



ISTRUZIONI PER L'USO

CAMPYLOBACTER SPECIES Ag CARD PLUS**TEST IMMUNOCROMATOGRAFICO RAPIDO *IN VITRO* PER LA DETERMINAZIONE QUALITATIVA DI *CAMPYLOBACTER SPP* (IDENTIFICA LE SPECIE PATOGENE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* E *CAMPYLOBACTER COLI*) IN CAMPIONI DI FECE UMANE E IN COLONIE SOSPETTE, COMPRESIVO DEI CONTROLLI****1 – INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO**Per solo uso diagnostico *in Vitro*

La campilobatteriosi è una malattia causata dalla presenza di *Campylobacter spp.* Le vie di trasmissione comuni sono quella oro-fecale, il contatto sessuale tra persone, l'ingestione di cibo o acqua contaminati e il consumo di carne cruda. La comparsa dei sintomi della malattia avviene solitamente da due a cinque giorni dopo l'infezione, ma può variare da uno a dieci giorni. Al genere *Campylobacter* appartengono 16 specie e 6 sottospecie, di cui le più frequentemente segnalate nelle malattie umane sono *C. jejuni* (sottospecie *jejuni*) e *C. coli* (99% *C. jejuni*). Anche *C. laridis* e *C. upsaliensis* sono considerati patogeni primari, ma in genere sono segnalati molto meno frequentemente nei casi di malattia umana. I sintomi clinici più comuni delle infezioni da *Campylobacter* comprendono diarrea (spesso con sangue nelle feci), dolori addominali, febbre, mal di testa, nausea e/o vomito. I sintomi durano in genere da tre a sei giorni.

Campylobacter Species Ag Card Plus è un test rapido, manuale, per la determinazione qualitativa di *Campylobacter spp.* (identifica le specie patogene *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*) in campioni di feci e in colonie sospette cresciute su coprocultura. Il test è da intendersi come test di screening semplice e altamente sensibile per avere una diagnosi presuntiva di infezione da *Campylobacter* (campilobatteriosi) e potrebbe essere usato per identificare colonie sospette isolate su terreni selettivi (coprocultura). Nel kit è incluso un controllo positivo.

2 – PRINCIPIO DEL METODO

Campylobacter Species Ag Card Plus è un metodo immunocromatografico assolutamente non invasivo, semplice da eseguire, rapido e molto preciso nel risultato, per la determinazione di *Campylobacter* in campioni fecali e in colonie sospette provenienti da coltura fecale.

Nel device vi è una strip costituita da una membrana di nitrocellulosa pre-rivestita con anticorpi monoclonali di topo specifici per *Campylobacter* in corrispondenza della banda test e con anticorpi policlonali di coniglio contro una proteina specifica, sulla linea di controllo (C). Il tampone assorbente della strip viene spruzzato con una soluzione contenente anticorpi monoclonali di topo anti-campylobacter coniugati con lattice di polistirene rosso e con una soluzione contenente una proteina legante specifica coniugata con lattice di polistirene verde, formando complessi coniugati colorati. Se il campione è positivo per *Campylobacter*, gli antigeni del campione diluito reagiscono con il complesso di colore rosso (anticorpi monoclonali anti-campylobacter e microsferi di polistirene rosso), precedentemente pre-essiccata sul tampone assorbente. La miscela si muove quindi lungo la membrana per azione capillare. Mentre il campione scorre, trascina anche i complessi coniugati. Gli anticorpi anti-campylobacter presenti sulla membrana (linea del test) catturano il coniugato colorato e si formerà una linea colorata (rossa). Questa banda viene utilizzata per interpretare il risultato.

Se il campione è negativo, non c'è presenza di antigeni di *Campylobacter* oppure gli antigeni possono essere presenti in una concentrazione inferiore al valore limite di rilevazione, per cui la reazione non avverrà con il complesso coniugato di colore rosso. Gli anticorpi anti-campylobacter presenti sulla membrana (linea di test) non cattureranno il complesso coniugato antigene-rosso (non formato), per cui non apparirà la linea rossa.

Indipendentemente dal fatto che il campione sia positivo o meno, la miscela continua a muoversi attraverso la membrana verso gli anticorpi specifici immobilizzati posti nella linea di controllo. Gli anticorpi anti-specifici presenti sulla membrana cattureranno il complesso verde-coniugato del controllo e apparirà sempre la banda di controllo. La presenza di questa linea verde serve a: 1) verificare che sia stato aggiunto un volume sufficiente, 2) verificare che il flusso sia corretto e 3) come un controllo interno per i reagenti.

