

# PREMIER® CAMPY

## Enzyme Immunoassay for the Detection of *Campylobacter* Antigens in Stool Specimens

REF

618906

IVD

In vitro diagnostic medical device

### INTENDED USE

Premier CAMPY enzyme immunoassay (EIA) is an in vitro qualitative procedure for the detection of specific *Campylobacter* antigens in stool samples from patients with signs and symptoms of gastroenteritis. Premier CAMPY detects *C. jejuni* and *C. coli* in human stool that may be either unpreserved or preserved in Cary-Blair-based transport media. Test results are to be used in conjunction with information obtained from the patient's clinical evaluation and other diagnostic procedures.

Premier CAMPY is not intended for point-of-care use. The device is intended for use in hospital, reference, regional, private or state laboratory settings.

### SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

*Campylobacter* is a gram-negative, microaerophilic bacterium. Virtually all human illness is caused by one or two species. These two species are *C. coli* and *C. jejuni*. The Centers for Disease Control reports that 99% of illness is caused by *C. jejuni* while other studies have shown that globally, more than 90% of *Campylobacter* infections are caused by *C. jejuni*, followed by *C. coli* with 5-10%.<sup>2</sup> The disease caused by the genus *Campylobacter* is referred to as *Campylobacteriosis*. Most people with *Campylobacteriosis* get diarrhea, cramping, abdominal pain, and fever within two to five days after exposure to the organism. The diarrhea may be bloody and can be accompanied by nausea and vomiting. The illness typically lasts one week. Some persons who are infected with *Campylobacter* do not have any symptoms at all. In persons with compromised immune systems, *Campylobacter* occasionally spreads to the bloodstream and causes a serious life-threatening infection.

*Campylobacter* is one of the most common bacterial causes of diarrheal illness in the United States. Virtually all cases occur as isolated, sporadic events, not as a part of large outbreaks. Active surveillance through FoodNet indicates about 15 cases are diagnosed each year for each 100,000 persons in the population.<sup>1, 2</sup> Many more cases go undiagnosed or unreported, and *Campylobacteriosis* is estimated to affect over one million persons every year, or 0.5% of the general population. *Campylobacteriosis* occurs much more frequently in the summer months than in the winter. The organism is isolated from infants and young adults more frequently than from other age groups and from males more frequently than females. Although *Campylobacter* doesn't commonly cause death, it has been estimated that approximately 100 persons with *Campylobacter* infections may die each year.<sup>2</sup>

### BIOLOGICAL PRINCIPLES

Premier CAMPY is an enzyme immunoassay for the direct detection of *Campylobacter* antigens in human stool samples. Breakaway microwells are coated with *Campylobacter*-specific monoclonal antibodies. Diluted patient specimen is added to the microwells and incubated. Upon completion of the incubation, a wash step is performed to remove unbound material and a Horseradish Peroxidase (HRP)-Anti-*Campylobacter* conjugate is added to the washed microwells. If *Campylobacter* antigens are present, an antibody-enzyme complex is formed. A second wash step is performed to remove unbound materials and a chromagen substrate is added to the microwells. A blue color develops in the presence of bound enzyme. Premier Stop Solution I is added, changing the initial blue reaction to yellow. Test results are interpreted visually or spectrophotometrically.

### REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

- Premier CAMPY Microwells:** Monoclonal antibody-coated microwells. The antibodies are specific to *C. jejuni* and *C. coli*.
- Premier CAMPY Enzyme Conjugate:** HRP-conjugated monoclonal antibodies specific to *C. jejuni* and *C. coli* in a buffered protein solution containing 0.1% ProClin® and 0.03% gentamicin as preservatives.
- Premier 20X Wash Buffer III:** Concentrated wash buffer containing 0.1% ProClin® and 0.3% gentamicin as preservatives.
- Premier Substrate I:** Buffered solution containing urea peroxide and tetramethylbenzidine at pH 5.0.
- Premier Stop Solution I:** 1M Phosphoric acid.
- Premier CAMPY Sample Diluent/Negative Control:** Buffered protein solution containing 0.1% ProClin® and 0.03% gentamicin as preservatives.
- Premier CAMPY Positive Control:** Inactivated *C. jejuni* in a buffered protein solution containing 0.094% sodium azide and 0.03% gentamicin as preservatives.
- Transfer pipettes
- Microwell strip holder
- Microwell plate sealers

### MATERIALS NOT PROVIDED

- Disposable latex gloves
- Test tubes (eg, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm) for dilution of sample
- Distilled or deionized water
- Squirt bottle
- Graduated cylinder for making 1X Wash Buffer
- Absorbent paper
- Wooden applicator sticks
- Waste container with disinfectant and/or autoclavable biohazard bags
- Vortex mixer
- Interval timer
- EIA microplate reader capable of reading absorbance at 450 nm or 450/630 nm\* (optional)
- StatFax™-2200 Incubator/Shaker (StatFax™ is a trademark of Awareness Technology, Inc.)\* (optional)
- Semiautomated microplate washer\* (optional)

\* **Note:** It is the operator's responsibility to validate StatFax™, semiautomated plate washers and readers prior to their use with this product.

### PRECAUTIONS

- All reagents are for in vitro diagnostic use only.
- Directions should be read and followed carefully.
- Do not interchange the Microwells, Enzyme Conjugate, Premier Substrate I or Positive Control reagents between lots. (The Sample Diluent/Negative Control, Premier 20X Wash Buffer III and Premier Stop Solution I are interchangeable provided the reagents are within their assigned expiration dates when used.)
- Do not use kit components beyond labeled expiration date.
- Do not use vials that lack a label, a lot number, or an expiration date.
- Do not use any reagent if it is discolored or turbid. Discoloration or turbidity may be a sign of microbial contamination.
- Allow reagents to warm to 21–27 C before use.
- All reagents should be mixed gently before use.
- Hold reagent vials vertically at suitable distance above the well to insure proper drop size and delivery.
- Replace colored caps on correct vials.
- Do not reuse microwells.
- Unused microwells must be placed back inside resealable pouch. It is important to protect strips from moisture.
- The transfer pipettes provided with this kit must be used for specimen preparation and transfer. Use one per specimen.
- Avoid splashing when dispensing diluted stool into microwells by placing the transfer pipette tip about halfway down the well and dispensing slowly down the side of well.

- Microwell washing is to be performed precisely as directed in the assay procedure. **Inadequate washing may be the cause of elevated background in any EIA protocol.**
- All reagents except the Premier 20X Wash Buffer III are provided already diluted to the proper concentration.
- Any deviation below or above set incubation times may affect sensitivity and specificity and should be avoided.
- Stool must be mixed thoroughly (regardless of consistency) to ensure a representative sample prior to pipetting.

### WARNINGS

- Patient specimens may contain infectious agents and should be handled and disposed of as potential biohazards.
- Dispose of used wash buffer and all test materials in an appropriate container. Treat waste as a potential biohazard.
- The Positive Control reagent contains inactivated *C. jejuni*. It should be handled, however, as a potential biohazard.
- Avoid skin contact with Premier Stop Solution I. Flush with water immediately if contact occurs.

### HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS

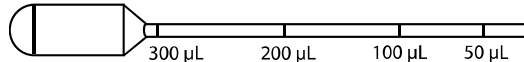
Refer to the SDS, available at [www.meridianbioscience.com](http://www.meridianbioscience.com) for Hazards and Precautionary Statements.

### SHELF LIFE and STORAGE

The kit expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2–8 C and return the kit promptly to the refrigerator after each use.

### PROCEDURAL NOTES

The Premier CAMPY transfer pipette is diagrammed below.



### REAGENT PREPARATION

- Bring the entire kit, including microwell pouch, to 21–27 C before use.
- Prepare 1X Wash Buffer as needed. For example: 10.0 mL of Premier 20X Wash Buffer III + 190.0 mL distilled or deionized water is sufficient to wash one strip. 1X Wash Buffer can be stored at 2–27 C for up to one month. Bring to 21–27 C prior to use.

### SPECIMEN COLLECTION

**Human stool samples, unpreserved:** Samples should be received in an airtight transport container and stored at 2–8 C prior to testing. Samples should be tested as soon as possible, but may be held up to 96 hours at 2–8 C. (See SPECIMEN PREPARATION section for instructions on diluting samples.) Samples that will not be tested within 96 hours should be frozen immediately upon receipt and stored at ≤ –20 C until tested. Specimens may be frozen and thawed twice.

**Human stool samples, preserved in Cary-Blair-based media:** Samples should be stored at 2–8 C prior to testing. Samples should be tested as soon as possible, but may be held up to 96 hours at 2–8 C. (See SPECIMEN PREPARATION section for instructions on diluting samples.) Samples that will not be tested within 96 hours should be frozen immediately upon receipt and stored at ≤ –20 C until tested. Specimens may be frozen and thawed twice.

### SPECIMEN PREPARATION

Mix stool as thoroughly as possible prior to pipetting.

- Human stool samples, unpreserved:**
  - With the dropper assembly (or equivalent), add 200 µL of Sample Diluent/Negative Control to a small test tube.
  - Formed/Solid stools:**
    - Use a wooden applicator stick (or equivalent) to add a small portion (3–4 mm diameter) of thoroughly mixed stool to the Sample Diluent/Negative Control test tube.
    - Emulsify the stool using the wooden applicator stick.
    - Vortex the emulsion for a minimum of 15 seconds.
  - Liquid/Semi-Solid stools:**
    - Using a transfer pipette provided with the kit, add 50 µL (first mark from pipette tip) of thoroughly mixed stool to the Sample Diluent/Negative Control test tube.
    - Vortex the mixture for a minimum of 15 seconds.
    - Save the transfer pipette in the test tube for future use.
- Human stool samples, preserved in Cary-Blair-based media:**
  - With the dropper assembly (or equivalent), add 200 µL of Sample Diluent/Negative Control to a small test tube.
  - Using a transfer pipette provided with the kit, add 200 µL (third mark from pipette tip) of thoroughly mixed stool to the Sample Diluent/Negative Control test tube.
  - Vortex the mixture for a minimum of 15 seconds.
  - Save the transfer pipette in the test tube for future use.

### TEST PROCEDURE

- After the pouch has reached temperature (21–27 C), break off the required number of microwells (1 well for each specimen, plus 1 positive and 1 negative control well per batch). Place the microwells in the microwell strip holder and record the location of all wells. Unused microwells must be resealed in the pouch immediately.
- Using the specimen transfer pipette, add 100 µL of diluted stool (second mark from the tip of the pipette) to the appropriate well. (Place the pipette tip halfway into well and let the sample slowly run down side of well.)
- Add 2 free falling drops of Positive Control. With a transfer pipette, add 100 µL (second mark from the tip of the pipette) of Sample Diluent/Negative Control to the appropriate wells. Cut the plate sealer to size and press it firmly onto the top of the microwells to seal.
- Incubate the plate for 1 hour at 21–27 C. Alternatively, laboratories equipped with a shaker/incubator (StatFax™-2200) can incubate and rotate the plate for 30 minutes at 24 C and at Setting 5 (1000 rpm).
- Carefully remove the plate sealer and wash the wells:
  - Manual method:**
    - Dump the plate contents firmly into a biohazard receptacle.
    - Invert and bang the plate on a clean stack of paper towels.
    - Fill all wells with 1X Wash Buffer, directing a stream of buffer to the sides of the wells to avoid foaming.
    - Repeat the wash cycle (dump, bang on fresh towels, fill) 4 more times for a total of 5 wash cycles. After the last fill, dump and bang plate on fresh towels hard enough to remove as much excess wash buffer as possible, but do not allow wells to completely dry at any time.
  - Semi-automated wash method:**
    - Dump the plate contents firmly into a biohazard receptacle.
    - Invert and bang the plate on a clean stack of paper towels, then place empty plate on washer device.
    - Fill the wells to the top (approx. 300–350 µL/well) with 1X Wash Buffer and then aspirate. The washer manifold should be adjusted to ensure no foaming occurs during the filling of the wells and that the wells are thoroughly aspirated after each wash.
    - Repeat step iii 4 more times. Following the last wash, test wells should be thoroughly aspirated to remove as much moisture as possible, but do not allow wells to completely dry at any time.
- Add 2 free falling drops (approximately 100 µL) of Enzyme Conjugate to each well. Firmly shake/swirl the plate for 30 seconds.
- Cut the plate sealer to size and press it firmly onto the top of the microwells to seal. Incubate the plate for 30 minutes at 21–27 C. Alternatively, laboratories equipped with a shaker/incubator (StatFax™-2200) can incubate and rotate the plate for 15 minutes at 24 C and at Setting 5 (1000 rpm).
- Carefully remove the plate sealer and wash the wells as described in Step 5.

- Add 2 free-falling drops (approximately 100 µL) of Premier Substrate I Solution to each well. Firmly shake/swirl the plate for 30 seconds. Incubate the plate for 10 minutes at 21–27 °C.
- Add 2 free-falling drops (approximately 100 µL) of Premier Stop Solution I to each well. Firmly shake/swirl the plate for 30 seconds. **Note:** The initial color of a positive reaction is blue, which changes to yellow upon addition of Premier Stop Solution I.
- Clean the underside of all wells with a lint-free tissue
- Inspect and record reactions. Test results can be read visually or using a spectrophotometric reader.
  - Visual Determination – Read within 15 minutes after adding Premier Stop Solution I.
  - Spectrophotometric Determination – Zero EIA reader on air. Read absorbance at 450 nm or 450/630 nm within 15 minutes of adding Premier Stop Solution I.

## INTERPRETATION OF RESULTS

### Visual Reading

Negative = Colorless to very faint yellow

Positive = Definite yellow color

A very faint yellow color must be evaluated by a spectrophotometric reading.

### Spectrophotometric Single Wavelength (450 nm)

Negative: < 0.150

Positive: ≥ 0.150

Negative Control: < 0.150

Positive Control: ≥ 0.600

### Spectrophotometric Dual Wavelength (450/630 nm)

Negative: < 0.100

Positive: ≥ 0.100

Negative Control: < 0.100

Positive Control: ≥ 0.600

If a Negative Control is < 0.000, reblank the plate reader to air and reread the plate.

A positive result indicates the presence of *Campylobacter* antigens. A negative result indicates the absence of *Campylobacter* antigens, or that the level of antigens is below what can be detected by the assay. The magnitude of the OD above the cutoff is neither indicative of the severity or extent of *Campylobacter* infection, nor can it be correlated to an endpoint titer. Extremely strong positive samples may yield either an intense yellow color or a purple precipitate within a few minutes of stopping the reaction. In this case, the spectrophotometer may yield an "out" reading. This reading is considered a positive.

If the frequency of low positive results (OD between 0.150 and 0.200 for single wavelength and between 0.100 and 0.150 with dual wavelength) is greater than 5% of specimens tested, this may indicate insufficient washing. More vigorous washing or increasing the washes to seven washes in step 5 of the procedure is recommended.

## QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

- At the time of each use, kit components should be visually examined for obvious signs of microbial contamination, freezing or leakage. Do not use contaminated or suspect reagents.
- The performance of Premier CAMPY should be verified using the Positive Control and Sample Diluent/Negative Control with each test batch. See the INTERPRETATION OF RESULTS section above for a description of the expected results for control reagents. Tests should be considered invalid when either control reagent does not produce the expected results. In such cases, repeat tests and controls. If, on repeat testing, the expected reactions are still not observed with in-date reagents, call Meridian's Technical Support Services at 800-343-3858 (USA) or your authorized Meridian distributor for assistance.
- The controls are used to monitor reagent reactivity. Failure of the controls to produce the expected results can mean that one or more of the reagents are no longer reactive at the time of use, that the test was not performed correctly, or that reagents or samples were not added. **Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.**
- Specimen matrix interference has not been observed in this assay as samples are significantly diluted before testing in Sample Diluent. For this reason, the Positive and Negative Controls supplied as part of this assay are prepared in matrices similar to the Sample Diluent. If control materials that are identical in composition to test samples are preferred, the user can prepare these by diluting known positive and negative specimens in Sample Diluent according to the SPECIMEN PREPARATION section of this insert. Add 100 µL of user prepared controls to test wells.

## EXPECTED VALUES

The performance of Premier CAMPY was evaluated during 2008 in several geographic regions of the United States. The incidence of positive samples (either as *C. jejuni* or *C. coli*) during this period was approximately 1.5%. The expected frequency for an individual laboratory may differ from this number since it is dependent on factors such as locale, the time of the year, and whether an outbreak has occurred.

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- The test is qualitative and no quantitative interpretation should be made with respect to the values.
- Premier CAMPY cannot be used as the sole means of determining Campylobacteriosis. Test results must be used in conjunction with information available from the patient clinical evaluation and other diagnostic procedures.
- Overincubation of the tests may lead to an increase in false-positive test results. Conversely, incubation for periods less than those defined in this insert can result in an increase in false-negative tests. Follow incubation times defined in this insert.
- Suspect failure of the washing method or device if the Negative and/or Positive Controls consistently produce out-of-specification results. Increasing the number of washes, washing more vigorously, decanting more thoroughly or recalibrating washing devices should correct the problem. If problems persist, contact Meridian's Technical Support Services at 800-343-3858 (USA) or your authorized Meridian distributor for assistance.

## SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Premier CAMPY was evaluated in 2008 by four independent test sites located in the Western, Midwestern and Southeastern regions of the United States. A total of 2073 qualified patient samples were evaluated; of these, 166 were retrospective frozen samples. The majority (1862/2073) were collected in a Cary-Blair-based transport and preservative medium. The remaining 211 samples were tested in the unpreserved state. Samples were collected from males (41%) and females (57%). In the case of 2% of the patients, the sex was not known. The age groups of the patients ranged from less than one month of age to 97 years. No differences in test performance were observed based on patient age or sex. The following tables show the assay performance by clinical site, patient age and sample type.

Table 1. Performance characteristics by clinical site

Site	Positive Samples			Negative Samples		
	Premier/Culture	Sensitivity %	95% CI	Premier/Culture	Specificity %	95% CI
Site 1	22/23	95.7%	79.0 – 99.2%	189/193	97.9%	94.8 – 99.2%
Site 2	0/0	N/A	N/A	51/51	100%	93.0 – 100%
Site 3	26/27	96.3%	81.7 – 99.3%	1429/1511	94.6%	93.3 – 95.6%
Site 4	11/11	100%	74.1 – 100%	255/257	99.2%	97.2 – 99.8%
Total Sites	59/61	96.7%	88.8 – 99.1%	1924/2012	95.6%	94.6 – 96.4%

Table 2. Performance characteristics by patient age

Patient Age	Positive Samples			Negative Samples		
	Premier/Culture	Sensitivity %	95% CI	Premier/Culture	Specificity %	95% CI
Birth to 1 month	0/0	N/A	N/A	12/13	92.3%	66.7 – 98.6%
> 1 month to 2 years	3/3	100%	43.9 – 100%	338/348	97.1%	94.8 – 98.4%
> 2 years to 12 years	5/5	100%	56.6 – 100%	374/388	96.4%	94.0 – 97.8%
> 12 years to 21 years	2/2	100%	34.2 – 100%	139/145	95.9%	91.3 – 98.1%
> 21 years	32/34	94.1%	80.9 – 98.4%	1052/1109	94.9%	93.4 – 96.5%
Not Defined	17/17	100%	81.6 – 100%	9/9	100%	70.1 – 100%

Table 3. Performance characteristics by sample type (preserved vs unpreserved)

Specimen Type	Positive Samples			Negative Samples		
	Premier/Culture	Sensitivity %	95% CI	Premier/Culture	Specificity %	95% CI
Preserved	42/43	97.7%	87.9 – 99.6%	1733/1819	95.3%	94.2 – 96.2%
Unpreserved	17/18	94.4%	74.2 – 99.0%	191/193	99.0%	96.3 – 99.7%

Table 4. Performance characteristics of fresh vs frozen samples

Fresh/Frozen	Positive Samples			Negative Samples		
	Premier/Culture	Sensitivity %	95% CI	Premier/Culture	Specificity %	95% CI
Fresh	17/18	94.4%	74.2 – 99.0%	1810/1889	95.8%	94.8 – 96.6%
Frozen	42/43	97.7%	87.9 – 99.6%	114/123	92.7%	86.7 – 96.1%

## ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity of this assay for *C. jejuni* and *C. coli* was based on 45 tests for each measurand and with a stated probability (e.g. 95%) of obtaining positive responses at the following levels of the measurands: *C. jejuni* 1.2 x 10<sup>5</sup> cells/mL; *C. coli* 8.0 x 10<sup>6</sup> cells/mL.

## ASSAY REACTIVITY

The following *Campylobacter* stock cultures from different sources were tested and produced positive reactions at 1.1 x 10<sup>8</sup> CFU/mL with Premier CAMPY: *C. coli* strains 10956, 17755, 36994 and 53138 and *C. jejuni* strains 6951, 10940, 12081, 29411 and 38106.

## CROSSREACTIVITY STUDIES

Crossreactivity studies were performed with positive and negative stool specimens inoculated with bacterial or fungal organisms to a final concentration of 1.1 x 10<sup>8</sup> CFU/mL or virus ranging from 1.3 x 10<sup>4</sup> to 3.1 x 10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/mL. None of the following organisms in stool reacted with Premier CAMPY: *Aeromonas hydrophila*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella* Groups B-E, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, Adenovirus Types 40 and 41, Coxsackievirus, Echovirus, Rotavirus.

## TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES

The following substances, at the specified saturated solvent/diluent concentrations, do not interfere with test results in the final concentrations listed: Barium sulfate (5 mg/mL), fecal fat (equivalent to 2.65 mg stearic plus 1.3 mg palmitic acids per mL), hemoglobin (as methemoglobin) (3.2 mg/mL), Imodium AD® (0.00667 mg/mL), Kaopectate® (0.87 mg/mL), mucin (3.33 mg/mL), Mylanta® (4.2 mg/mL), Pepto-Bismol® (0.87 mg/mL), Prilosec® (0.5 mg/mL), Tagamet® (0.5 mg/mL), TUMS® (0.5 mg/mL), whole blood (5% v/v).

## ITALIANO

PREMIER®  
CAMPY

Test immunoenzimatico per la rilevazione degli antigeni di *Campylobacter* in campioni fecali

REF 618096

IVD Dispositivo medico-diagnostico in vitro

## FINALITÀ D'USO

Premier CAMPY è un test immunoenzimatico in vitro (EIA) per la ricerca qualitativa di antigeni di *Campylobacter* in campioni fecali di pazienti che presentano segni e sintomi di gastroenterite. Premier CAMPY rileva *C. jejuni* e *C. coli* sia in feci umane fresche che in feci umane conservate in sistemi di trasporto a base di terreno Cary-Blair. I risultati del test devono essere utilizzati insieme alle informazioni ricavate dall'esame clinico del paziente e da altre procedure diagnostiche.

Premier CAMPY non è destinato all'uso in ambulatorio. Il test deve essere utilizzato presso i laboratori ospedalieri, di riferimento regionali e statali e i laboratori privati.

## SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il *Campylobacter* è un batterio Gram negativo microaerofilo. Tutte le patologie riconducibili a questo batterio che interessano l'uomo sono praticamente causate da una o due specie: *C. coli* e *C. jejuni*. Il CDC (Centers for Disease Control degli Stati Uniti) riportano che il 99% delle infezioni è causato da *C. jejuni*, mentre altri studi hanno mostrato che, complessivamente, più del 90% delle infezioni da *Campylobacter* sono causate da *C. jejuni*, ed il restante 5-10% da *C. coli*.<sup>2</sup> La malattia causata dal genere *Campylobacter* è nota come enterite da *Campylobacter*. La maggioranza dei pazienti affetti da enterite da *Campylobacter* esibiscono diarrea, crampi, dolori addominali e febbre entro due o cinque giorni dall'esposizione all'organismo. La diarrea può contenere sangue e può accompagnarsi a episodi di nausea e vomito. Il decorso della malattia si esaurisce generalmente entro una settimana. Alcuni pazienti infetti da *Campylobacter* non presentano alcun sintomo. Nel caso di soggetti con sistema immunitario compromesso, alle volte il *Campylobacter* entra nel flusso ematico causando gravi infezioni potenzialmente letali.

Negli Stati Uniti il *Campylobacter* rappresenta una delle più comuni cause di diarrea di origine batterica. Tutti i casi si verificano virtualmente come eventi isolati e sporadici, non come parte di focolai epidemici estesi. L'attività di sorveglianza effettuata tramite il sistema FoodNet riporta l'incidenza di diagnosi pari a circa 15 casi all'anno ogni 100,000 individui.<sup>1,2</sup> Molti altri casi non vengono diagnosticati o non vengono registrati e si stima che l'enterite da *Campylobacter* colpisca oltre un milione di individui ogni anno, ovvero lo 0,5% della popolazione generale. L'enterite da *Campylobacter* si verifica con maggior frequenza nei mesi estivi rispetto a quelli invernali. L'organismo viene isolato in bambini e ragazzi con maggior frequenza rispetto ad altri gruppi di età, e più di frequente nei maschi che nelle femmine. Sebbene il *Campylobacter* normalmente non sia fatale, si stima che ogni anno possa causare la morte in circa 100 individui infetti.<sup>2</sup>

## PRINCIPI BIOLOGICI

Premier CAMPY è un test immunologico enzimatico per il rilevamento diretto di antigeni di *Campylobacter* in campioni fecali umani. I micropozzetti frazionabili singolarmente sono rivestiti con anticorpi monoclonali specifici per *Campylobacter*. Un campione diluito di feci del paziente viene aggiunto nei micropozzetti e lasciato incubare. Al termine dell'incubazione, i micropozzetti vengono lavati per eliminare il materiale non legato, quindi si aggiunge un anticorpo anti-*Campylobacter* coniugato con perossidasi di rafano. Se gli antigeni di *Campylobacter* sono presenti, si forma un complesso antigene-anticorpo-enzima. Viene eseguito un secondo lavaggio per rimuovere gli eventuali materiali non legati e un substrato cromogeno viene aggiunto ai micropozzetti. La comparsa del colore blu indica la presenza di enzima legato. La Soluzione di arresto I viene aggiunta, ed il colore della reazione cambia da blu a giallo. I risultati dei test vanno interpretati visivamente o con lettore spettrofotometrico.

## REAGENTI MATERIALE FORNITO

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

- Premier CAMPY Micropozzetti:** micropozzetti rivestiti con anticorpi monoclonali. Gli anticorpi sono specifici per *C. jejuni* e *C. coli*.
- Premier CAMPY Coniugato enzimatico:** anticorpi monoclonali coniugati con perossidasi di rafano specifici per *C. jejuni* e *C. coli* in soluzione proteica tamponata contenente ProClin® (0,1%) e gentamicina (0,03%) come conservanti.
- Premier Soluzione di lavaggio III (20X):** soluzione tampone di lavaggio concentrata contenente ProClin® (0,1%) e gentamicina (0,3%) come conservanti.
- Premier Substrato I:** soluzione tamponata contenente perossido di urea e tetrametilbenzidina a pH 5,0.
- Premier Soluzione di arresto I:** acido fosforico 1M.
- Premier CAMPY Diluente del campione/Controllo negativo:** soluzione proteica tamponata contenente ProClin® (0,1%) e gentamicina (0,03%) come conservanti.
- Premier CAMPY Controllo positivo:** *C. jejuni* inattivato, in una soluzione proteica tamponata contenente sodio azide (0,094%) e gentamicina (0,03%) come conservanti.
- Pipette di trasferimento
- Supporto per micropozzetti
- Pellicola sigillante per micropozzetti

## MATERIALI NON FORNITI

- Guanti di lattice monouso
  - Provette (10 x 75 mm o 12 x 75 mm) per la diluizione dei campioni
  - Acqua distillata o deionizzata
  - Spruzzetta per lavaggi
  - Cilindro graduato per la preparazione della soluzione tampone di lavaggio 1X
  - Carta assorbente
  - Bastoncini applicatori di legno
  - Contenitore per scarti con disinfettante e/o buste per smaltimento di materiali biologici in autoclave
  - Vortex
  - Timer
  - Lettore per micropiastre EIA in grado di rilevare assorbanza a 450 nm o 450/630 nm\* (facoltativo)
  - Aggitatore termostato StatFax™-2200 (StatFax™ è un marchio di fabbrica di Awareness Technology, Inc.)\* (facoltativo)
  - Dispositivo di lavaggio semiautomatico per micropiastre\* (facoltativo)
- \* Nota: è responsabilità dell'operatore validare il protocollo di utilizzo di StatFax™, dei dispositivi di lavaggio semiautomatici per piastre e dei lettori, prima dell'utilizzo con questo prodotto.

## PRECAUZIONI

- Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
- Leggere e seguire attentamente le istruzioni.
- Non scambiare micropozzetti, coniugato enzimatico, Premier substrato I o reagenti di controllo positivo appartenenti a lotti diversi. (Il Diluente del campione/Controllo negativo, la Soluzione di lavaggio III (20X) e la Soluzione di arresto I sono intercambiabili tra lotti a patto che, al momento dell'uso, la data di scadenza dei reagenti non sia stata superata).
- Non usare i componenti del kit oltre la data di scadenza.
- Non usare flaconi privi di etichetta, numero di lotto o data di scadenza.
- Non usare un reagente se appare scolorito o torbido, in quanto ciò potrebbe indicare la presenza di una contaminazione microbica.
- Prima dell'uso, lasciare che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (21-27 C).
- Miscelare delicatamente tutti i reagenti prima dell'uso.
- Durante la dispensazione, mantenere i flaconi dei reagenti in posizione verticale e ad una adeguata distanza dal pozzetto per assicurarne portata e dosaggio costanti.
- Richiudere i flaconi con i corretti colorati tappi.
- Non riutilizzare i micropozzetti.
- I micropozzetti non utilizzati vanno conservati nella busta, richiudendola, al fine di proteggere le strisce dall'umidità.
- Le pipette di trasferimento fornite con questo kit vanno usate per la preparazione e il trasferimento dei campioni. Usare una pipetta per ciascun campione.
- Al fine di evitare spruzzi durante l'erogazione dei campioni diluiti nei micropozzetti, inserire la punta della pipetta di trasferimento fino a raggiungere la metà circa dal fondo del pozzetto e dispensare lentamente il campione verso le pareti del pozzetto stesso.
- Il lavaggio dei micropozzetti va eseguito esattamente come indicato nella procedura del test. Come in ogni test EIA, un lavaggio insufficiente può causare la presenza di un rumore di fondo elevato.
- Tutti i reagenti, eccetto la Soluzione di lavaggio III (20X), sono forniti già diluiti alla concentrazione appropriata.
- Qualsiasi deviazione dai tempi di incubazione indicati può influire sulla sensibilità del test, e va pertanto evitata.
- Al fine di ottenere un campione adeguato e rappresentativo, prima della diluizione, le feci devono essere mescolate a fondo a prescindere dalla consistenza.

## AVVERTENZE

- I campioni dei pazienti possono contenere agenti infettivi, pertanto vanno maneggiati ed eliminati come materiale biologicamente pericoloso.
- Eliminare in un apposito contenitore la soluzione di lavaggio e tutti i materiali usati per il test. Tutto il materiale di scarto va considerato come materiale potenzialmente pericoloso.
- Il reagente di controllo positivo contiene *C. jejuni* inattivato, tuttavia va maneggiato come materiale potenzialmente pericoloso.
- Evitare che la Soluzione di arresto I entri a contatto con la pelle. In caso di contatto, lavare immediatamente con acqua.

## DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

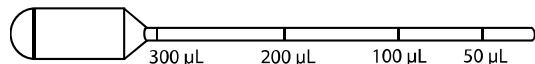
Fare riferimento alla SDS, disponibile sul sito [www.meridianbioscience.com](http://www.meridianbioscience.com) (US version) / [www.meridianbioscience.eu](http://www.meridianbioscience.eu) (EU version) per i rischi e i consigli di prudenza.

## STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La data di scadenza del kit è indicata sull'etichetta dello stesso. Conservare il kit a 2-8 C e riporlo nel frigorifero immediatamente dopo l'uso.

## NOTE PROCEDURALI

Il diagramma seguente mostra la pipetta di trasferimento per Premier CAMPY.



## PREPARAZIONE DEI REAGENTI

- Portare l'intero kit, inclusa la busta dei micropozzetti, a temperatura ambiente (21-27 C) prima dell'uso.
- Preparare la Soluzione di lavaggio 1X secondo necessità. Ad esempio: 10,0 mL di Premier Soluzione di lavaggio III (20X) + 190,0 mL di acqua distillata o deionizzata sono sufficienti per lavare una striscia. La Soluzione di lavaggio 1X può essere conservata a 2-27 C fino a un mese. Portarla a temperatura ambiente (21-27 C) prima dell'uso.

## RACCOLTA DEI CAMPIONI

**Campioni di feci umane, non conservati in terreno di trasporto:** i campioni devono essere trasportati in un contenitore ermetico e conservati a 2-8 C prima delle analisi. I campioni devono essere analizzati non appena possibile, ma possono essere conservati a 2-8 C fino a un massimo di 96 ore. (Vedere la sezione PREPARAZIONE DEI CAMPIONI per istruzioni sulla diluizione dei campioni). Se non fosse possibile eseguire l'analisi entro 96 ore, congelare i campioni immediatamente dopo il ricevimento e conservarli a ≤ -20 C fino al momento dell'analisi. I campioni possono essere congelati e scongelati due volte.

**Campioni di feci umane, conservati in terreni di trasporto Cary-Blair:** i campioni vanno conservati a 2-8 C prima dell'analisi. I campioni devono essere analizzati non appena possibile, ma possono essere conservati a 2-8 C fino a un massimo di 96 ore. (Vedere la sezione PREPARAZIONE DEI CAMPIONI per istruzioni sulla diluizione dei campioni). Se non fosse possibile eseguire l'analisi entro 96 ore, congelare i campioni immediatamente dopo il ricevimento e conservarli a ≤ -20 C fino al momento dell'analisi. I campioni possono essere congelati e scongelati due volte.

## PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Miscelare le feci il meglio possibile prima di pipettare.

- Campioni di feci umane, non conservati:**
  - Con l'aiuto del contagocce (o uno strumento equivalente), aggiungere 200 µL di Diluente del campione/Controllo negativo ad una provetta piccola.
- Feci formate/solide:**
  - Usando un bastoncino di legno (o uno strumento equivalente), aggiungere una piccola porzione (3-4 mm di diametro) di campione fecale ben miscelato alla provetta contenente il Diluente del campione/Controllo negativo.
  - Emulsionare il campione fecale usando il bastoncino di legno.
  - Agitare l'emulsione con il vortex per almeno 15 secondi.
- Feci liquide/semisolide:**
  - Usando una delle pipette di trasferimento fornite con il kit, aggiungere 50 µL (prima tacca dalla punta della pipetta) di campione fecale ben miscelato nella provetta contenente il Diluente del campione/Controllo negativo.
  - Agitare la miscela con il vortex per almeno 15 secondi.
  - Porre la pipetta di trasferimento nella provetta, per utilizzarla in seguito.
- Campioni di feci umane, conservati in terreni di trasporto Cary-Blair:**
  - Con l'aiuto del contagocce (o uno strumento equivalente), aggiungere 200 µL di Diluente del campione/Controllo negativo in una provetta piccola.
  - Usando una delle pipette di trasferimento fornite con il kit, aggiungere 200 µL (terza tacca dalla punta della pipetta) di campione fecale ben miscelato nella provetta contenente il Diluente del campione/Controllo negativo.
  - Agitare la miscela con il vortex per almeno 15 secondi.
  - Porre la pipetta di trasferimento nella provetta, per utilizzarla in seguito.

## PROCEDURA DEL TEST

- Dopo che la busta ha raggiunto la temperatura ambiente (21-27 C), separare un numero sufficiente di micropozzetti (1 pozzetto per ciascun campione, più 1 per il controllo positivo e 1 per il controllo negativo di ciascun gruppo). Inserire i micropozzetti nel supporto e annotare la posizione di ciascun pozzetto. I micropozzetti non utilizzati devono essere reinseriti immediatamente nella busta sigillata.
- Usando la pipetta di trasferimento del campione, aggiungere 100 µL di campione fecale diluito (seconda tacca dalla punta della pipetta) nel rispettivo pozzetto. (Inserire la punta della pipetta fino a raggiungere la metà dal fondo del pozzetto e dispensare lentamente il campione verso le pareti del pozzetto stesso).
- Dispensare nel pozzetto corrispondente 2 gocce di Controllo positivo. Usando una pipetta di trasferimento, aggiungere 100 µL (seconda tacca dalla punta della pipetta) di Diluente del campione/Controllo negativo al pozzetto designato. Tagliare una parte adeguata di pellicola sigillante e applicarla bene sopra i micropozzetti per sigillarli.
- Incubare la piastra per 1 ora a 21-27 C. In alternativa, i laboratori dotati di un aggitatore termostato (StatFax™-2200) possono incubare e far ruotare la piastra per 30 minuti a 24 C a Velocità 5 (1000 rpm).
- Rimuovere con attenzione la pellicola sigillante e lavare i pozzetti:
  - Metodo manuale:**
    - Versare il contenuto della piastra in un contenitore per materiale biologicamente pericoloso.
    - Rovesciare e scuotere la piastra su una pila di carta assorbente pulita.
    - Riempire tutti i pozzetti con la Soluzione di lavaggio 1X, dirigendo il flusso del tampone verso le pareti dei pozzetti per evitare la formazione di schiuma.
    - Ripetere il ciclo di lavaggio (versare, scuotere su carta assorbente pulita, riempire) 4 volte per un totale di 5 cicli di lavaggio. Dopo l'ultimo ciclo, svuotare e scuotere energicamente la piastra su carta assorbente pulita per rimuovere il tampone di lavaggio in eccesso, ma evitare che i pozzetti si asciugino completamente.
  - Metodo di lavaggio semi automatico:**
    - Versare il contenuto della piastra in un contenitore per materiale biologicamente pericoloso.
    - Rovesciare e scuotere la piastra su una pila di carta assorbente pulita. Collocare la piastra vuota nel lavatore.
    - Riempire i pozzetti fino al bordo (circa 300-350 µL/pozzetto) con la Soluzione di lavaggio 1X, quindi aspirare. La testata del dispositivo di lavaggio va regolata in modo da evitare la formazione di schiuma nel corso del riempimento dei pozzetti, e in modo da aspirare completamente i pozzetti dopo ciascun ciclo di lavaggio.
    - Ripetere il punto iii altre 4 volte. Dopo l'ultimo lavaggio, aspirare a fondo i pozzetti per rimuovere quanta più umidità possibile ma non lasciare che i pozzetti si asciugino completamente.
- Aggiungere 2 gocce (circa 100 µL) di Coniugato enzimatico in ciascun pozzetto. Agitare/ruotare bene la piastra per 30 secondi.
- Tagliare una parte adeguata di pellicola sigillante e applicarla bene sopra i micropozzetti per sigillarli. Incubare la piastra per 30 minuti a 21-27 C. In alternativa, i laboratori dotati di un aggitatore termostato (StatFax™-2200) possono incubare e far ruotare la piastra per 15 minuti a 24 C a Velocità 5 (1000 rpm).
- Rimuovere con attenzione la pellicola sigillante e lavare i pozzetti come indicato al Punto 5.
- Aggiungere 2 gocce (circa 100 µL) di Premier Soluzione substrato I in ciascun pozzetto. Agitare/ruotare bene la piastra per 30 secondi. Incubare la piastra per 10 minuti a 21-27 C.
- Aggiungere 2 gocce (circa 100 µL) di Premier Soluzione di arresto I in ciascun pozzetto. Agitare/ruotare bene la piastra per 30 secondi. **Nota:** la reazione positiva sviluppa inizialmente un colore blu, che diventa giallo dopo l'aggiunta della Soluzione di arresto I.
- Pulire il fondo esterno dei pozzetti con un panno pulito che non lasci pelucchi.
- Osservare e annotare le reazioni. I risultati del test possono essere letti visivamente o tramite un lettore spettrofotometrico.
  - Lettura visiva - Leggere entro 15 minuti dopo l'aggiunta della Soluzione di arresto I.
  - Lettura spettrofotometrica - Azzerare il lettore EIA contro aria. Leggere l'assorbanza a 450 nm o 450/630 nm entro 15 minuti dall'aggiunta della Soluzione di arresto I.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

### Lettura visiva

Negativo = incolore o giallo molto tenue

Positivo = giallo ben definito

I risultati di colore giallo molto tenue vanno valutati tramite lettura spettrofotometrica.

### Lettura spettrofotometrica a singola lunghezza d'onda (450 nm)

Negativo: < 0,150

Positivo: ≥ 0,150

Controllo negativo: < 0,150

Controllo positivo: ≥ 0,600

### Letture spettrofotometrica a doppia lunghezza d'onda (450/630 nm)

Negativo: < 0,100  
Positivo: ≥ 0,100  
Controllo negativo: < 0,100  
Controllo positivo: ≥ 0,600

Se il Controllo negativo risulta < 0,000, ri-azzerare il lettore contro aria e ripetere la lettura della piastra.

Un risultato positivo indica la presenza di antigeni di *Campylobacter*. Un risultato negativo indica l'assenza di antigeni di *Campylobacter* o un livello di antigeni inferiore al limite di rilevazione del test. Il valore delle OD non è indicativo della severità dell'infezione da *Campylobacter*, né può essere correlato con un titolo di positività. Reazioni positive molto forti possono sviluppare un colore giallo intenso o un precipitato color porpora entro pochi minuti dall'aggiunta della Soluzione di arresto. In questi casi, lo spettrometro potrebbe indicare risultati "fuori dai limiti". In questi casi, i risultati devono essere considerati positivi.

Una frequenza di risultati basso positivi (OD fra 0,150 e 0,200 per la singola lunghezza d'onda e fra 0,100 e 0,150 per la doppia lunghezza d'onda) è superiore al 5% dei campioni analizzati, può indicare una procedura di lavaggio inadeguata. In tal caso si raccomanda di eseguire lavaggi più vigorosi e di aumentare fino a sette i cicli di lavaggio al Punto 5 della procedura.

### CONTROLLO QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

- Ad ogni utilizzo, esaminare visivamente i componenti del kit per controllare che non vi siano segni di contaminazione microbica, congelamento o perdite. Non usare reagenti contaminati o sospetti.
- Le prestazioni di Premier CAMPY devono essere verificate usando in ciascuna seduta il Controllo positivo e il Diluente del campione/Controllo negativo. Vedere la sezione INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI sopra indicata per la descrizione dei risultati attesi con i reagenti di controllo. La seduta va considerata non valida quanto anche uno solo dei due reagenti di controllo produce i risultati attesi. In questi casi, è necessario ripetere l'analisi dei campioni e del controllo. Se ripetendo la seduta non si ottengono ancora i risultati attesi usando reagenti non scaduti, chiamare il Servizio di assistenza tecnica Meridian al numero 0331433636 (per l'Italia) oppure il distributore autorizzato Meridian.
- I controlli servono a controllare la reattività dei reagenti. Risultati inattesi possono indicare che uno o più reagenti non è più reattivo al momento dell'uso, che l'analisi non è stata eseguita correttamente, oppure che i reagenti o i campioni non sono stati aggiunti correttamente. **La prima azione da intraprendere per verificare la presenza problemi nei reagenti o errori nella procedura è quella di ripetere la seduta con i controlli. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale, (Italia +390331433636).**
- In questo test non è stata osservata l'interferenza della matrice dei campioni, in quanto i campioni sono stati notevolmente diluiti prima dell'analisi. Per questo motivo i reagenti di Controllo positivo e negativo prodotti per questo test sono preparati in matrici simili a quella del Diluente del campione. Se per le analisi dei campioni si preferisce usare materiali di controllo di composizione identica a quella dei campioni stessi, l'utente può prepararli diluendo i campioni noti positivi e negativi nel Diluente secondo le istruzioni indicate nella sezione PREPARAZIONE DEI CAMPIONI di questo inserto. Aggiungere 100 µL di materiale di controllo preparato dall'utente nei pozzetti di analisi.

### VALORI ATTESI

Le prestazioni di Premier CAMPY sono state valutate nel corso del 2008 in varie regioni geografiche degli Stati Uniti. L'incidenza di campioni positivi (sia *C. jejuni* che *C. coli*) nel corso di questo periodo è stata circa l'1,5%. La frequenza attesa per un laboratorio specifico può variare da questa percentuale poiché dipende da fattori quali la regione geografica, la stagione e la presenza o meno di un focolaio epidemico.

### LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Il test è qualitativo, quindi i valori ottenuti non devono essere interpretati in modo quantitativo.
- Premier CAMPY non va utilizzato come unico metodo per la diagnosi di enterite da *Campylobacter*. I risultati del test devono essere utilizzati insieme alle informazioni ricavate dall'esame clinico del paziente e da altre procedure diagnostiche.
- Incubazioni prolungate oltre quanto richiesto dalla metodica possono determinare un aumento di risultati falso-positivi. Al contrario, periodi di incubazione inferiori a quanto indicato in questo inserto possono produrre un numero maggiore di risultati falso-negativi. Attenersi ai tempi di incubazione indicati.
- Risultati prodotti dal Controllo Negativo e/o Positivo che non rientrino costantemente in quanto indicato potrebbero essere dovuti ad un lavaggio manuale insufficiente o a un guasto del dispositivo di lavaggio. Il problema può essere risolto con un numero maggiore di cicli di lavaggio, un lavaggio più vigoroso, lo svuotamento più accurato della piastra o una ri-validazione accurata del dispositivo di lavaggio. Se il problema dovesse persistere, contattare il Servizio di assistenza tecnica Meridian al numero 0331433636 (per l'Italia) o il distributore autorizzato Meridian.

### PRESTAZIONI SPECIFICHE

Premier CAMPY è stato valutato nel 2008 da quattro laboratori indipendenti nelle regioni occidentale, centro-occidentale e sud-orientale degli Stati Uniti. In totale sono stati esaminati 2073 campioni qualificati; fra questi, 166 erano campioni retrospettivi congelati. La maggior parte dei campioni (1862/2073) è stata raccolta in terreni di trasporto e mezzi di conservazione Cary-Blair. I 211 campioni restanti sono stati analizzati in stato di non conservazione. I campioni provenivano da pazienti di sesso maschile (41%) e di sesso femminile (57%). Nel 2% dei casi, il sesso dei pazienti era sconosciuto. L'età dei pazienti è compresa fra meno di un mese e 97 anni. Non sono state osservate differenze di prestazioni del test in base al sesso o all'età dei pazienti. Le tabelle seguenti mostrano le caratteristiche delle prestazioni del test per sede clinica, età dei pazienti e tipo di campioni.

Tabella 1. Caratteristiche delle prestazioni per sede clinica

Sede	Campioni positivi			Campioni negativi		
	Premier/Coltura	Sensibilità %	95% CI	Premier/Coltura	Specificità %	95% CI
Sede 1	22/23	95,7%	79,0 – 99,2%	189/193	97,9%	94,8 – 99,2%
Sede 2	0/0	N/A	N/A	51/51	100%	93,0 – 100%
Sede 3	26/27	96,3%	81,7 – 99,3%	1429/1511	94,6%	93,3 – 95,6%
Sede 4	11/11	100%	74,1 – 100%	255/257	99,2%	97,2 – 99,8%
Totale sedi	59/61	96,7%	88,8 – 99,1%	1924/2012	95,6%	94,6 – 96,4%

Tabella 2. Caratteristiche delle prestazioni per età dei pazienti

Età del paziente	Campioni positivi			Campioni negativi		
	Premier/Coltura	Sensibilità %	95% CI	Premier/Coltura	Specificità %	95% CI
Dalla nascita a 1 mese	0/0	N/A	N/A	12/13	92,3%	66,7 – 98,6%
Da > 1 mese a 2 anni	3/3	100%	43,9 – 100%	338/348	97,1%	94,8 – 98,4%
Da > 2 anni a 12 anni	5/5	100%	56,6 – 100%	374/388	96,4%	94,0 – 97,8%
Da > 12 anni a 21 anni	2/2	100%	34,2 – 100%	139/145	95,9%	91,3 – 98,1%
> 21 anni	32/34	94,1%	80,9 – 98,4%	1052/1109	94,9%	93,4 – 96,5%
Indefinita	17/17	100%	81,6 – 100%	9/9	100%	70,1 – 100%

Tabella 3. Caratteristiche delle prestazioni per tipo di campione (conservato e non conservato)

Tipo di campione	Campioni positivi			Campioni negativi		
	Premier/Coltura	Sensibilità %	95% CI	Premier/Coltura	Specificità %	95% CI
In terreno di trasporto	42/43	97,7%	87,9 – 99,6%	1733/1819	95,3%	94,2 – 96,2%
Senza terreno di trasporto	17/18	94,4%	74,2 – 99,0%	191/193	99,0%	96,3 – 99,7%

Tabella 4. Caratteristiche delle prestazioni dei campioni freschi e prestazioni dei campioni congelati

Freschi/ Congelati	Campioni positivi			Campioni negativi		
	Premier/Coltura	Sensibilità %	95% CI	Premier/Coltura	Specificità %	95% CI
Freschi	17/18	94,4%	74,2 – 99,0%	1810/1889	95,8%	94,8 – 96,6%
Congelati	42/43	97,7%	87,9 – 99,6%	114/123	92,7%	86,7 – 96,1%

### SENSIBILITÀ ANALITICA

La sensibilità analitica di questo test per *C. jejuni* e per *C. coli* è stata determinata con 45 test per ciascun analita, valutando il risultato con probabilità fissata (ad es. 95%) di ottenere risultati positivi. I valori di sensibilità analitica così ottenuti sono: *C. jejuni* 1,2 x 10<sup>6</sup> cellule/mL; per *C. coli* 8,0 x 10<sup>6</sup> cellule/mL.

### SPECIFICITÀ DEL TEST

Le seguenti culture di *Campylobacter* provenienti da fonti diverse sono state analizzate e hanno prodotto risultati positivi a 1,1 x 10<sup>8</sup> CFU/mL con Premier CAMPY: i ceppi di *C. coli* 10956, 17755, 36994 e 53138 e i ceppi di *C. jejuni* 6951, 10940, 12081, 29411 e 38106.

### CROSS-REATTIVITÀ

Studi sulla cross-reattività sono stati eseguiti utilizzando campioni fecali positivi e negativi inoculati con batteri o funghi con una concentrazione finale di 1,1 x 10<sup>8</sup> CFU/mL o virus compresi fra 1,3 x 10<sup>7</sup> e 3,1 x 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>/mL. Nessuno dei seguenti organismi inoculati nei campioni fecali ha interferito con Premier CAMPY: *Aeromonas hydrophila*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella* Gruppi B-E, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, Adenovirus tipo 40 e 41, virus Coxsackie, Echovirus, Rotavirus.

### ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI

È stato osservato che le seguenti sostanze, se presenti nelle concentrazioni solvente/diluente saturato indicate, non interferiscono con i risultati del test alle concentrazioni indicate: Solfato di bario (5 mg/mL), grasso fecale (equivalente a 2,65 mg di acido stearico più 1,3 mg di acido palmatico per mL), emoglobina (come metemoglobina) (3,2 mg/mL), Imodium AD® (0,00667 mg/mL), Kaopectate® (0,87 mg/mL), mucina (3,33 mg/mL), Mylanta® (4,2 mg/mL), Pepto-Bismol® (0,87 mg/mL), Prilosec® (0,5 mg/mL), Tagamet® (0,5 mg/mL), TUMS® (0,5 mg/mL), sangue intero (5% v/v).

