



CERTEST *Campylobacter*
Rapid One step *Campylobacter* spp. Card test

INTENDED USE

The CerTest *Campylobacter* is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Campylobacter* spp. in faeces.

INTRODUCTION

Campylobacteriosis is the disease caused by the presence of *Campylobacter* spp. The common routes of transmission are fecal-oral, person-to-person sexual contact, ingestion of contaminated food or water, and the eating of raw meat. The onset of disease symptoms usually occurs two to five days after infection, but can range from one to ten days.

There are 16 species and six subspecies assigned to the genus *Campylobacter*, of which the most frequently reported in human disease are *C. jejuni* (subspecies *jejuni*) and *C. coli* (99% *C. jejuni*). *C. lariidis* and *C. upsaliensis* are also regarded as primary pathogens, but are generally reported far less frequently in cases of human disease.

The most common clinical symptoms of *Campylobacter* infections include diarrhoea (frequently with blood in the faeces), abdominal pain, fever, headache, nausea, and/or vomiting. The symptoms typically last three to six days.

PRINCIPLE OF THE TEST

The CerTest *Campylobacter* is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Campylobacter* in fecal samples. The membrane is pre-coated with monoclonal antibodies, on the test band region, against *Campylobacter* antigens. During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-*Campylobacter* monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) which was pre-dried on the test strip. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured conjugate. The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a green coloured band always appears. The presence of this green band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the kit at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

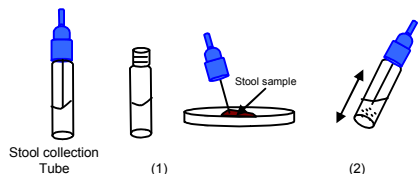
- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing. Ensure only the amount needed is thawed because of freezing and defrosting cycles are not recommended. Homogenise stool sample as thoroughly as possible prior to preparation.

Specimen preparation (see illustration):

- (1) Take out the cap of the stool collection tube and use the stick to pick up enough quantity of sample (approx. 150 mg), introduce the stick in 3 different parts of the sample. Add the sample into the stool collection tube. If the stool sample was liquid take 150 µl using a pipette.
- (2) Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



MATERIALS PROVIDED

- CerTest *Campylobacter* card tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes with sample diluent

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

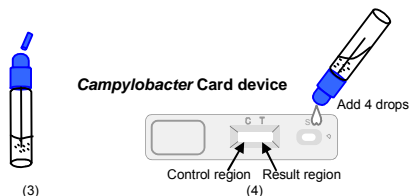
TEST PROCEDURE

Allow the tests, stool samples and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

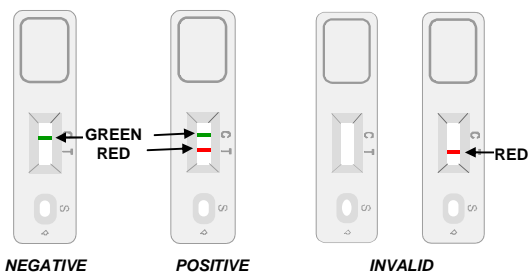
1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion. Cut the end of the cap (3).
2. Remove the CerTest *Campylobacter* device from its sealed bag just before using.
3. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Dispense exactly 4 drops or 100 µl into the circular window marked with an arrow, avoiding to add solid particles with the liquid (4).

In case the tests did not run due to solid particles fallen into the round window, stir the sample added or dispense a drop of extraction buffer until seeing the liquid running through the reaction zone.

- 4.- Read the result at **10 minutes** (the coloured bands appear).



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



NEGATIVE: Only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control band, a RED band (test line) also appears in the site marked with the letter T (result line). That probably would mean *Campylobacter* infection.

INVALID: A total absence of the control coloured band regardless the appearance or not of the result line. Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact you local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigens in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. A green line appearing in the control region (C) is the internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique. A clear background is an internal negative background control. If the test is working properly, the background in the result area should be clear and not interfere with the ability to read the result.

