



## 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. lariidis* 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<br>CND: W0105011401;<br>EDMA: 14.70.01.90;<br>RDM: 1424105/R | Teste Imunocromatográfico | VC1007<br>(25 testes) | 25 invólucros de alumínio selados contendo a cassete, com excicante.<br>25 tubos de plástico com ponta conta-gotas contendo o líquido de extração. Para utilizar também como controlo negativo (25 x 1 mL).<br>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](http://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](mailto: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.

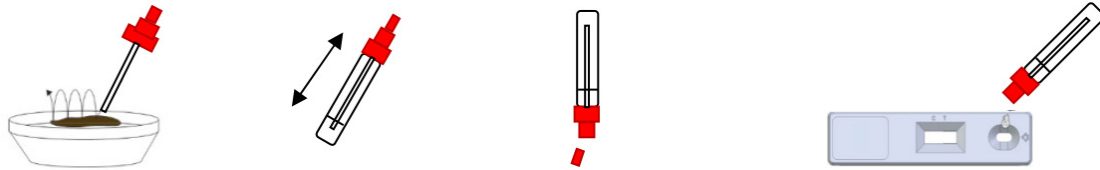
**7 – COLHEITA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA**

**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. | -<br>VERDE              | Não há presença de <i>Campylobacter</i> . Não há infeção causada por <i>Campylobacter</i> . Resultado negativo.  |
| 2. | +<br>VERMELHO-<br>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<br>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.