FRANÇAIS

PREMIER®  
CAMPY

Test immunoenzymatique pour la détection des antigènes *Campylobacter* dans des échantillons de selles

REF 618096

IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro

### BUT DE LA METHODE

Le Premier CAMPY est un test immunoenzymatique qualitatif in vitro pour la détection des antigènes *Campylobacter* spécifiques dans des échantillons de selles de patients montrant des signes et des symptômes de gastroentérite. Le test Premier CAMPY détecte le *C. jejuni* et le *C. coli* dans les selles humaines, conservées ou non dans un milieu de transport Cary-Blair. Les résultats des tests doivent être interprétés en fonction des informations obtenues à partir de l'évaluation clinique du patient et d'autres démarches diagnostiques.

Le test Premier CAMPY ne convient pas pour les unités de soins ou les lieux d'intervention. Il est uniquement prévu pour utilisation dans les laboratoires hospitaliers, de référence, régionaux, locaux, privés ou publics.

### RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Le *Campylobacter* est une bactérie micro-aérophile à Gram négatif. Pratiquement toutes les campylobactérioses humaines sont causées par une ou deux espèces. Ces deux espèces sont le *C. coli* et le *C. jejuni*. Les Centers for Disease Control rapportent que 99 % de ces maladies sont causées par le *C. jejuni* alors que d'autres études ont montré qu'en général, plus de 90 % des infections par le *Campylobacter* sont causées par le *C. jejuni*, tandis que le *C. coli* cause 5 à 10 % des infections.<sup>2</sup> La maladie causée par le genre *Campylobacter* est appelée une campylobactériose. La plupart des personnes souffrant d'une campylobactériose ont la diarrhée, des crampes, des douleurs abdominales et de la fièvre dans les deux à cinq jours suivant l'exposition à l'organisme. La diarrhée peut être sanguinolente et peut être accompagnée de nausée et de vomissements. La maladie dure en général une semaine. Certaines personnes infectées par le *Campylobacter* ne présentent aucun symptôme. Chez les personnes ayant un système immunitaire compromis, le *Campylobacter* peut parfois pénétrer la circulation sanguine et entraîner une grave infection mettant en jeu le pronostic vital.

Le *Campylobacter* est une des causes bactériennes de maladie diarrhéique les plus communes aux États-Unis. Pratiquement tous les cas surviennent de façon isolée et sporadique; ils ne se manifestent pas sous forme d'épidémies. La surveillance active par FoodNet indique que pour une population de 100,000 personnes, environ 15 cas sont diagnostiqués chaque année.<sup>1,2</sup> De bien plus nombreux cas ne sont pas diagnostiqués ou rapportés; on estime que la campylobactériose touche plus d'un million de personnes chaque année, soit 0,5 % de la population générale. La campylobactériose survient beaucoup plus fréquemment durant les mois d'été que d'hiver. L'organisme est isolé plus fréquemment chez des nourrissons et des jeunes adultes que dans d'autres groupes d'âge et plus fréquemment chez les hommes que chez les femmes. Bien qu'en général le *Campylobacter* n'entraîne pas le décès, il a été estimé qu'environ 100 personnes atteintes d'infections par *Campylobacter* meurent chaque année.<sup>2</sup>

## PRINCIPE DU TEST

Premier CAMPY est un test immunoenzymatique pour la détection directe des antigènes *Campylobacter* dans les échantillons de selles humaines. Des anticorps anti-*Campylobacter* monoclonaux spécifiques sont adsorbés sur des micropuits sécables. Un échantillon dilué de patient est ajouté aux micropuits, puis incubé. Une fois l'incubation terminée, une étape de lavage est effectuée pour éliminer toute matière non liée, puis un conjugué peroxydase du raifort (HRP)-anti-*Campylobacter* est ajouté aux micropuits lavés. Si des antigènes *Campylobacter* sont présents, un complexe anticorps-enzyme se forme. Une seconde étape de lavage est effectuée pour éliminer les matières non liées, puis un substrat chromogène est ajouté aux micropuits. En présence d'un enzyme lié, une couleur bleue se développe. La solution d'arrêt Premier Stop I est alors ajoutée; elle fait virer la solution du bleu au jaune. Les résultats du test sont interprétés visuellement ou par spectrophotométrie.

## MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

1. **Premier CAMPY Micropuits:** micropuits sécables en plastique recouverts d'anticorps monoclonal. Les anticorps sont spécifiques au *C. jejuni* et au *C. coli*.
2. **Premier CAMPY Conjugué enzymatique:** anticorps monoclonaux conjugués à la peroxydase du raifort spécifiques au *C. jejuni* et au *C. coli* dans une solution protéinique tamponnée contenant 0,1 % de ProClin® et 0,03 % de gentamicine comme conservateurs.
3. **Tampon de lavage (Premier 20X Wash Buffer III):** tampon de lavage concentré contenant 0,1 % de ProClin® et 0,3 % de gentamicine comme conservateurs.
4. **Substrat (Premier Substrate I):** solution tamponnée contenant du peroxyde d'urée et de la tétraméthylbenzidine, pH 5
5. **Solution d'arrêt (Premier Stop Solution I):** 1M d'acide phosphorique.
6. **Premier CAMPY Diluant pour échantillon/contrôle négatif:** solution protéinique tamponnée contenant 0,1 % de ProClin® et 0,03% de gentamicine comme conservateurs.
7. **Premier CAMPY Contrôle positif:** *C. jejuni* inactivé dans une solution protéinique tamponnée contenant 0,094 % d'azote de sodium et 0,03 % de gentamicine comme conservateurs.
8. Pipettes de transfert
9. Support de puits
10. Films adhésifs

## MATERIEL NON FOURNI

1. Gants jetables en latex
2. Tubes pour test (p. ex. 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm) pour effectuer la dilution de l'échantillon
3. Eau distillée ou déionisée
4. Flacon laveur (pissette)
5. Éprouvette graduée pour préparer la solution de lavage 1X
6. Papier absorbant
7. Bâtonnets applicateurs
8. Poubelle avec désinfectant et / ou sacs autoclavables pour déchets dangereux
9. Mélangeur vortex
10. Minuteur
11. Lecteur pour microplaque EIA capable de lire une absorbance à 450 nm ou 450 / 630 nm\* (optionnel)
12. Incubateur / agitateur StatFax™-2200 (StatFax™ est une marque déposée de Awareness Technology, Inc.)\* (optionnel)
13. Laveur semi-automatique de microplaque\* (optionnel)

\*Remarque: Il est de la responsabilité de l'opérateur de valider le laveur semi-automatique, l'incubateur StatFax™ et le lecteur de microplaque avant utilisation de ces appareils avec ce produit.

## PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont destinés à un usage diagnostique in vitro.
2. Lire et suivre les instructions avec soin.
3. Ne pas mélanger les micropuits, le conjugué enzymatique, le substrat ou le contrôle positif de différents lots. (Le diluant pour échantillon/contrôle négatif, le tampon de lavage (Premier 20X Wash Buffer III) et la solution d'arrêt (Premier Stop Solution I) sont interchangeables du moment que la date de péremption des réactifs n'est pas dépassée).
4. Ne pas utiliser le coffret après la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.
5. Ne pas utiliser les flacons qui n'ont pas d'étiquette, de numéro de lot ou de date de péremption.
6. Ne pas utiliser les réactifs s'ils ont changé de couleur ou sont troubles. La décoloration ou la turbidité peut être un signe de contamination microbienne.
7. Laisser les réactifs atteindre 21 – 27 C avant utilisation.
8. Tous les réactifs doivent être mélangés doucement avant utilisation.
9. Tenir les flacons de réactif à la verticale, à une distance raisonnable au-dessus du puits, pour assurer une taille des gouttes et une distribution régulières.
10. Replacer les bouchons colorés sur leurs flacons respectifs.
11. Ne pas réutiliser les micropuits.
12. Conserver les barrettes de micropuits non utilisées dans le sachet refermable d'origine. Il est important de protéger les barrettes de l'humidité.
13. Les pipettes de transfert fournies doivent être utilisées pour la préparation et le transfert des échantillons. Utiliser une pipette par échantillon.
14. Éviter les projections lors de la distribution des échantillons dans les micropuits en plaçant la pointe de la pipette de transfert à environ la moitié du puits et en déposant lentement le long de la paroi du puits.
15. Le lavage des micropuits doit être réalisé avec précision comme décrit dans la procédure de test. **Une procédure de lavage inadéquate peut causer un bruit de fond élevé.**
16. Tous les réactifs sont fournis prêts à l'emploi excepté la solution de lavage (Premier 20X Wash Buffer III).
17. Toute modification des temps d'incubation peut affecter la sensibilité et la spécificité de ce test et doit donc être évitée.
18. Tous les échantillons de selles doivent être mélangés avec soin, sans tenir compte de la consistance, afin d'assurer un échantillon représentatif avant le transfert.

## MISES EN GARDE

1. Les échantillons de patients peuvent contenir des agents infectieux; ils doivent être manipulés et éliminés comme biologiquement dangereux.
2. Jeter le tampon de lavage usagé et tout le matériel du test dans un récipient adéquat. Traiter les déchets comme une matière biologique potentiellement dangereuse.
3. Le contrôle positif contient le *C. jejuni* inactivé. Il doit cependant être manipulé comme une matière biologique potentiellement dangereuse.
4. Éviter tout contact cutané avec la solution d'arrêt Premier Stop Solution I; s'il y a contact, rincer immédiatement avec de l'eau.

## DANGER ET MISES EN GARDE

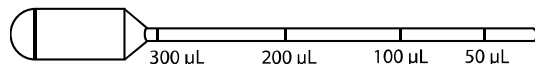
Pour les dangers et les précautions à prendre, se référer à la fiche de sécurité, disponible sur le site web de Meridian Bioscience. ([www.meridianbioscience.com](http://www.meridianbioscience.com)) (US version) / [www.meridianbioscience.eu](http://www.meridianbioscience.eu) (EU version))

## DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date de péremption du coffret est indiquée sur l'étiquette du coffret. Conserver le coffret entre 2 et 8 C et le remettre immédiatement au réfrigérateur après chaque utilisation.

## REMARQUES SUR LA PROCÉDURE

Ci-dessous, un schéma de la pipette de transfert Premier CAMPY.



## PREPARATION DES REACTIFS

1. Amener tout le coffret, y compris la pochette de micropuits, à une température comprise entre 21 et 27 C avant l'utilisation.
2. Préparer la solution de lavage 1X nécessaire. Par exemple: 10 mL de tampon de lavage concentré (Premier 20X Wash Buffer III) + 190 mL d'eau distillée ou déionisée sont suffisants pour effectuer le lavage d'une barrette. La solution de lavage 1X peut être conservée entre 2 et 27 C pendant un mois. L'amener à une température comprise entre 21 et 27 C avant utilisation.

## MANIPULATION DES ECHANTILLONS

**Echantillons de selles humaines, sans conservateur:** les échantillons doivent être transportés dans un récipient étanche et conservés entre 2 et 8 C avant l'analyse. Les échantillons doivent être analysés le plus tôt possible, mais ils peuvent être conservés à une température de 2 et 8 C jusqu'à 96 heures (voir la section PREPARATION DES ECHANTILLONS pour les instructions concernant la dilution des échantillons). Les échantillons qui ne seront pas analysés dans les 96 heures doivent être congelés dès réception et conservés congelés à  $\leq -20$  C jusqu'au moment de l'analyse. Les échantillons peuvent être congelés et décongelés deux fois.

**Echantillons de selles humaines conservés dans un milieu Cary-Blair:** les échantillons doivent être conservés entre 2 et 8 C avant l'analyse. Les échantillons doivent être analysés le plus tôt possible, mais ils peuvent être conservés à une température de 2 et 8 C jusqu'à 96 heures (voir la section PREPARATION DES ECHANTILLONS pour les instructions concernant la dilution des échantillons). Les échantillons qui ne seront pas analysés dans les 96 heures doivent être congelés dès réception et conservés congelés à  $\leq -20$  C jusqu'au moment de l'analyse. Les échantillons peuvent être congelés et décongelés deux fois.

## PREPARATION DES ECHANTILLONS

Mélanger l'échantillon de selles aussi complètement que possible avant son prélèvement à la pipette.

1. **Echantillons de selles humaines, sans conservateur:**
  - a. A l'aide du flacon compte-gouttes (ou un équivalent), ajouter 200 µL de diluant pour échantillon/contrôle négatif à un petit tube.
  - b. **Selles moulees ou solides:**
    - i. Utiliser un bâtonnet applicateur (ou un équivalent) pour ajouter une petite portion (3 à 4 mm de diamètre) de selles bien mélangées au tube de diluant pour échantillon/contrôle négatif.
    - ii. Emulsionner les selles à l'aide du bâtonnet applicateur.
    - iii. Passer l'émulsion au vortex pendant un minimum de 15 secondes.
  - c. **Selles liquides ou semi-solides:**
    - i. A l'aide d'une pipette de transfert fournie avec le coffret, ajouter 50 µL (premier repère à partir de l'extrémité de la pipette) de selles bien mélangées au tube de diluant pour échantillon/contrôle négatif.
    - ii. Passer le mélange au vortex pendant un minimum de 15 secondes.
    - iii. Remettre la pipette dans le tube d'échantillon en vue d'une utilisation ultérieure.
2. **Echantillons de selles humaines conservés dans un milieu Cary-Blair:**
  - a. A l'aide du flacon compte-gouttes (ou un équivalent), ajouter 200 µL de diluant pour échantillon/contrôle négatif à un petit tube.
  - b. A l'aide d'une pipette de transfert fournie avec le coffret, ajouter 200 µL (troisième repère à partir de l'extrémité de la pipette) de selles bien mélangées au tube de diluant pour échantillon/contrôle négatif.
  - c. Passer le mélange au vortex pendant un minimum de 15 secondes.
  - d. Remettre la pipette dans le tube d'échantillon en vue d'une utilisation ultérieure.

## PROCEDURE DE TEST

1. Après avoir ramené le sachet à température ambiante (21-27 C), détacher le nombre de micropuits nécessaires (1 puits par échantillon plus 1 puits pour le contrôle positif et 1 puits pour le contrôle négatif par série). Mettre les micropuits dans le support de barrettes et noter la position de tous les puits. Les puits inutilisés doivent être immédiatement remis dans le sachet.
2. Pipeter, au moyen de la pipette de transfert fournie, 100 µL de selle diluée (deuxième repère à partir de l'extrémité de la pipette) dans les puits correspondant. (Placer la pipette à mi-hauteur dans les puits et déposer très lentement l'échantillon dilué, le long de la paroi du puits.)
3. Ajouter 2 gouttes de contrôle positif. A l'aide d'une pipette de transfert, ajouter 100 µL (deuxième repère à partir de l'extrémité de la pipette) de diluant pour échantillon/contrôle négatif aux puits appropriés. Couper le film à la taille appropriée et l'appliquer fermement sur le dessus des micropuits pour les sceller.
4. Incuber la plaque pendant 1 heure entre 21 et 27 C. Alternativement, les laboratoires équipés d'un agitateur de plaque chauffant (StatFax™-2200) peuvent incuber les échantillons dilués en agitant la plaque pendant 30 minutes à 24 C à 1000 tpm (programmation 5).
5. Enlever avec précaution le film adhésif de la plaque et procéder au lavage des puits:
  - a. **Méthode manuelle:**
    - i. Eliminer d'un geste ferme le contenu des puits dans un récipient pour déchets biologiques.
    - ii. Retourner la plaque et la taper sur du papier absorbant propre.
    - iii. Remplir complètement les puits de solution de lavage 1X. Eviter la formation de mousse dans les puits en dirigeant le flux du tampon sur la paroi du puits.
    - iv. Répéter le cycle de lavage (vider, taper sur du papier propre, remplir) 4 fois pour un total de 5 lavages. Après le dernier remplissage, vider et taper les plaques suffisamment fort sur du papier absorbant propre pour éliminer l'excès de tampon de lavage, mais ne laisser à aucun moment les puits sécher complètement.
  - b. **Méthode de lavage semi-automatique:**
    - i. Eliminer d'un geste ferme le contenu des puits dans un récipient pour déchets biologiques.
    - ii. Retourner la plaque et la taper sur du papier absorbant propre et placer ensuite la plaque vide sur le laveur.
    - iii. Remplir les puits jusqu'au bord (environ 300-350 µL/puits) de solution de lavage 1X, puis aspirer. Le collecteur du laveur doit être ajusté de façon qu'aucune formation de mousse ne survienne pendant le remplissage des puits et que les puits soient bien aspirés après chaque lavage.
    - iv. Répéter l'étape iii 4 fois de plus. Après le dernier lavage, les puits doivent être bien aspirés pour enlever le plus d'humidité possible, mais ne laisser à aucun moment les puits sécher complètement.
6. Ajouter 2 gouttes (environ 100 µL) de conjugué enzymatique à chaque puits. Bien homogénéiser la plaque par mouvement circulaire pendant 30 secondes.
7. Couper le film pour plaque à la taille appropriée et l'appliquer fermement sur le dessus des micropuits pour les sceller. Incuber la plaque pendant 30 minutes entre 21 et 27 C. Alternativement, les laboratoires équipés d'un agitateur de plaque chauffant (Stat Fax-2200™) peuvent incuber la solution en agitant la plaque pendant 15 minutes à 24 C à 1000 tpm (programmation 5).
8. Enlever avec précaution le film adhésif de la plaque et procéder au lavage des puits comme décrit à l'étape 5.
9. Ajouter 2 gouttes (environ 100 µL) de substrat (Premier Substrate I) à chaque puits. Bien homogénéiser la plaque par mouvement circulaire pendant 30 secondes. Incuber la plaque pendant 10 minutes entre 21 et 27 C.
10. Ajouter 2 gouttes (environ 100 µL) de solution d'arrêt (Premier Stop Solution I) à chaque puits. Bien homogénéiser la plaque par mouvement circulaire pendant 30 secondes. **Remarque:** la couleur initiale d'une réaction positive est bleue, elle tourne au jaune lors de l'ajout de la solution d'arrêt.
11. Essuyer le dessous de la plaque à l'aide d'un tissu non pelucheux.
12. Observer les réactions. Les résultats du test peuvent être lus visuellement ou à l'aide d'un spectrophotomètre.
  - a. Lecture visuelle – Lire dans les 15 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt.
  - b. Lecture spectrophotométrique – Faire le zéro de l'ELISA sur l'air. Lire l'absorbance à 450 nm ou à 450 / 630 nm dans les 15 minutes après addition de la solution d'arrêt.