EXPECTED VALUES

Campylobacter spp. are bacteria that are a major cause of diarrhoeal illness in humans and are generally regarded as the most common bacterial cause of gastroenteritis worldwide. In developed and developing countries, they cause more cases of diarrhoea than, for example, foodborne *Salmonella* bacteria. In developing countries, *Campylobacter* infections in children under the age of two years are especially frequent, sometimes resulting in death. In almost all developed countries, the incidence of human *Campylobacter* infections has been steadily increasing for several years. The reasons for this are unknown.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
3. Some stool samples can decrease the intensity of the control line.
4. Positive frozen and thawed samples could cause wrong results. Use fresh stool samples.
5. This test provides a presumptive diagnosis of *Campylobacteriosis*. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated must be based in the correlation of the results with further clinical observations.

PERFORMANCE

Sensitivity and specificity

It was performed an evaluation of CerTest *Campylobacter*. It was studied 35 stool samples and the results were confirmed by ImmunoCard STAT! CAMPY. CerTest *Campylobacter* showed >99% of sensitivity and >99% of specificity.

The use of a mouse monoclonal antibody in CerTest *Campylobacter* assures high degree of specificity for the detection of these bacteria. The antibodies used to elaborate this test recognise epitopes found in stool of patients, as well as in preparations from the bacteria cultures *in vitro*.

This preliminary values has to be taken with precaution until more evaluation data will be available.

Cross-reactivity

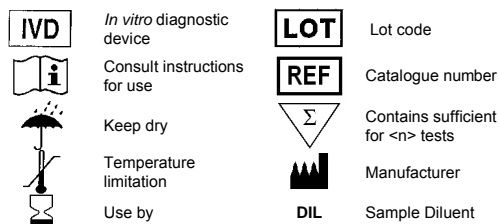
It was performed an evaluation to determine the cross reactivity of CerTest *Campylobacter*. There is not cross reactivity with common intestinal pathogens, other organisms and substances occasionally present in feces:

- *H. pylori*
- *Escherichia coli* O157
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella*

REFERENCES

- 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.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS



CerTest BIOTEC S.L.
C/María de Luna 11, nave 16
E-50018 Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es



USO PREVISTO

CerTest *Campylobacter* es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de *Campylobacter* spp. en heces.

INTRODUCCIÓN

La *Campylobacteriosis* es una enfermedad causada por la presencia de *Campylobacter* spp. *Campylobacter* utiliza las siguientes vías de transmisión: feco-oral, contacto sexual, ingestión de agua o alimento contaminado, y la de carne cruda contaminada. El inicio de los síntomas normalmente ocurre entre dos y cinco días tras producirse la infección, pero puede durar entre uno y 10 días.

Hay 16 especies y 6 subespecies asignadas para el género *Campylobacter*, de las cuales la más frecuentes implicadas en enfermedad en humanos son *C. jejuni* (subespecies *jejuni*) y *C. coli* (99% *C. jejuni*). *C. lariidis* y *C. upsaliensis* son también reconocidas como patógenos primarios, pero son menos frecuentes en los casos de enfermedad en humanos.

La mayoría de los síntomas clínicos de las infecciones por *Campylobacter* incluyen diarreas (frecuentemente aparece sangre en las heces), dolor abdominal, fiebre, dolor de cabeza, náuseas y/o vómitos. Estos síntomas normalmente duran entre 3 a 7 días.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *Campylobacter* es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Campylobacter* spp. en muestras de heces. La membrana tiene anticuerpos monoclonales en la zona de resultados del test, frente a antígenos *Campylobacter* spp.

Durante la prueba, la muestra diluida de heces reacciona con el conjugado coloreado (anticuerpos monoclonales anti-*Campylobacter* partículas de látex coloreadas) secado previamente en la membrana de la tira de reacción. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana. Para dar el resultado como positivo, una línea de color rojo aparecerá en la zona de resultado de la membrana. La ausencia de esta línea roja sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de antígenos de *Campylobacter* spp., la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color verde (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

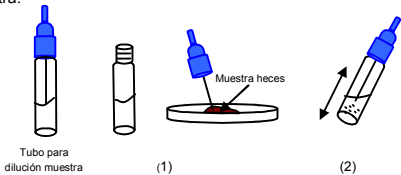
- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4 °C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo más prolongado, deben mantenerse congeladas a -20°C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Considerar previamente la cantidad de muestra necesaria antes de descongelar ya que ciclos de congelación y descongelación no son recomendables. Homogeneizar la muestra de heces todo lo que sea posible antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- (1) Abrir el tubo para dilución de muestra y con ayuda del palito se toma suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas (aprox. 150 mg). Para ello, se introduce el palito en la muestra en 3 zonas distintas de la misma y después en el tubo para dilución. Si la muestra fuera líquida utilizar una pipeta para tomar 150µL de la misma.
- (2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Campylobacter* card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con tampón de extracción