3 – MATERIALI FORNITI – CONFEZIONAMENTO

Prodotto	Tipologia	REF	Confezione
Campylobacter Species Ag Card Plus CND: W0105011401; EDMA: 14.70.01.90; RDM: 1424106/R	Test immunocromatografico	VC1007P (25 test)	25 buste di alluminio sigillate contenenti la card e un essiccante. 25 flaconi di plastica con tappo gocciolatore contenenti il liquido di estrazione. Da usare anche come controllo negativo. (25 x 1 mL) 1 flacone di vetro con tappo gocciolatore contenente il controllo positivo, componenti non infettivi e Na ₂ S ₂ O ₃ come conservante. (1 x 0,5 mL). Imballo secondario: scatola di cartone.

4 – MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Dispositivi per la raccolta dei campioni; Provette/tubi da saggio; Guanti monouso; Pipette di plastica; Cronometro.

5 – PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- Tutte le operazioni riferite all'esecuzione del test devono essere condotte in accordo alle Buone Pratiche di Laboratorio.
- Campylobacter Species Ag Card Plus è un kit qualitativo per l'uso diagnostico *in vitro*, per il solo uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato e adeguatamente addestrato.
- Questo prodotto è classificato non pericoloso in accordo alla Legislazione Europea vigente.
- Evitare di toccare le strisce di nitrocellulosa con le dita.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Ciascuna card e ciascun flacone di liquido di estrazione devono essere usati una sola volta.
- Non usare reagenti di altri lotti o di altri kit.
- La card deve rimanere nella busta chiusa fino al suo utilizzo; e comunque eseguire il test entro 2 ore dall'apertura della busta.
- Non usare la card se la busta è danneggiata.
- La presenza di linee gialline nella finestra dei risultati visibili prima dell'esecuzione del test è del tutto normale. Questo non influenza la funzionalità del test.
- Usare i guanti per la manipolazione dei campioni fecali.
- Eliminare i guanti, i liquidi di estrazione, le provette e le card utilizzate rispettando le regole di laboratorio ed utilizzando appositi contenitori per il rischio biologico.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza e non usare il test se la confezione è danneggiata. La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se il kit è conservato in condizioni non appropriate.
- Il Certificato di Analisi e la Scheda Dati di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito web: www.masciabrunelli.it.
- Se il dispositivo contiene materie prime di origine animale, la materia prima in questione proviene da animali che sono stati macellati in un macello autorizzato e che, a seguito di un'ispezione antemortem, non hanno mostrato alcun segno di malattia trasmissibile all'uomo o agli animali. In ogni caso si raccomanda di





trattare il kit come potenzialmente infettivo, e di manipolarlo osservando le consuete precauzioni specifiche: non ingerire, inalare o far entrare in contatto con pelle, occhi, mucose.

- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.
- Comunicare a Mascia Brunelli Spa e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo diagnostico in vitro. complaint@masciabrunelli.it

6 – CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E DATA DI SCADENZA

Conservare nella confezione sigillata in frigorifero o a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione se opportunamente conservato. I dispositivi (card) devono rimanere nelle buste chiuse fino all'utilizzo. Non usare la card dopo 2 ore dall'apertura. Non congelare.

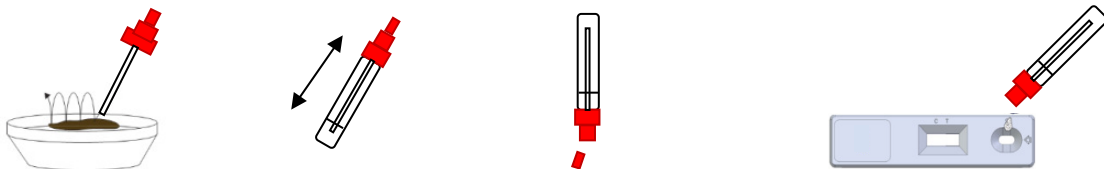
7 – RACCOLTA DEL CAMPIONE

Campioni fecali: I campioni devono essere raccolti in un contenitore pulito ed asciutto e conservati a +2°C - +8°C per **1-2 giorni** prima di essere testati. Per periodi di stoccaggio più lunghi, massimo **un anno**, i campioni vanno congelati a -20°C. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato. Omogenizzare il campione fecale e procedere appena possibile alla preparazione. Non sono raccomandati cicli di congelamento e scongelamento.