## INTERPRETATION DES RESULTATS

### Lecture visuelle

Négatif = incolore à jaune très pâle  
Positif = couleur jaune bien définie  
Une couleur jaune très pâle doit être évaluée par lecture spectrophotométrique.

### Lecture spectrophotométrique à une simple longueur d'onde (450 nm)

Négatif: < 0,150  
Positif:  $\geq$  0,150  
Contrôle négatif: < 0,150  
Contrôle positif:  $\geq$  0,600

### Lecture spectrophotométrique à une double longueur d'onde (450 / 630 nm)

Négatif: < 0,100  
Positif:  $\geq$  0,100  
Contrôle négatif: < 0,100  
Contrôle positif:  $\geq$  0,600

Si le contrôle négatif est < 0,000 refaire une lecture à blanc de la plaque sur l'air et relire la plaque.

Un résultat positif indique la présence d'antigènes *Campylobacter*. Un résultat négatif indique l'absence d'antigènes *Campylobacter* ou bien que le taux est inférieur à la limite du seuil de détection du test. La valeur de DO au-dessus de la valeur seuil, n'est pas représentative de la sévérité ou de l'ampleur de l'infection par *Campylobacter*, ni ne peut être corrélée à un titre déterminé. Une réaction positive extrêmement forte peut entraîner soit un précipité de couleur jaune intense soit pourpre dans les minutes qui suivent l'arrêt de la réaction. Dans ce cas, le spectrophotomètre peut indiquer une lecture « hors plage ». Cette lecture doit être considérée comme un résultat positif.

Si la fréquence des résultats positifs faibles (DO entre 0,150 et 0,200 pour la longueur d'onde simple et entre 0,100 et 0,150 pour la double) est supérieure à 5 % des échantillons analysés, cela peut indiquer un lavage insuffisant. Il est recommandé d'effectuer un lavage plus vigoureux ou d'augmenter le nombre de lavages à sept lavages lors de l'étape 5.

#### CONTROLE DE QUALITE

**Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.**

- Lors de chaque utilisation, les réactifs du coffret doivent être contrôlés visuellement afin de déceler d'éventuels signes de contamination microbienne, de congélation ou de fuite. Ne pas utiliser des réactifs contaminés ou suspects.
- La performance du test Premier CAMPY doit être vérifiée en utilisant le contrôle positif et le diluant pour échantillon/contrôle négatif pour chaque série de test. Voir la section INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS ci-dessus pour une description des résultats attendus pour les réactifs de contrôle. Les tests doivent être considérés comme non valides lorsque l'un ou l'autre réactif de contrôle ne produit pas le résultat escompté. Dans ce cas, répéter les tests et les contrôles. Si, après avoir refait le test, les réactions attendues ne sont toujours pas observées et que la date de péremption des réactifs n'est pas dépassée, contacter les services techniques de Meridian ou votre distributeur local.
- Les contrôles sont utilisés pour détecter d'éventuels défauts des réactifs. Le fait de ne pas obtenir les résultats attendus indique que l'un ou l'autre réactif est défectueux au moment de l'utilisation, que le test n'a pas été effectué correctement, ou que les réactifs ou échantillons n'ont pas été ajoutés. **La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.**
- Aucune interférence de la matrice de l'échantillon n'a été observée, la dilution des échantillons étant élevée dans ce test. Aussi, les réactifs de contrôle fournis sont préparés dans la matrice du diluant échantillons. Au cas où des contrôles identiques aux échantillons testés, en termes de composition, sont préférés, l'utilisateur est invité à les préparer en diluant des échantillons positifs et négatifs connus dans le diluant échantillons suivant la procédure décrite sous la rubrique PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS. Ajouter 100 µL des contrôles ainsi préparés dans les puits.

#### VALEURS ATTENDUES

La performance du test Premier CAMPY a été évaluée en 2008 dans plusieurs régions géographiques des USA. L'incidence d'échantillons positifs (soit avec *C. jejuni* ou *C. coli*) durant cette période était d'environ 1,5 %. La fréquence attendue pour un laboratoire individuel peut différer de cette valeur puisqu'elle dépend de facteurs tels que le lieu, la période de l'année et une éventuelle épidémie.

#### LIMITES DU TEST

- Le test est une technique qualitative, une interprétation quantitative ne peut pas être réalisée.
- Le test Premier CAMPY ne peut pas être utilisé comme le seul moyen de détermination d'une campylobactériose. Les résultats du test doivent être interprétés en conjonction avec les informations disponibles sur le patient, les évaluations cliniques et les autres procédures de diagnostic.
- Une incubation trop longue des tests peut produire une augmentation de faux positifs. Réciproquement, des périodes d'incubation inférieures à celles définies dans cette notice peuvent entraîner une augmentation de faux négatifs. Il faut respecter les périodes d'incubation définies dans cette notice.
- Souppçonner un échec de la méthode de lavage ou du dispositif si les contrôles négatif et / ou positif produisent constamment des résultats hors spécifications. Le problème peut être résolu en augmentant le nombre de lavages, en lavant plus vigoureusement, en décantant mieux ou en ré-étalonnant les laveurs. Si le problème persiste, contacter les services techniques de Meridian ou votre distributeur local.

#### PERFORMANCES DU TEST

Le test Premier CAMPY a été évalué en 2008 par quatre laboratoires indépendants situés dans les régions de l'ouest, du mi-ouest et du sud-est des USA. Un total de 2073 échantillons de patient qualifiés ont été évalués; 166 d'entre eux étaient des échantillons rétrospectifs congelés. La majorité (1862/2073) a été préservés sur un milieu de transport Cary-Blair avec conservateur. Les 211 échantillons restants ont été analysés sans qu'un conservateur soit ajouté. Les échantillons ont été prélevés auprès d'hommes (41 %) et de femmes (57 %). Dans 2 % des cas, le sexe du patient n'était pas connu. Les groupes d'âge des patients allaient de moins d'un mois à 97 ans. Aucune différence dans la performance du test n'a été observée concernant l'âge ou le sexe du patient. Les tableaux suivants montrent la performance du test par site clinique, âge du patient et type d'échantillon.

Tableau 1. Performance par site clinique

Site	Echantillons positifs			Echantillons négatifs		
	Premier/culture	% sensibilité	IC à 95 %	Premier/culture	% spécificité	IC à 95 %
Site 1	22/23	95,7%	79,0 – 99,2%	189/193	97,9%	94,8 – 99,2%
Site 2	0/0	s.o.	s.o.	51/51	100%	93,0 – 100%
Site 3	26/27	96,3%	81,7 – 99,3%	1429/1511	94,6%	93,3 – 95,6%
Site 4	11/11	100%	74,1 – 100%	255/257	99,2%	97,2 – 99,8%
Total des sites	59/61	96,7%	88,8 – 99,1%	1924/2012	95,6%	94,6 – 96,4%

Tableau 2. Performance par âge des patients

Patient Age	Echantillons positifs			Echantillons négatifs		
	Premier/culture	% sensibilité	IC à 95 %	Premier/culture	% spécificité	IC à 95 %
Naissance à 1 mois	0/0	s.o.	s.o.	12/13	92,3%	66,7 – 98,6%
>1 mois à 2 ans	3/3	100%	43,9 – 100%	338/348	97,1%	94,8 – 98,4%
>2 ans à 12 ans	5/5	100%	56,6 – 100%	374/388	96,4%	94,0 – 97,8%
>12 ans à 21 ans	2/2	100%	34,2 – 100%	139/145	95,9%	91,3 – 98,1%
>21 ans	32/34	94,1%	80,9 – 98,4%	1052/1109	94,9%	93,4 – 96,5%
Non défini	17/17	100%	81,6 – 100%	9/9	100%	70,1 – 100%

Tableau 3. Performance par type d'échantillon (avec conservateur par rapport à sans conservateur)

Type d'échantillon	Echantillons positifs			Echantillons négatifs		
	Premier/culture	% sensibilité	IC à 95 %	Premier/culture	% spécificité	IC à 95 %
Avec conservateur	42/43	97,7%	87,9 – 99,6%	1733/1819	95,3%	94,2 – 96,2%
Sans conservateur	17/18	94,4%	74,2 – 99,0%	191/193	99,0%	96,3 – 99,7%

Tableau 4. Performance des échantillons frais par rapport aux échantillons congelés

Type d'échantillon	Echantillons positifs			Echantillons négatifs		
	Premier/culture	% sensibilité	IC à 95 %	Premier/culture	% spécificité	IC à 95 %
Frais	17/18	94,4%	74,2 – 99,0%	1810/1889	95,8%	94,8 – 96,6%
Congelé	42/43	97,7%	87,9 – 99,6%	114/123	92,7%	86,7 – 96,1%

#### SENSIBILITE ANALYTIQUE

La sensibilité analytique de ce test pour le *C. jejuni* et le *C. coli* était basée sur 45 tests pour chaque mesurande avec une probabilité fixe (p. ex. 95 %) d'obtenir des réponses positives aux niveaux suivants de mesurande: *C. jejuni* 1,2 x 10<sup>6</sup> cellules/mL; *C. coli* 8 x 10<sup>6</sup> cellules/mL.

#### SPECIFICITE DU TEST

Les réserves de cultures de *Campylobacter* suivantes provenant de différentes sources ont été testées et ont donné des réactions positives à 1,1 x 10<sup>8</sup> UFC/mL avec le test Premier CAMPY: souches *C. coli* 10956, 17755, 36994 et 53138; souches *C. jejuni* 6951, 10940, 12081, 29411 et 38106.

#### REACTIONS CROISEES

Les études de réaction croisée ont été effectuées avec des échantillons de selles positifs et négatifs inoculés avec des organismes bactériens ou fongiques à une concentration finale de 1,1 x 10<sup>8</sup> UFC/mL ou virale allant de 1,3 x 10<sup>4</sup> à 3,1 x 10<sup>8</sup> DICT<sub>50</sub>/mL. Aucun des organismes suivants, présents dans les selles, n'a réagi avec le test Premier CAMPY:

*Aeromonas hydrophila*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, groupes de salmonelle B-E, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Adenovirus* de types 40 et 41, virus Coxsackie, échovirus, rotavirus.

#### TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES

Les substances suivantes, présentes dans les selles humaines aux concentrations indiquées, n'ont provoqué aucune interférence sur les résultats du test: sulfate de baryum (5 mg/mL), graisses fécales (équivalentes à 2,65 mg d'acide stéarique plus 1,3 mg d'acide palmitique par mL), hémoglobine (en tant que méthémoglobine) (3,2 mg/mL), Imodium AD® (0,00667 mg/mL), Kaopectate® (0,87 mg/mL), mucine (3,33 mg/mL), Mylanta® (4,2 mg/mL), Pepto-Bismol® (0,87 mg/mL), Prilosec® (0,5 mg/mL), Tagamet® (0,5 mg/mL), TUMS® (0,5 mg/mL), sang total (5 % v/v).

## ESPAÑOL

PREMIER®  
CAMPY

Un inmunoensayo enzimático para la detección de antígenos de *Campylobacter* en muestras de materia fecal

REF 618096

IVD Dispositivo médico para diagnóstico in vitro

#### USO INDICADO

El inmunoensayo enzimático (EIA) Premier CAMPY, es un procedimiento cualitativo in vitro, para la detección de antígenos específicos de *Campylobacter*, en muestras de materia fecal de pacientes con señas y síntomas de gastroenteritis. La prueba Premier CAMPY detecta *C. jejuni* y *C. coli* en muestras de materia fecal humana que puede ser fresca o conservadas en un medio de transporte con base de Cary-Blair. Los resultados de la prueba deben usarse simultáneamente con la información obtenida a partir de la evaluación clínica del paciente y de otros procedimientos diagnósticos.

Premier CAMPY no está indicado para uso en el punto de cuidado. Este dispositivo es para uso en laboratorios de hospitales, de referencia, privados o estatales.

#### RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

*Campylobacter* es una bacteria gram negativa y microaerofílica. Casi todas las campylobacteriosis en humanos son causadas por una de dos especies. Estas dos especies son *C. coli* y *C. jejuni*. Los Centros para el control de enfermedades de los estados unidos de Norteamérica (CDC) han informado que el 99 % de las enfermedades son causadas por *C. jejuni*, mientras que otros estudios han demostrado que a nivel mundial, más del 90 % de las infecciones por *Campylobacter* son por causa de *C. jejuni* y a este le sigue *C. coli* con un 5 a 10 %. La enfermedad que causa el género *Campylobacter* se conoce con el nombre de campylobacteriosis. La mayoría de gente que contrae campylobacteriosis tiene diarrea, cólicos, dolor abdominal y fiebre durante dos a cinco días después de haber sido expuestos al organismo. La diarrea puede ser sanguinolenta y acompañarse de náuseas y vómito. La enfermedad típicamente dura una semana. Algunas personas que se infectan con *Campylobacter* no manifiestan ningún síntoma. En las personas que están inmunocomprometidas, *Campylobacter* ocasionalmente se disemina hacia el torrente sanguíneo causando una infección grave que puede ser fatal.

*Campylobacter* es una de las causas más comunes de enfermedad diarreica en los Estados Unidos de Norteamérica. Casi todos los casos ocurren a manera de eventos esporádicos aislados y no a manera de brotes grandes. La vigilancia epidemiológica activa a través de FoodNet indica que anualmente se diagnostican aproximadamente 15 casos por cada 100.000 personas en la población.<sup>1,2</sup> Muchos más casos ocurren sin que sean diagnosticados o reportados, y se estima que la campylobacteriosis afecta a más de un millón de personas cada año; es decir, al 0,5 % de la población general. La campylobacteriosis ocurre con mucha más frecuencia en los meses de verano que en los de invierno. El organismo es aislado a partir de lactantes y adultos jóvenes con mucha más frecuencia que en otros grupos y en hombres más frecuentemente que en mujeres. A pesar de que el *Campylobacter* por lo general no causa la muerte, se ha estimado que aproximadamente 100 personas con infecciones por *Campylobacter* pueden morir cada año.<sup>2</sup>

#### PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

Premier CAMPY es una prueba de inmunoensayo enzimático para la detección directa de antígenos de *Campylobacter* en muestras de materia fecal de humanos. Los micropocillos desprendibles están recubiertos con anticuerpos monoclonales específicos para *Campylobacter*. La muestra del paciente ya diluida es añadida a los micropocillos e incubada. Al completarse la incubación, se realiza un paso de lavado para remover el material no ligado y se añade el conjugado de peroxidasa de rábano (HRP)-Anti-*Campylobacter* a los micropocillos lavados. Si hay antígenos de *Campylobacter* presentes se forma un complejo anticuerpo-enzima. Se realiza un segundo paso de lavado para remover los materiales no ligados y se añade un sustrato cromógeno a los micropocillos. En presencia de la enzima ligada se desarrolla un color azul. La Solución Premier Stop Solution I es añadida cambiando el color azul de la reacción inicial a amarillo. Los resultados de la prueba se interpretan visual o espectrofotométricamente.

#### REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.

- Premier CAMPY Micropocillos: Micropocillos recubiertos de anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos son específicos contra *C. jejuni* y *C. coli*.