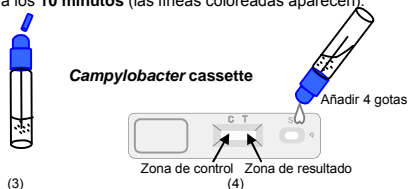
MATERIALES NECESARIOS-NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de muestra de heces
- Guantes desechables
- Cronómetro

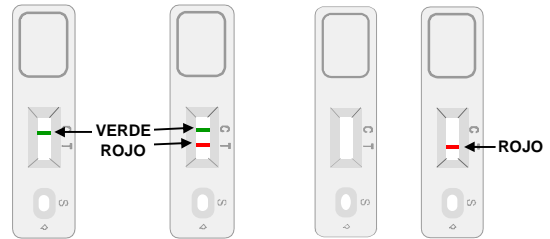
PROCEDIMIENTO

Previamente el dispositivo, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (3).
2. Sacar el dispositivo de reacción CerTest *Campylobacter* de su envase para utilizarlo inmediatamente.
3. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Tomar 4 gotas o 100 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el dispositivo, evitando añadir partículas sólidas con el líquido (4). Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas en la ventana circular, retirarlas y añadir una gota de tampón hasta que se vea avanzar al líquido (zona de reacción y de control).
4. Leer el resultado a los **10 minutos** (las líneas coloreadas aparecen).



RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de resultado) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado). Posible infección por *Campylobacter* spp.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado. Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea roja en la zona de resultado puede variar dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado. La claridad del fondo de la ventana es también un control interno. Si el test funciona correctamente, este fondo estará claro y no interferirá con la lectura del resultado.

VALORES ESPERADOS

Campylobacter spp. son bacterias que suelen ser la causa más frecuente de diarrea en humanos y son generalmente consideradas como la causa más común de las gastroenteritis del mundo. Tanto en países en desarrollo como en países desarrollados provocan más casos de diarrea que, por ejemplo, *Salmonella*. En países en desarrollo, las infecciones por *Campylobacter* en niños de menos de dos años son muy frecuentes, en ocasiones provocando su muerte. En casi todos los países desarrollados ha aumentado de forma regular la incidencia de infecciones por *Campylobacter* durante varios años. Las razones todavía se desconocen.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.
3. Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control.
4. Muestras positivas, congeladas y descongeladas podrían dar lugar a la aparición de resultados erróneos. Usar muestras frescas.
5. Esta prueba diagnóstica una posible *Campylobacteriosis*, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras realizar todas las pruebas clínicas y de laboratorio correspondientes, teniendo en cuenta que debe existir una correlación entre estos resultados y las observaciones clínicas.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad

Se llevó a cabo una evaluación con CerTest *Campylobacter*. Se estudiaron 35 muestras de heces y los resultados fueron confirmados mediante ImmunoCard STAT! CAMPY (Meridian Bioscience). CerTest *Campylobacter* obtuvo unos resultados de >99% de sensibilidad y >99% de especificidad.

El uso de anticuerpos monoclonales en la elaboración de CerTest *Campylobacter* asegura un alto grado de especificidad para los antígenos de estas bacterias. Los anticuerpos utilizados para elaborar esta prueba reconocen epítomos encontrados en las muestras de heces de los pacientes, tanto como en las preparaciones provenientes de cultivos de la bacteria *in vitro*.

Estos primeros resultados obtenidos deben ser valorados con precaución hasta que se disponga de más datos provenientes de distintas evaluaciones.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar la reacción cruzada de CerTest *Campylobacter*. No hay reacción cruzada con varios patógenos comunes en el intestino, otros organismos y sustancias que ocasionalmente están presentes en heces:

- *H. pylori*
- *Escherichia coli* O157
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella*

BIBLIOGRAFÍA

- 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.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

