostra e procedimento correto.

11 – VALORES ESPERADOS

Campylobacter spp são bactérias que são a principal causa de diarreia nos humanos e são geralmente consideradas como a causa bacteriana mais comum de gastroenterite em todo o mundo. Nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, causam mais casos de diarreia do que, por exemplo, a bactéria *Salmonella* de origem alimentar. Nos países em desenvolvimento, as infeções por *Campylobacter* em crianças com menos de dois anos de idade são especialmente frequentes, resultando por vezes na morte. Em quase todos os países desenvolvidos, a incidência de infeções humanas por *Campylobacter* tem vindo a aumentar de forma constante desde há vários anos. As razões para tal são desconhecidas.

12 – CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica (limite de deteção)

Os valores do-limite de deteção para as diferentes amostras são:

Para a deteção de *Campylobacter jejuni*: O valor do limite de deteção inferior é: 3,12ng/mL de proteína recombinante de *Campylobacter jejuni*.
O valor do limite de deteção típico é: 0,78ng/mL de proteína recombinante de *Campylobacter jejuni*.

Para a deteção de *Campylobacter coli*: O valor do limite de deteção inferior é: 3,12ng/mL de proteína recombinante de *Campylobacter coli*.
O valor do limite de deteção típico é: 0,78ng/mL de proteína recombinante de *Campylobacter coli*.

Sensibilidade e especificidade clínicas

Foi realizada uma avaliação usando o *Campylobacter Species Ag Card* versus um kit comercial qPCR (VIASURE *Campylobacter Real Time PCR Detection Kit*). As 113 amostras foram obtidas de doentes com os mesmos sintomas que os da infeção por *Campylobacter*.

O *Campylobacter Species Ag Card* mostrou 93,7% de sensibilidade, 98% de especificidade, VPP 98,3% e VPN 92,5%.

Reações-cruzadas e Interferências

Foi realizada uma avaliação para determinar reações-cruzadas do *Campylobacter Species Ag Card*. Não há reações-cruzadas com agentes patogénicos intestinais comuns, outros organismos e substâncias ocasionalmente presentes nas fezes: *Adenovirus*, *Astrovirus*, *C. difficile* antígeno GDH, *Clostridium perfringens*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba dispar/histolytica*, *E. coli* O:111, O149, O157:H7, *Giardia*, *H. pylori*, *Legionella*, *Listeria monocytogenes*, *Norovirus GI/GII*, *Rotavirus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Yersinia enterocolitica* O3/O9.

13 - LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Um excesso de amostra pode causar resultados errados (aparecem bandas castanhas). Diluir a amostra com o líquido de extração e repetir o teste.
- O *Campylobacter Species Ag Card* só deve ser usado em amostras de fezes humanas. A utilização de outras amostras não foi ainda testada. A qualidade do teste depende da qualidade da amostra; devem ser obtidas amostras de fezes adequadas.
- Não são recomendados ciclos de congelação e descongelação da amostra, podendo causar resultados errados.
- Um resultado positivo determina a presença de *Campylobacter* na amostra (determinação qualitativa) e pode ser devido a uma variedade de causas e/ou espécies. Nem um valor quantitativo nem a taxa de aumento do antígeno podem ser determinados com este teste.
- Com um resultado positivo, devem ser realizadas outras técnicas laboratoriais para confirmar os resultados. No entanto, a confirmação da infeção só deve ser feita pelo médico após avaliação de todos os resultados clínicos e laboratoriais e deve basear-se na correlação dos resultados com outras observações clínicas.
- Um resultado negativo não é significativo porque é possível que a concentração de antígenos na amostra de fezes seja inferior ao valor limite de deteção. Se os sintomas ou situação ainda persistirem, deve ser efetuada uma determinação de *Campylobacter* numa amostra a partir de uma cultura de enriquecimento.
- As amostras de fezes mucosas e/ou ensanguentadas podem causar reações não específicas com o teste. As amostras de fezes mucosas e/ou com sangue, cujo resultado seja positivo, devem ser acompanhadas com outras técnicas para confirmar o resultado.

14 - REFERÊNCIAS

- Fernández, H. and Farace, M.I. "Manual de Procedimientos *Campylobacter*". INEI. 2003.
- Kawatsu, K. et al. "Development and Evaluation of Immunochromatographic Assay for Simple and Rapid Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Human Stool Specimens". *Journal of Clinical Microbiology* Apr. 2008 Vol 46, No. 4, p. 1226-1231.

TABELA DE SÍMBOLOS APLICÁVEIS

	Dispositivo para Diagnóstico <i>In vitro</i>		Limites de temperatura		Código do lote (EXXX)		Fabricante		Conservar seco		Identificador único do dispositivo
	Consultar as instruções de utilização		Data do prazo de validade		Número de Catálogo		Não reutilizar		Frágil, manipular com cuidado		Manter afastado da luz solar

HISTÓRICO DE REVISÃO

Versão	Descrição das alterações	Data
Instruções de Utilização (IFU) - Revisão 3	Esquema e conteúdo atualizados	2023/01

Nota: pequenas alterações tipográficas, gramaticais, e de formatação não estão incluídas no histórico de revisões.