- Premier CAMPY Conjugado enzimático:** Anticuerpos monoclonales conjugados con peroxidasa de rábano específicos contra *C. jejuni* y *C. coli*, en una solución proteica tamponada que contiene ProClin® 0,1 % y genticamina 0,03 % como agentes conservantes.
- Solución Tampón de Lavado (Premier 20X Wash Buffer III):** Solución tampón de lavado concentrada que contiene ProClin® 0,1 % y genticamina 0,3 % como agentes conservantes.
- Substrato (Premier Substrate I):** Solución tamponada que contiene peróxido de úrea y tetrametilbencidina a pH 5,0.
- Solución de Parada (Premier Stop Solution I):** Ácido fosfórico 1M.
- Premier CAMPY Diluyente de Muestra/Control Negativo:** Solución proteica tamponada que contiene ProClin® 0,1 % y genticamina 0,03% como agentes conservantes.
- Premier CAMPY Control Positivo:** *C. jejuni* inactivado en una solución proteica tamponada que contiene azida de sodio al 0,094 % y genticamina al 0,03 % como agentes conservantes.
- Pipetas de transferencia
- Soporte para tiras de micropocillos.
- Sellos para placas de micropocillos

#### MATERIALES NO PROPORCIONADOS

- Guantes de látex desechables
- Tubos de ensayo (por ejemplo de 10 x 75 mm ó de 12 x 75 mm) para diluir la muestra
- Agua destilada o desionizada
- Botella plástica para dispensar el enjuague
- Balón aforado para preparar la solución tampón de lavado 1X
- Papel absorbente
- Pajillos aplicadores de madera
- Recipiente para material de desecho con desinfectante y bolsas para material biológico nocivo que puedan esterilizarse en autoclave, o solamente éstas últimas.
- Agitador vortical (Vórtex)
- Cronómetro de intervalos.
- Espectrofotómetro para leer placas de microvaloración por EIA a una absorbancia de 450 nm o de 450/630 nm\* (opcional)
- Incubador/Agitador StatFAX™-2200 (StatFAX™ es una marca comercial de Awareness Technology, Inc.)\* (opcional)
- Lavadora semiautomática para placas de micropocillos\* (opcional)

\*Nota: la validación previa al uso de los equipos semi-automatizados para lavar placas de microvaloración StatFAX™ y de los lectores para las mismas es responsabilidad del operador.

#### PRECAUCIONES

- Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
- Las instrucciones deben leerse y seguirse cuidadosamente.
- No intercambie micropocillos, Conjugado enzimático, Substrato Premier I o reactivos de Control Positivo que provengan de distintos lotes. (El Diluyente de Muestras/Control Negativo, la Solución Tampón de lavado Premier 20X Wash Buffer III y la solución de parada Premier Stop Solution I son intercambiables siempre y cuando los reactivos sean usados con fecha de validez vigente, es decir, siempre y cuando no hayan caducado).
- No use componentes del kit que hayan caducado.
- No use los viales que no tienen etiqueta, número de lote o fecha de caducidad.
- No use ningún reactivo si éste está decolorado o turbio. La decoloración o turbidez pueden ser una señal de contaminación microbiana.
- Permita que los reactivos alcancen una temperatura entre 21 y 27 C antes de usarlos.
- Todos los reactivos deben mezclarse suavemente antes de usarse.
- Sostenga los viales de los reactivos verticalmente a una distancia apropiada sobre el micropocillo, para asegurar un tamaño y administración apropiados de la gota.
- Vuelva a taponar los viales con las tapas del color que les corresponden.
- No re-use los micropocillos.
- Los micropocillos sin usar deben volver a colocarse dentro de la bolsa re-sellable. Es importante proteger las tiras de la humedad.
- Las pipetas de transferencia proporcionadas con este equipo de pruebas ("kit") deben usarse para la preparación y transferencia de la muestra. Use una por cada muestra.
- Evite salpicar al dispensar la materia fecal diluida dentro de los micropocillos, colocando la punta de la pipeta de transferencia adentro, aproximadamente hasta la mitad del micropocillo, y dispensando lentamente hacia el lado del mismo.
- El lavado de los micropocillos debe realizarse con precisión del modo en que se describe en el procedimiento de la prueba. **Un lavado inadecuado puede ser la causa de que el color de fondo dé lecturas elevadas en cualquier protocolo de EIA.**
- Todos los reactivos excepto la solución tampón de lavado Premier 20X Wash Buffer III vienen diluidos a la concentración apropiada.
- Cualquier desviación (aumento o disminución) de los tiempos de incubación especificados puede afectar la sensibilidad y especificidad y por eso debe evitarse.
- La materia fecal debe mezclarse minuciosamente, independientemente de cuál sea su consistencia, para garantizar una muestra representativa antes de pipetear.

#### ADVERTENCIAS

- Las muestras de los pacientes pueden contener agentes infecciosos y deben manejarse y desecharse como si fueran material biológico potencialmente nocivo.
- Deseche el Tampón de Lavado y todos los materiales de la prueba en un recipiente apropiado para esto. Trate el material de desecho como si éste fuera potencialmente nocivo.
- El reactivo de Control Positivo contiene *C. jejuni* inactivado. Sin embargo, debe manejarse como si fuera material biológico nocivo.
- Evite el contacto de la piel con la solución de parada Premier Stop Solution I. Si ocurre contacto con la piel enjuague de inmediato con agua en abundancia.

#### DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

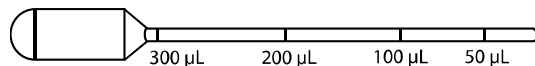
Se debe referir a los SDS, disponibles en [www.meridianbioscience.com](http://www.meridianbioscience.com) (US versión) / [www.meridianbioscience.eu](http://www.meridianbioscience.eu) (EU versión), para las Frases de Peligro y Precaución.

#### VIDA ÚTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad está indicada en la etiqueta de afuera del kit. Almacene el kit entre 2-8 C y póngalo de vuelta rápidamente en el refrigerador después de cada uso.

#### NOTAS DEL PROCEDIMIENTO

Abajo se muestra un diagrama de la pipeta de transferencia Premier CAMPY.



#### PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- Haga que todos los reactivos, incluso la bolsa con los micropocillos, alcancen una temperatura de 21–27 C antes de usarlos.
- Prepare la cantidad de Solución Tampón de lavado 1X que sea necesaria. Por ejemplo: 10,0 mL de Solución Tampón de Lavado (Premier 20X Wash Buffer III) + 190,0 mL de agua desionizada o destilada es suficiente para lavar una tira. La Solución Tampón de Lavado 1X Wash Buffer puede almacenarse a 2–27 C durante un máximo de un mes. Haga que ésta alcance una temperatura de 21–27 C antes de usarla.

#### RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

**Muestras de materia fecal humana sin conservar:** las muestras deben recibirse en un recipiente de transporte con cierre hermético y almacenarse a una temperatura de 2–8 C antes de analizarse. Las muestras deben analizarse tan pronto como sea posible, pero pueden guardarse hasta 96 horas a una temperatura de 2–8 C (Ver la sección PREPARACIÓN DE LA MUESTRA para instrucciones sobre cómo diluir las muestras). Las muestras que no van a analizarse en un plazo de 96 horas deben congelarse inmediatamente que se reciben y almacenarse a una temperatura ≤ –20 C hasta realizar la prueba. Las muestras pueden congelarse y descongelarse dos veces.

**Muestras de materia fecal humana conservadas en medio con base Cary-Blair:** las muestras deben almacenarse a 2–8 C antes de realizar la prueba. Las muestras deben analizarse tan pronto como sea posible pero pueden guardarse hasta 96 horas a una temperatura de 2–8 C (Ver la sección PREPARACIÓN DE LA MUESTRA para instrucciones sobre cómo diluir las muestras). Las muestras que no van a analizarse en un plazo de 96 horas deben congelarse inmediatamente que se reciben y almacenarse a una temperatura ≤ –20 C hasta realizar la prueba. Las muestras pueden congelarse y descongelarse dos veces.

#### PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Mezcle la materia fecal tan minuciosamente como sea posible antes de pipetearla.

- Muestras de materia fecal humana sin conservar:**
    - Con el gotero (o algo equivalente) añada 200 µL de Diluyente de Muestra/Control Negativo dentro de un tubo de ensayo pequeño.
  - Materias fecales sólidas:**
    - Use un aplicador de madera (o algo similar) para añadir una pequeña porción (3 a 4 mm de diámetro) de materia fecal muy bien mezclada al tubo de ensayo de Diluyente de Muestras/Control Negativo.
    - Emulsifique la materia fecal usando el pajillo aplicador de madera.
    - Mezcle la emulsión en un agitador vortical (vórtex) durante un mínimo de 15 segundos.
  - Materia fecal líquida o semi-líquida:**
    - Usando una pipeta de transferencia provista con el kit, añada 50 µL (hasta la primer marca desde la punta de la pipeta) de materia fecal muy bien mezclada al tubo de ensayo con Diluyente de Muestra / Control Negativo.
    - Agite la mezcla en un agitador vortical (vórtex) durante un mínimo de 15 segundos.
    - Deje la pipeta de transferencia dentro del tubo de ensayo para poder usarla más adelante.
- Muestras de materia fecal humana conservadas en medio con base Cary-Blair:**
    - Con el gotero (o algo equivalente) añada 200 µL de Diluyente de Muestra/Control Negativo dentro de un tubo de ensayo pequeño.
    - Usando una pipeta de transferencia provista con el kit, añada 200 µL (hasta la tercer marca desde la punta de la pipeta) de materia fecal muy bien mezclada al tubo de ensayo con Diluyente de Muestra/Control Negativo.
    - Agite la mezcla en un agitador vortical (vórtex) durante un mínimo de 15 segundos.
    - Deje la pipeta de transferencia dentro del tubo de ensayo para poder usarla más adelante.

#### PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Después de que la bolsa de micropocillos ha alcanzado la temperatura ideal (21–27 C), desprenda el número requerido de micropocillos; 1 por cada muestra, más 1 control positivo y 1 control negativo por cada corrida de la prueba. Coloque los micropocillos en el soporte para tiras de micropocillos y registre la posición de cada muestra. Los micropocillos que no van a usarse deben guardarse inmediatamente en la bolsa después de sellarla nuevamente.
- Usando la pipeta de transferencia de la muestra, añada 100 µL de muestra de materia fecal diluida (hasta la segunda marca desde la punta de la pipeta) dentro del micropocillo apropiado. Coloque la punta de la pipeta dentro del micropocillo hasta la mitad y deje que la muestra fluya lentamente por el lado del micropocillo.
- Libremente 2 gotas de Control Positivo a un micropocillo. Con una pipeta de transferencia, añada 100 µL (hasta la segunda marca desde la punta de la pipeta) de Diluyente para Muestras/Control Negativo dentro del micropocillo apropiado. Corte el sello para las placas del tamaño adecuado, y colóquelo con firmeza sobre los micropocillos con el objeto de sellarlos.
- Incuba la placa durante 1 hora a 21-27 C. De otro modo, los laboratorios que están equipados con un agitador / incubador (StatFAX™-2200) pueden incubar y rotar la placa durante 30 minutos a 24 C usando el ajuste 5 (1000 rpm).
- Cuidadosamente retire el sello de la placa y lave los pocillos:
  - Método manual:**
    - Invierta el contenido de los micropocillos dentro de un recipiente para desechar material biológico nocivo.
    - Dé vuelta al soporte y golpee con fuerza la placa invertida sobre varias toallas de papel absorbente.
    - Llene todos los micropocillos con Solución Tampón de Lavado 1X Wash Buffer dirigiendo el chorro de tampón hacia los lados de los micropocillos para evitar la formación de espuma.
    - Repita el ciclo de lavado (invertir el contenido, sacudir sobre toallas de papel y llenar) cuatro veces más para completar cinco ciclos de lavado. Después del último llenado, invierta y sacuda la placa sobre toallas absorbentes de papel nuevas, con la suficiente fuerza para remover tanto tampón de lavado en exceso como sea posible; pero no permita en ningún momento que los micropocillos se sequen por completo.
  - Método de lavado semiautomático:**
    - Invierta el contenido de los micropocillos dentro de un recipiente para desechar material biológico nocivo.
    - Invierta y golpee los micropocillos encima de varias toallas de papel. Luego ponga el plato vacío en el lavador semiautomático.
    - Llene los pocillos por completo (aproximadamente 300-350 µL/pocillo) con Solución Tampón de Lavado 1X Wash Buffer y luego aspire. El brazo de la lavadora para platos debe ajustarse de modo tal que no ocurra formación de espuma durante el llenado de los pocillos y que los pocillos sean aspirados por completo después de cada lavado.
    - Repita el paso iii 4 veces más. Después del último lavado los pocillos deben aspirarse concienzudamente para remover la mayor cantidad de humedad que sea posible, pero no debe permitir que los pocillos se sequen completamente en ningún momento.
- Añada dos gotas (aproximadamente 100 µL) de Conjugado Enzimático dejándolas caer libremente sobre cada pocillo. Mezcle con firmeza el contenido sacudiendo o con movimientos circulares sobre la mesa de trabajo durante 30 segundos.
- Corte el sello para las placas del tamaño adecuado, y colóquelo con firmeza sobre los micropocillos con el objeto de sellarlos. Incuba la placa durante 30 minutos a 21-27 C. De otro modo, los laboratorios que están equipados con un agitador / incubador (StatFAX™-2200) pueden incubar y rotar la placa durante 15 minutos a 24 C usando el ajuste 5 (1000 rpm).
- Retire cuidadosamente el sello de la placa y lave los pocillos como se describe en el paso 5.
- Añada dos gotas (aproximadamente 100 µL) de solución de substrato (Premier Substrate I) dejándolas caer libremente dentro de cada pocillo. Mezcle con firmeza el contenido sacudiendo suavemente o con movimientos circulares sobre la mesa de trabajo durante 30 segundos. Incuba la placa durante 10 minutos a 21–27 C.
- Añada dos gotas (aproximadamente 100 µL) de solución de parada (Premier Stop Solution I) dejándolas caer libremente dentro de cada pocillo. Mezcle con firmeza el contenido sacudiendo suavemente o con movimientos circulares sobre la mesa de trabajo durante 30 segundos. **Nota:** el color inicial de una reacción positiva es azul, el cual cambia a amarillo al añadir la solución de parada (Premier Stop Solution I).
- Limpie la parte inferior de los micropocillos con un papel tisú que no suelte pelusa.
- Observe y registre las reacciones. Los resultados de la prueba se pueden leer a simple vista o con un espectrofotómetro.
  - Lectura visual - Lea dentro de un plazo máximo de 15 minutos después de añadir la solución de parada (Premier Stop Solution I).
  - Determinación espectrofotométrica – Ponga el espectrofotómetro en blanco con un blanco de aire. Lea la absorbancia a 450 nm o a 450/630 nm dentro de un plazo de 15 minutos después de añadir la solución de parada Premier Stop Solution I.

#### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

##### Lectura visual

Negativo = de incoloro a amarillo muy pálido  
Positivo = Amarillo bien definido  
Un color amarillo muy pálido debe evaluarse usando un espectrofotómetro.

##### Longitud de onda única en el espectrofotómetro 450 nm

Negativo: < 0.150  
Positivo: ≥ 0.150  
Control Negativo: < 0.150  
Control Positivo: ≥ 0.600

### Longitud de onda dual en el espectrofotómetro 450/630 nm

Negativo: < 0.100  
Positivo: ≥ 0.100  
Control Negativo: < 0.100  
Control Positivo: ≥ 0.600

Si al leer un Control Negativo el resultado es < 0,000 vuelve a hacer un blanco en aire con el espectrofotómetro y lea de nuevo la placa.

Un resultado positivo indica la presencia de antígenos de *Campylobacter*. Un resultado negativo indica la ausencia de antígenos de *Campylobacter* o que el nivel de los antígenos está por debajo del límite de detección de la prueba. La magnitud de la DO por encima del punto de corte no se relaciona con la gravedad o la extensión de la infección por *Campylobacter* ni se puede correlacionar con un título final. Las muestras con resultados altamente positivos pueden generar ya sea un color amarillo intenso o un precipitado de color morado a los pocos minutos de haber parado la reacción. En este caso, el espectrofotómetro puede generar una lectura que está por fuera de los límites de detección. Esta lectura se considera positiva.

Si la frecuencia de resultados positivos bajos (DO entre 0,150 y 0,200 con longitud de onda única y entre 0,100 y 0,150 con longitud de onda dual) es mayor que 5 % de las muestras analizadas esto puede ser indicio de lavado insuficiente. Se recomienda un lavado más vigoroso o aumentar el número de lavados a siete en el paso 5 del procedimiento.

### CONTROL DE CALIDAD

**Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.**

- Los componentes de cada equipo de prueba (kit) deben examinarse a simple vista para determinar la presencia de señas obvias de contaminación, congelamiento o derrame cada vez que van a usarse. No use reactivos contaminados o que se sospeche que lo están.
- El funcionamiento de la prueba Premier CAMPY debe verificarse usando el Control Positivo y el Diluyente de Muestra/Control Negativo en cada corrida de la prueba. Ver la sección anterior de INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS donde se describen los resultados esperados para los reactivos de control. Las pruebas deben considerarse inválidas cuando cualquiera de los reactivos de control no produce los resultados esperados. En tales casos vuelva a analizar todas las muestras y los controles. Si después de repetir la prueba, todavía no se observan las reacciones esperadas con reactivos que aún poseen validez (no han caducado), llame al Servicio de Asistencia Técnica de Meridian al 800-343-3858 (E.U.A.) o a su distribuidor autorizado para solicitar ayuda.
- Los controles se usan para monitorizar la reactividad de los reactivos. Cuando los controles no generan los resultados esperados esto puede significar que uno o más de los reactivos ha perdido su reactividad en el momento de usarse, que la prueba no se realizó correctamente o que los reactivos o las muestras no fueron añadidos. Como primer paso para determinar el origen causal de la falla repita las pruebas de control. Si se repite la faya luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.
- En esta prueba no se ha observado interferencia con la matriz de la muestra puesto que antes de realizar la prueba las muestras están lo suficientemente diluidas en Diluyente de Muestra. Por este motivo, los controles Positivo y Negativo que se suministran como parte de esta prueba se preparan en matrices similares al Diluyente de Muestra. Si se prefieren materiales de control cuya composición sea idéntica a la de las muestras a ser analizadas, el usuario los puede preparar diluyendo muestras con un resultado positivo y negativo conocidos con Diluyente de Muestra de acuerdo con la descripción hecha en la sección de PREPARACIÓN DE LA MUESTRA de este prospecto. Añada 100 µL de controles preparados por el usuario a los pocillos correspondientes de prueba.