Preparazione dei campioni

Aprire la parte superiore del tubo di estrazione. Prelevare il campione con il bastoncino del tappo, toccando le feci in *quattro* punti diversi. Verificare di trasferire all'interno del tubo di estrazione una piccola quantità di feci. Riavvitare il tappo con il bastoncino e miscelare per ottenere una soluzione omogenea. Se necessario ripetere queste operazioni fino ad ottenere una soluzione giallo scuro-bruna.

Trasferire poche feci, miscelare poco la soluzione o lasciare le feci in sospensione nel tubo di estrazione può dare origine a risultati falsi negativi. Miscelare il campione su vortex prima dell'uso. L'aggiunta di una quantità superiore di feci potrebbe dare luogo a risultati non validi per la migrazione difficoltosa del campione lungo la membrana. Per **feci liquide o semi-solidi** usare una pipetta di trasferimento, prelevando una quantità di feci dal campione stesso. Dispensare 125µL del campione fecale nel flacone di liquido di estrazione del campione. Agitare delicatamente e assicurarsi che il campione sia ben disperso.



Colonie sospette di *Campylobacter* in coprocultura. Utilizzare i terreni selettivi per l'isolamento di *Campylobacter* incubando in atmosfera microaerofila, 48 ore a 42°C.

- Esaminare la piastra dopo 2 giorni di incubazione. Individuare le colonie tipiche di *Campylobacter*. Togliere il tappo del flacone di raccolta. Usare lo stick o un'ansa da inoculo e prelevare 3 o 4 colonie sospette dalla piastra e aggiungerle nel tubo di raccolta.
- Chiudere il flacone. Agitare in modo da avere una buona dispersione del campione.

8 – PROCEDIMENTO DEL TEST

Prima di effettuare il test lasciare che i campioni di feci e il liquido di estrazione raggiungano temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F). Non aprire le buste con le card fino a quando non si è pronti ad effettuare l'analisi.

- Togliere la card dalla busta e usare il prima possibile. Porre la card su una superficie piana e pulita. Identificarla con i dati del paziente.
- Miscelare la soluzione nel tubo con il liquido di estrazione e il campione. Rompere il beccuccio sul tappo.
- Usare una card per ciascun campione. Dispensare 3 gocce nel pozzetto indicato dalla lettera S. Evitare di aggiungere parti solide insieme al liquido.
- Leggere il risultato 10 minuti dopo aver dispensato il campione. Non superare i 10 minuti.

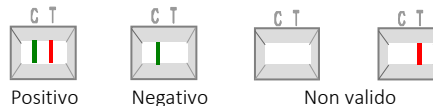
Se il test non funziona a causa di particelle solide, agitare il campione aggiunto nella finestra del campione (S) con il bastoncino. Se non funziona, dispensare una goccia di diluente fino a vedere il liquido scorrere nella zona di reazione.

9 – PROCEDIMENTO PER I CONTROLLI

Aggiungere il volume richiesto, 2-3 gocce (circa 100 µL) di Controllo Positivo/negativo nel pozzetto campione S e leggere il risultato dopo 10 minuti.

10 – LETTURA E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati devono essere interpretati nel seguente modo:



	Campylobacter	Interpretazione dei risultati
1.	- VERDE	Assenza di <i>Campylobacter</i> . Risultato negativo.
2.	+ ROSSO-VERDE	Presenza di <i>Campylobacter</i> . Infezione da <i>Campylobacter</i> , che può significare diarrea, dolore addominale, febbre, mal di testa, nausea e/o vomito.
3.	ALTRI RISULTATI	Risultati non validi, si consiglia di ripetere il test usando lo stesso campione con un'altra card.

NON VALIDO: Assenza totale di linee di controllo (VERDE) indipendentemente dalla comparsa o meno delle linee test (ROSSO). Volume insufficiente del campione, tecniche procedurali errate o deterioramento dei reagenti sono le ragioni principali della mancanza delle linee di controllo. Rivedere la procedura e ripetere il test con un nuovo dispositivo. Se i sintomi o la situazione persistono e contattare il distributore locale.