### VALORES ESPERADOS

El funcionamiento de la prueba Premier CAMPY fue evaluado en el 2008 en varias regiones geográficas de los E.U.A. La incidencia de pruebas positivas (tanto para *C. jejuni* como para *C. coli*) que se observó durante este período fue aproximadamente de 1,5 %. La frecuencia esperada para un laboratorio individual puede diferir de este valor puesto que ésta depende de varios factores tales como el lugar, la época del año y de si ha o no ocurrido un brote.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- La prueba es cualitativa y no debe hacerse ninguna interpretación cuantitativa con respecto a los valores.
- La prueba Premier CAMPY no puede usarse como el único medio para hacer una determinación de campylobacteriosis. Los resultados de la prueba deben usarse en conjunto con la información disponible a partir de la evaluación clínica del paciente y de otros procedimientos diagnósticos.
- La incubación de la prueba por más tiempo del requerido puede causar un aumento en el número de resultados positivos falsos. De otro modo, la incubación por períodos de tiempo menores que aquellos descritos en este prospecto puede causar un aumento en el número de resultados negativos falsos. Siga los períodos de incubación que se describen en este prospecto.
- Sospeche una falla en el método de lavado o en el dispositivo si el Control Negativo y el Control Positivo o solamente uno de estos continuamente produce resultados que están por fuera de los valores especificados. Aumentar el número de lavados, lavar más vigorosamente, decantar más concienzudamente o recalibrar los dispositivos usados en el lavado debería corregir el problema. Si el problema persiste, entre en contacto con el Servicio de Asistencia Técnica de Meridian marcando 800-343-3858 (E.U.A.) o con su distribuidor autorizado de Meridian.

### CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO:

La prueba Premier CAMPY fue evaluada en el 2008 en cuatro lugares de prueba independientes entre sí, localizados en las regiones Occidental, Occidente Medio y Sureste de los Estados Unidos de Norteamérica. Se evaluaron un total de 2073 muestras de pacientes calificados; de estas 166 fueron muestras congeladas retrospectivas. La mayoría (1862 / 2073) fueron recolectadas en medio de transporte y conservación con base de Cary-Blair. Las 211 muestras restantes fueron analizadas en estado no conservado. Se recolectaron muestras de hombres (41 %) y de mujeres (57 %). En un 2 % de pacientes se desconoció el sexo. Los grupos etarios de los pacientes variaron desde menos de un mes hasta 97 años de edad. No se observaron diferencias en el funcionamiento de la prueba con base al sexo o a la edad del paciente. Los cuadros siguientes muestran el funcionamiento de la prueba por lugar clínico, edad del paciente y tipo de muestra.

Cuadro 1. Características de funcionamiento por lugar clínico

Lugar	Muestras Positivas			Muestras Negativas		
	Premier/ Cultivo	Sensibilidad %	IC 95%	Premier/ Cultivo	Especificidad %	IC 95%
Lugar 1	22/23	95,7%	79,0 – 99,2%	189/193	97,9%	94,8 – 99,2%
Lugar 2	0/0	N/A	N/A	51/51	100%	93,0 – 100%
Lugar 3	26/27	96,3%	81,7 – 99,3%	1429/1511	94,6%	93,3 – 95,6%
Lugar 4	11/11	100%	74,1 – 100%	255/257	99,2%	97,2 – 99,8%
Total de Lugares	59/61	96,7%	88,8 – 99,1%	1924/2012	95,6%	94,6 – 96,4%

Cuadro 2. Características de funcionamiento por edad del paciente

Edad del paciente	Muestras Positivas			Muestras Negativas		
	Premier/ Cultivo	Sensibilidad %	IC 95%	Premier/ Cultivo	Especificidad %	IC 95%
Nacimiento a 1 mes	0/0	N/A	N/A	12/13	92,3%	66,7 – 98,6%
> 1 mes a 2 años	3/3	100%	43,9 – 100%	338/348	97,1%	94,8 – 98,4%
> 2 años a 12 años	5/5	100%	56,6 – 100%	374/388	96,4%	94,0 – 97,8%
> 12 años a 21 años	2/2	100%	34,2 – 100%	139/145	95,9%	91,3 – 98,1%
> 21 años	32/34	94,1%	80,9 – 98,4%	1052/1109	94,9%	93,4 – 96,5%
No definida	17/17	100%	81,6 – 100%	9/9	100%	70,1 – 100%

Cuadro 3. Características de funcionamiento por tipo de muestra (conservada vs. no conservada)

Tipo de muestra	Muestras positivas			Muestras negativas		
	Premier/ Cultivo	Sensibilidad %	IC 95%	Premier/ Cultivo	Especificidad %	IC 95%
Conservada	42/43	97,7%	87,9 – 99,6%	1733/1819	95,3%	94,2 – 96,2%
No conservada	17/18	94,4%	74,2 – 99,0%	191/193	99,0%	96,3 – 99,7%

Cuadro 4. Características de funcionamiento de muestras frescas vs. muestras congeladas

Fresca/ congelada	Muestras positivas			Muestras negativas		
	Premier/ Cultivo	Sensibilidad d %	IC 95%	Premier/ Cultivo	Especificidad d %	IC 95%
Fresca	17/18	94,4%	74,2 – 99,0%	1810/1889	95,8%	94,8 – 96,6%
Congelada	42/43	97,7%	87,9 – 99,6%	114/123	92,7%	86,7 – 96,1%

### SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica de esta prueba para *C. jejuni* y *C. coli* se basó en 45 pruebas para cada mensurando y con una probabilidad establecida (p. Ej. 95 %) de obtener respuestas positivas a los siguientes niveles de los mensurandos: *C. jejuni* 1,2 x 10<sup>6</sup> células/mL; *C. coli* 8,0 x 10<sup>6</sup> células/mL.

### ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA

Los siguientes cultivos de reserva obtenidos de diferentes fuentes fueron analizados y produjeron reacciones positivas a una concentración de 1,1 x 10<sup>8</sup> UFC/mL con la prueba Premier CAMPY: *C. coli* cepas 10956, 17755, 36994 y 53138 y *C. jejuni* cepas 6951, 10940, 12081, 29411 y 38106.

### REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizaron estudios de reactividad cruzada con muestras positivas y negativas de materia fecal inoculada con organismos bacterianos o con hongos a una concentración final de 1,1 x 10<sup>8</sup> UFC/mL o con virus a un rango de concentración desde 1,3 x 10<sup>4</sup> hasta 3,1 x 10<sup>8</sup> TCID<sub>50</sub>/mL. Ninguno de los siguientes organismos presentes en la materia fecal reaccionó con la prueba Premier CAMPY:

*Aeromonas hydrophila*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia tergestonii*, *Escherichia hermanningii*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella* Groups B-E, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, Adenovirus Tipos 40 y 41, Coxsackievirus, Echovirus y Rotavirus.

### PRUEBAS PARA SUBSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias, a las concentraciones especificadas de solvente/diluyente saturado no interfirieron con los resultados de la prueba a las concentraciones finales anotadas: Sulfato de bario (5 mg/mL), grasa fecal (equivalente a 2,65 mg de ácido esteárico más 1,3 mg de ácido palmítico por mL), hemoglobina como metahemoglobina (3,2 mg/mL), Imodium AD® (0,00667 mg/mL), Kaopectate® (0,87 mg/mL), mucina (3,33 mg/mL), Mylanta® (4,2 mg/mL), Pepto-Bismol® (0,87 mg/mL), Prilosec® (0,5 mg/mL), Tagamet® (0,5 mg/mL), TUMS® (0,5 mg/mL) y sangre total (5% v/v).

## DEUTSCH

# PREMIER® CAMPY

### Enzym-Immunoassay zum Nachweis von *Campylobacter*-Antigenen in Stuhlproben

REF 618096

IVD In-vitro-Diagnostikum

### VERWENDUNGSZWECK

Der Enzym-Immunoassay (EIA) Premier CAMPY ist ein qualitatives *In-vitro*-Verfahren zum Nachweis spezifischer *Campylobacter*-Antigene in Stuhlproben von Patienten mit Anzeichen und Symptomen einer Gastroenteritis. Premier CAMPY weist *C. jejuni* und *C. coli* in Human-Stuhl nach. Der Stuhl kann ohne Konservierungsmittel oder in Cary-Blair-Transportmedien konserviert vorliegen. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit den verfügbaren Daten aus der klinischen Untersuchung des Patienten und anderen Diagnostikverfahren heranzuziehen.

Premier CAMPY ist nicht für den Einsatz unmittelbar am Behandlungsort vorgesehen. Das Produkt ist für den Einsatz in Krankenhausbüros, Referenzlabors, Privatlabors oder staatlichen Labors vorgesehen.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

*Campylobacter* ist ein gramnegatives, mikroaerophiles Bakterium. *Campylobacteriose* beim Menschen wird fast immer durch eine oder zwei Spezies verursacht, und zwar durch *C. coli* und *C. jejuni*. Berichten der US-amerikanischen Gesundheitsbehörde „Centers for Disease Control“ zufolge werden 99 % aller *Campylobacteriose*-Erkrankungen durch *C. jejuni* verursacht, während andere Studien erwiesen haben, dass weltweit über 90 % der *Campylobacter*-Infektionen durch *C. jejuni* verursacht werden, gefolgt von *C. coli* mit 5–10 %.<sup>2</sup> Als *Campylobacteriose* wird die von der Gattung *Campylobacter* hervorgerufene Erkrankung bezeichnet. Bei den meisten an *Campylobacteriose* erkrankten Personen kommt es innerhalb von zwei bis fünf Tagen nach Kontakt mit dem Organismus zu Durchfällen, Krämpfen, Leibschmerzen und Fieber. Der Durchfall kann blutig sein und mit Übelkeit und Erbrechen einhergehen. Die Dauer der Erkrankung beträgt in der Regel eine Woche. Manche mit *Campylobacter* infizierten Personen weisen keinerlei Symptome auf. Gelegentlich kann es bei Personen mit geschwächtem Immunsystem zur Ausbreitung der *Campylobacter*-Erreger in den Blutkreislauf und damit zu einer ernsthaften und lebensgefährlichen Infektion kommen.

*Campylobacter* ist einer der häufigsten bakteriellen Erreger von Durchfallkrankheiten in den USA. Nahezu alle Fälle treten als isolierte, sporadische Vorfälle auf und nicht im Rahmen großer Epidemien. Laut der aktiven Überwachung durch das US-amerikanische Lebensmittelqualitätsprogramm „FoodNet“ gibt es in der Allgemeinbevölkerung jährlich ca. 15 diagnostizierte Fälle pro 100.000 Personen.<sup>1,2</sup> Zahlreiche weitere Fälle werden nicht diagnostiziert oder nicht gemeldet, und es wird angenommen, dass jährlich mehr als eine Million Menschen von *Campylobacteriose* betroffen sind (d. h. 0,5 % der Allgemeinbevölkerung). *Campylobacteriose* tritt wesentlich häufiger in den Sommermonaten auf als im Winter. Bei Kleinkindern und jungen Erwachsenen wird der Organismus häufiger isoliert als bei anderen Altersgruppen. Er wird auch häufiger bei männlichen Personen als bei weiblichen Personen isoliert. Obwohl *Campylobacter* gewöhnlich nicht zum Tod führt, sterben jährlich schätzungsweise etwa 100 Personen an *Campylobacter*-Infektionen.<sup>2</sup>



## BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Premier CAMPY ist ein Enzym-Immunoassay zum direkten Nachweis von *Campylobacter*-Antigenen in Human-Stuhlproben. Die Mikrovertiefungen sind mit monoklonalen Antikörpern beschichtet. Die Antikörper sind spezifisch für *Campylobacter*. In abbrechbare Mikrovertiefungen, wird verdünnte Patientenprobe gegeben und inkubiert. Nach dem Abschluss der Inkubation wird ein Waschschritt durchgeführt, um ungebundenes Material zu entfernen, und in die gespülten Mikrovertiefungen wird ein Konjugat aus Meerrettichperoxidase (HRP) und *Campylobacter*-Antikörpern gegeben. Bei Vorliegen von *Campylobacter*-Antigenen bildet sich ein Antikörper-Enzymkomplex. Es wird ein zweiter Waschschritt durchgeführt, um ungebundene Substanzen zu entfernen, und es wird ein Chromagensubstrat in die Mikrovertiefungen gegeben. Bei Vorliegen von gebundenem Enzym bildet sich eine blaue Färbung aus. Nach Zugabe von Premier-StoppLösung I schlägt die Färbung zu Gelb um. Die Auswertung der Testergebnisse erfolgt visuell oder spektralphotometrisch.

## REAGENZIENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

- Premier CAMPY-Mikrovertiefungen:** Mikrovertiefungen, beschichtet mit monoklonalem Antikörper. Die Antikörper sind spezifisch für *C. jejuni* und *C. coli*.
- Premier CAMPY-Enzymkonjugat:** Konjugat aus HRP und monoklonalen spezifischen Antikörpern gegen *C. jejuni* und *C. coli* in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,1 % ProClin® und 0,03 % Gentamicin als Konservierungsmittel.
- Premier-Waschpuffer III (20fach konzentriert) (Premier 20X Wash Buffer III):** Konzentrierter Waschpuffer mit 0,1 % ProClin® und 0,3 % Gentamicin als Konservierungsmittel.
- Premier-Substrat I (Premier Substrate I):** Gepufferte Lösung mit Harnstoffperoxid und Tetramethylbenzidin (pH-Wert 5,0).
- Premier-StoppLösung I (Premier Stop Solution I):** 1 M Phosphorsäure.
- Premier CAMPY-Probindiluent/Negativkontrolle:** Gepufferte Proteinlösung mit 0,1 % ProClin® und 0,03 % Gentamicin als Konservierungsmittel.
- Premier CAMPY-Positivkontrolle:** Inaktivierte *C. jejuni*-Bakterien in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,094 % Natriumazid und 0,03 % Gentamicin als Konservierungsmitteln.
- Transferpipetten
- Mikrovertiefungsstreifenhalter
- Mikrovertiefungsplattendichtungen

## BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

- Einmal-Handschuhe aus Latex
- Teströhrchen (bspw. 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm) für die Probenverdünnung
- destilliertes oder entionisiertes Wasser
- Spritzflasche
- Messzylinder für die Herstellung von 1fach konzentriertem Waschpuffer
- saugfähiges Papier
- Holzspatel
- Abfallbehälter mit Desinfektionsmittel und/oder autoklavierbare Biomüllbeutel
- Vortexmischer
- Intervallzeitgeber
- EIA-Mikrovertiefungsmessgerät mit Messkapazität für Extinktionen bei 450 bzw. 450/630 nm\* (optional)
- Inkubator/Rüttler StatFax™-2200 (StatFax™ ist eine Marke von Awareness Technology, Inc.)\* (optional)
- halbautomatisches Mikrotiterplattenwaschgerät\* (optional)

\* Hinweis: Der Benutzer ist dafür verantwortlich, das StatFax™-Gerät sowie die halbautomatischen Plattenwasch- und Messgeräte vor ihrem Einsatz mit diesem Produkt zu validieren.

## VORSICHTSMASSNAHMEN

- Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
- Die Anweisungen sind zu lesen und strikt zu befolgen.
- Mikrovertiefungen, Enzymkonjugat, Premier-Substrat I oder Positivkontrollen verschiedener Chargen nicht gemeinsam verwenden. (Probindiluent/Negativkontrolle, Premier-Waschpuffer III [20fach konzentriert] und Premier-StoppLösung I) können aus verschiedenen Chargen stammen, vorausgesetzt ihre Verfallsdaten sind zum Gebrauchszeitpunkt noch nicht abgelaufen.)
- Kitkomponenten nicht über das auf dem Etikett angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
- Keine Flaschen ohne Etikett, Chargennummer oder Verfallsdatum verwenden.
- Reagenzien bei Verfärbung oder Trübheit nicht verwenden. Verfärbung oder Trübheit können Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination sein.
- Reagenzien vor Gebrauch auf 21–27 °C aufwärmen lassen.
- Alle Reagenzien vor Gebrauch behutsam mischen.
- Die Reagenzienfläschchen in angemessenem Abstand und senkrecht über die Vertiefung halten, um eine einheitliche Tropfengröße und Einbringung zu gewährleisten.
- Die farbigen Verschlüsse wieder auf den richtigen Fläschchen anbringen.
- Die Mikrovertiefungen nicht wieder verwenden.
- Nicht gebrauchte Mikrovertiefungen müssen wieder im verschließbaren Beutel verwahrt werden. Es ist wichtig, dass die Streifen vor Feuchtigkeit geschützt sind.
- Für Probenvorbereitung und -transfer müssen die im Lieferumfang enthaltenen Transferpipetten verwendet werden (je eine pro Probe verwenden).
- Um beim Einbringen des verdünnten Stuhls in die Mikrovertiefungen Spritzer zu vermeiden, die Spitze der Transferpipette zur Hälfte in die Vertiefung tauchen und die Probe langsam an der Seite der Vertiefung herunterlaufen lassen.
- Den Mikrovertiefungswaschgang exakt gemäß den Anweisungen für das Assayverfahren durchführen. **Ein unzureichendes Waschen kann bei jedem EIA-Protokoll zu erhöhten Hintergrundwerten führen.**
- Alle Reagenzien werden bereits auf die korrekte Konzentration verdünnt geliefert (mit Ausnahme des 20fach konzentrierten Premier-Waschpuffers III).
- Alle Abweichungen (nach oben oder unten) von den festgelegten Inkubationsdauern können sich auf die Empfindlichkeit und die Spezifität auswirken und sind zu vermeiden.
- Der Stuhl ist ungeachtet seiner Konsistenz vor dem Pipettieren gut zu mischen, um eine repräsentative Probe zu gewährleisten.