NOTA ALL'INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'intensità della linea test rossa (T) nella finestra dei risultati varia in funzione della concentrazione di antigeni presenti nel campione, tuttavia, non è possibile effettuare nessuna valutazione quantitativa così come nessun tasso di aumento degli antigeni.

11 – CONTROLLO QUALITÀ INTERNO

In ogni striscia reattiva è inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. La formazione della banda di controllo "C" conferma che la tecnica procedurale è corretta e che il volume del campione è sufficiente.

12 – VALORI ATTESI

Campylobacter spp sono batteri che maggiormente provocano malattie diarroiche nell'uomo e sono generalmente la causa più comune di gastroenterite nel mondo. Nei Paesi sviluppati ed in via di sviluppo causano più casi di diarrea rispetto, per esempio, alla *Salmonella*. Nei Paesi in via di sviluppo, le infezioni da *Campylobacter* nei bambini sotto i 2 anni sono molto frequenti e qualche volta mortali. In quasi tutti i Paesi in via di sviluppo l'incidenza di infezioni umane da *Campylobacter spp* è aumentata molto per parecchi anni, senza conoscerne i motivi.

13 – CARATTERISTICHE

Sensibilità analitica (limite di rilevabilità)

Valori del limite di rilevabilità per le diverse specie:

Per *Campylobacter jejuni*: il limite di rilevabilità inferiore è 3,12 ng/mL di proteina ricombinante *Campylobacter jejuni*
il limite di rilevabilità tipico è 0,78 ng/mL di proteina ricombinante *Campylobacter jejuni*

Per *Campylobacter coli*: il limite di rilevabilità inferiore è 3,12 ng/mL di proteina ricombinante *Campylobacter coli*
il limite di rilevabilità tipico è 0,78 ng/mL di proteina ricombinante *Campylobacter coli*

Sensibilità e Specificità Cliniche

È stata fatta una valutazione di *Campylobacter Species Ag Card Plus*. Sono stati studiati 113 campioni, i risultati sono stati confermati con il kit qPCR: VIASURE Real Time PCR Detection Kit. *Campylobacter Species Ag Card Plus* ha una sensibilità del 93.7% e una specificità del 98%, PPV del 98,3% e NPV del 92,5%.

Cross-Reattività ed interferenze

È stata valutata la cross-reattività di *Campylobacter Species Ag Card Plus*; non c'è cross-reazione con i comuni patogeni intestinali, altri organismi e patogeni occasionalmente presenti nelle feci: *Adenovirus*, *Astrovirus*, *C. difficile antigen 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*, *Sthaphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Yersinia enterocolitica O3/O9*.

14 – LIMITI DEL METODO

- Un eccesso di campione fecale potrebbe dare un risultato errato (comparsa di banda marrone o assenza di banda di controllo). Diluire il campione con il tampone e ripetere il test.
- *Campylobacter Species Ag Card Plus* deve essere utilizzato solo su campioni fecali umani. L'uso di altri tipi di campioni non è stato valutato. La qualità del test dipende dalla qualità del campione; è necessario ottenere campioni fecali adeguati.
- Evitare cicli di congelamento e scongelamento che potrebbero dare risultati errati.
- Un risultato positivo determina la presenza di *Campylobacter* nel campione (determinazione qualitativa) e può essere dovuto a diverse cause e/o specie. Con questo test non è possibile determinare né un dato quantitativo, né il tasso di incremento dell'antigene.
- Un risultato positivo deve essere seguito da ulteriori tecniche di laboratorio per confermare i risultati. La conferma dell'infezione deve comunque essere fatta dal medico solo dopo aver valutato tutti i risultati clinici e di laboratorio e deve basarsi sulla correlazione dei risultati con ulteriori osservazioni cliniche.
- Un risultato negativo non è significativo perché è possibile che la concentrazione di antigeni nel campione di feci sia inferiore al valore limite di rilevazione. Se i sintomi persistono, è necessario eseguire una determinazione di *Campylobacter* su un campione proveniente da una coltura di arricchimento.
- Campioni mucosi e/o ematici possono causare reazioni non specifiche. Se il risultato con questi campioni è positivo, si consiglia di confermarlo con altre tecniche.

15 – BIBLIOGRAFIA

1. Fernández, H. and Farace, M.I. "Manual de Procedimientos *Campylobacter*". INEI. 2003.
2. 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.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Codice del lotto (DXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Identificatore dispositivo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)		Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'uso (IFU) - Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	2023/01

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