## WARNHINWEISE

- Patientenproben können Krankheitserreger enthalten und sind daher als potenziell biogefährliche Substanzen zu handhaben und zu entsorgen.
- Gebrauchten Waschpuffer und alle Testmaterialien in einem geeigneten Behälter entsorgen. Abfälle sind als potenziell biogefährliche Substanzen zu erachten.
- Die Positivkontrolle enthält inaktivierte *C. jejuni*-Bakterien. Sie sollte aber dennoch als potenziell biogefährlich gehandhabt werden.
- Hautkontakt mit Premier-StoppLösung I vermeiden. Bei Kontakt unverzüglich mit Wasser abspülen.

## GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

Für weitere Informationen zu den Gefahren- und Sicherheitshinweisen, beziehen Sie sich auf die SDS, die unter folgendem Link verfügbar sind: [www.meridianbioscience.com](http://www.meridianbioscience.com) (US version) / [www.meridianbioscience.eu](http://www.meridianbioscience.eu) (EU version).

## HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Kit-Verfallsdatum ist auf dem Kit-Etikett angegeben. Den Kit bei 2–8 °C lagern und nach jedem Gebrauch unverzüglich wieder in den Kühlschrank stellen.

## HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die Premier CAMPY-Transferpipette ist im Folgenden abgebildet.



## VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Den gesamten Kit, einschließlich des Beutels mit den Mikrovertiefungen, vor Gebrauch auf 21–27 °C temperieren.
- Den 1fach konzentrierten Waschpuffer nach Bedarf herstellen. Beispielsweise: 10,0 mL des 20fach konzentrierten Premier-Waschpuffers III + 190,0 mL destilliertes oder entionisiertes Wasser sind ausreichend zum Waschen eines Streifens. Der 1fach konzentrierte Waschpuffer kann bei 2–27 °C bis zu einem Monat lang gelagert werden. Vor Gebrauch auf 21–27 °C temperieren.

## PROBENNAHME UND-VORBEREITUNG

**Human-Stuhlproben, ohne Konservierungsmittel:** Die Proben müssen in luftdicht verschlossenen Transportbehältern eingehen und bis zum Test bei 2–8 °C gelagert werden. Die Proben sind so bald wie möglich zu testen, können jedoch bei 2–8 °C bis zu 96 Stunden aufbewahrt werden. (Siehe Anweisungen zum Verdünnen von Proben im Abschnitt PROBENVORBEREITUNG.) Proben, die voraussichtlich nicht innerhalb von 96 Stunden getestet werden, sind unmittelbar nach Eingang einzufrieren und bis zum Test bei ≤ –20 °C zu lagern. Die Proben können zweimal eingefroren und aufgetaut werden.

**Human-Stuhlproben, in Cary-Blair-Medien konserviert:** Die Proben sind bis zum Test bei 2–8 °C zu lagern. Die Proben sind so bald wie möglich zu testen, können jedoch bei 2–8 °C bis zu 96 Stunden aufbewahrt werden. (Siehe Anweisungen zum Verdünnen von Proben im Abschnitt PROBENVORBEREITUNG.) Proben, die voraussichtlich nicht innerhalb von 96 Stunden getestet werden, sind unmittelbar nach Eingang einzufrieren und bis zum Test bei ≤ –20 °C zu lagern. Die Proben können zweimal eingefroren und aufgetaut werden.

## PROBENVORBEREITUNG

Den Stuhl vor der Pipettierung möglichst gründlich mischen.

- Human-Stuhlproben, ohne Konservierungsmittel:**
  - Mit Hilfe der Tropfereinheit (oder eines vergleichbaren Produkts) 200 µL Probindiluent/Negativkontrolle in ein kleines Teströhrchen geben.
  - Geformte/feste Stuhlproben:**
    - Mit Hilfe eines Holzspatels (oder eines vergleichbaren Produkts) eine kleine Menge (ca. 3–4 mm Durchmesser) gründlich gemischten Stuhls in das Röhrchen mit Probindiluent/Negativkontrolle transferieren.
    - Den Stuhl mit Hilfe des Holzspatels emulgieren.
    - Die Emulsion mindestens 15 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen.
  - Flüssige/halbfeste Stuhlproben:**
    - Mit Hilfe einer der im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten 50 µL (erste Markierung ab der Pipettenspitze) gut durchgemischten Stuhls in das Röhrchen mit Probindiluent/Negativkontrolle geben.
    - Das Gemisch mindestens 15 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen.
    - Die Transferpipette zur späteren Verwendung im Teströhrchen aufbewahren.
- Human-Stuhlproben, in Cary-Blair-Medien konserviert:**
  - Mit Hilfe der Tropfereinheit (oder eines vergleichbaren Produkts) 200 µL Probindiluent/Negativkontrolle in ein kleines Teströhrchen geben.
  - Mit Hilfe einer der im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten 200 µL (dritte Markierung ab der Pipettenspitze) gut durchgemischten Stuhls in das Teströhrchen mit Probindiluent/Negativkontrolle geben.
  - Das Gemisch mindestens 15 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen.
  - Die Transferpipette zur späteren Verwendung im Teströhrchen aufbewahren.

## TESTDURCHFÜHRUNG

- Nachdem der Beutel eine Temperatur zwischen 21 und 27 °C erreicht hat, die benötigte Anzahl Mikrovertiefungen abbrechen (je 1 Vertiefung pro Probe, plus 1 Positiv- und 1 Negativkontrolle-Vertiefung pro Ansatz). Die Mikrovertiefungen in den Mikrovertiefungsstreifenhalter geben und die Position der einzelnen Vertiefungen notieren. Nicht benötigte Mikrovertiefungen sofort wieder im Beutel verschließen.
- Mit Hilfe der Probentransferpipette 100 µL verdünnten Stuhls (zweite Markierung ab der Pipettenspitze) in die entsprechende Vertiefung geben. (Die Pipettenspitze zur Hälfte in die Vertiefung tauchen und die Probe langsam an der Seite der Vertiefung herunterlaufen lassen.)
- Zwei frei fallende Tropfen Positivkontrolle in die entsprechende Vertiefung geben. Mit Hilfe einer Transferpipette, 100 µL (zweite Markierung ab der Pipettenspitze) Probindiluent/Negativkontrolle in die entsprechende Vertiefungen geben. Die Plattendichtung zurechtschneiden und zum Abdichten fest auf die Oberseite der Mikrovertiefungen drücken.
- Die Platte 1 Stunde lang bei 21–27 °C inkubieren. Labors, die über einen Rüttler/Inkubator (StatFax™-2200) verfügen, können die Platte auch 30 Minuten lang bei 24 °C und Einstellung 5 (1000 U/min) inkubieren und drehen.
- Die Plattendichtung behutsam entfernen und die Vertiefungen auswaschen:
  - Manuelle Methode:**
    - Den Platteninhalt resolut in einen Biomüll-Behälter ausleeren.
    - Die umgedrehte Platte auf einen Stapel sauberer Papiertücher aufschlagen.
    - Alle Vertiefungen mit 1fach konzentriertem Waschpuffer füllen; dabei den Pufferstrahl auf die Vertiefungsseiten richten, um Schaumbildung zu vermeiden.
    - Den Waschzyklus (Ausleeren, Aufschlagen auf frischen Tüchern, Füllen) noch 4 Mal wiederholen (so dass insgesamt 5 Waschzyklen durchgeführt werden). Die Platte nach der letzten Füllung ausleeren und so fest auf frischen Tüchern aufschlagen, dass möglichst viel überschüssiger Waschpuffer entfernt wird, die Vertiefungen jedoch niemals vollständig trocken werden lassen.
  - Halbautomatisierte Waschmethode:**
    - Den Platteninhalt resolut in einen Biomüll-Behälter ausleeren.
    - Die umgedrehte Platte auf einem Stapel sauberer Papiertücher ausklopfen. Die leeren Mikrovertiefungen in das Waschgerät einsetzen.
    - Die Vertiefungen bis zum oberen Rand mit 1fach konzentriertem Waschpuffer füllen (ca. 300–350 µL/Vertiefung) und anschließend aspirieren. Der Waschgeräteverteiler ist so einzustellen, dass es während des Füllens der Vertiefungen nicht zu Schaumbildung kommt und dass die Vertiefungen nach jedem Waschgang gründlich aspiriert werden.
    - Schritt iii noch 4mal wiederholen. Nach dem letzten Waschgang sind die Testvertiefungen gründlich zu aspirieren, um so viel Feuchtigkeit wie möglich zu entfernen. Die Vertiefungen jedoch nie ganz austrocknen lassen.
- Zwei frei fallende Tropfen (ca. 100 µL) Enzymkonjugat in jede Vertiefung geben. Die Platte 30 Sekunden lang kräftig schütteln/schwenken.
- Die Plattendichtung zurechtschneiden und zum Abdichten fest auf die Oberseite der Mikrovertiefungen drücken. Die Platte 30 Minuten lang bei 21–27 °C inkubieren. Labors, die über einen Rüttler/Inkubator (StatFax™-2200) verfügen, können die Platte auch 15 Minuten lang bei 24 °C und Einstellung 5 (1000 U/min) inkubieren und drehen.
- Die Plattendichtung behutsam entfernen und die Vertiefungen auswaschen, wie in Schritt 5 beschrieben.
- Zwei frei fallende Tropfen (ca. 100 µL) Premier-Substrat-Lösung I in jede Vertiefung geben. Die Platte 30 Sekunden lang kräftig schütteln/schwenken. Die Platte 10 Minuten lang bei 21–27 °C inkubieren.
- Zwei frei fallende Tropfen (ca. 100 µL) Premier-StoppLösung I in jede Vertiefung geben. Die Platte 30 Sekunden lang kräftig schütteln/schwenken. **Hinweis:** Bei einer positiven Reaktion zeigt sich zunächst eine blaue Färbung, die nach Zugabe der Premier-StoppLösung I ins Gelbe umschlägt.
- Die Unterseite aller Vertiefungen mit einem fusselfreien Tuch reinigen.
- Die Reaktionen überprüfen und notieren. Die Testergebnisse können visuell oder mit Hilfe eines Spektralphotometermessgeräts erfasst werden.
  - Visuelle Auswertung – innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Premier-StoppLösung I ablesen.
  - Spektralphotometrische Auswertung – das EIA-Messgerät an der Luft kalibrieren. Die Extinktion bei 450 nm bzw. 450/630 nm innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Premier-StoppLösung I bestimmen.

## AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

### Visuelle Auswertung

Negativ = farblos bis sehr schwach gelb

Positiv = unverkennbare Gelbfärbung

Eine sehr schwache Gelbfärbung muss mittels einer spektralphotometrischen Messung beurteilt werden.

### Spektralphotometrische Auswertung, eine Wellenlänge (450 nm)

Negativ: < 0,150

Positiv: ≥ 0,150

Negativkontrolle: < 0,150

Positivkontrolle: ≥ 0,600

### Spektralphotometrische Auswertung, doppelte Wellenlänge (450/630 nm)

Negativ: < 0,100  
 Positiv: ≥ 0,100  
 Negativkontrolle: < 0,100  
 Positivkontrolle: ≥ 0,600

Beträgt einer der Werte der Negativkontrolle < 0,000, das Plattenmessgerät erneut an der Luft kalibrieren und die Platte erneut ablesen.

Ein positives Ergebnis deutet auf das Vorliegen von *Campylobacter*-Antigenen hin. Ein negatives Ergebnis deutet auf die Abwesenheit von *Campylobacter*-Antigenen hin, oder darauf, dass die Antigenkonzentration unterhalb des vom Assay nachweisbaren Werts liegt. Die Größenordnung oberhalb des OD-Schwellenwerts ist weder aussagekräftig für den Schweregrad oder das Ausmaß der *Campylobacter*-Infektion noch mit einem Endpunkttiter korrelierbar. Extrem stark positive Proben können innerhalb einiger Minuten nach dem Stoppen der Reaktion eine intensive Gelbfärbung aufweisen oder eine violette Ausfällung. In einem solchen Fall kann das Spektralphotometer einen „Außerhalb“-Messwert liefern. Ein solcher Messwert ist als positives Ergebnis zu erachten.

Entspricht die Frequenz schwach positiver Ergebnisse (OD zwischen 0,150 und 0,200 bei einer Wellenlänge und zwischen 0,100 und 0,150 bei zwei Wellenlängen) mehr als 5 % der getesteten Proben, kann dies auf einen unzulänglichen Waschgang hindeuten. Es empfiehlt sich, einen kräftigeren Waschgang durchzuführen oder die Waschzykluszahl auf sieben zu erhöhen. (Verfahrensschritt 5)

### QUALITÄTSKONTROLLE

Den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. Zulassungsbehördlichen Auflagen durchführen.

- Die Kitkomponenten vor jedem Gebrauch auf offensichtliche Anzeichen von Mikrobenkontamination, Gefrieren oder Flüssigkeitsaustritt sichtprüfen. Kontaminierte oder fragwürdige Reagenzien nicht verwenden.
- Die Premier CAMPY-Leistung sollte bei jedem Testansatz unter Verwendung der Positivkontrolle und Probendiluent/Negativkontrolle überprüft werden. Angaben zu den zu erwartenden Ergebnissen für Kontrollreagenzien bietet der vorhergehende Abschnitt ERGEBNISINTERPRETATION. Die Tests sind als ungenügend zu erachten, wenn eines der Kontrollreagenzien nicht die erwarteten Ergebnisse erbringt. In derartigen Fällen sind die Tests und Kontrollen erneut zu analysieren. Lassen sich auch bei wiederholten Tests mit Reagenzien, deren Verfallsdaten noch nicht abgelaufen sind, die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, bitte unter der Rufnummer 800-343-3858 (gebührenfrei innerhalb der USA) von Meridians Technical Support Services bzw. dem zuständigen Meridian-Vertriebshändler Unterstützung anfordern.
- Die Kontrollen dienen zur Überwachung der Reagenzienreaktivität. Erbringen die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse, kann dies bedeuten, dass mindestens eines der Reagenzien zum Zeitpunkt seiner Verwendung nicht mehr reaktionsfähig war, dass der Test nicht ordnungsgemäß durchgeführt wurde, oder dass Reagenzien oder Proben nicht hinzugegeben wurden. **Zur Ermittlung der Ursache des Versagens als Erstes die Kontrolltests wiederholen.**
- Bei diesem Assay wurden keine Probenmatrixstörungen beobachtet, da die Proben vor dem Testen stark mit Probendiluent verdünnt werden. Aus diesem Grund werden die als Assay-Bestandteile mitgelieferten Positiv- und Negativkontrollen in Matrices zubereitet, die dem Probendiluent gleichen. Falls die Zusammensetzung der Kontrollmaterialien mit der der Testproben identisch sein soll, kann der Anwender dies durch Verdünnen bekanntermaßen positiver und negativer Proben mit Probendiluent gemäß dem Abschnitt PROBENVORBEREITUNG dieser Packungsbeilage erreichen. In die Testvertiefungen 100 µL der vom Benutzer zubereiteten Kontrollen geben.

### ERWARTETE WERTE

Die Premier CAMPY-Leistung wurde im Verlauf des Jahres 2008 in mehreren geografischen Regionen der USA untersucht. Die Inzidenz positiver Proben (entweder *C. jejuni* oder *C. coli*) während dieses Zeitraums betrug ca. 1,5 %. Die in einem bestimmten Labor zu erwartende Häufigkeit kann von diesem Wert abweichen, da sie von Faktoren wie Ort, Jahreszeit und Epidemieausbrüchen abhängig ist.

### EINSCHRÄNKUNGEN

- Der Test ist qualitativ und es sollte keine quantitative Interpretation der Werte erfolgen.
- Premier CAMPY darf nicht als einzige Nachweismethode für Campylobacteriose herangezogen werden. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit den verfügbaren Daten aus der klinischen Untersuchung des Patienten und anderen Diagnostikverfahren heranzuziehen.
- Eine übermäßige Testinkubation kann vermehrt zu falsch-positiven Testergebnissen führen. Dagegen können kürzere Inkubationsdauern als in dieser Packungsbeilage angegeben vermehrt zu falsch-negativen Testergebnissen führen. Die in dieser Packungsbeilage angegebenen Inkubationsdauern sind einzuhalten.
- Erbringt die Negativkontrolle und/oder die Positivkontrolle ständig außerhalb der Vorgabewerte liegende Ergebnisse, ist zu vermuten, dass die Waschmethode bzw. das Produkt nicht einwandfrei waren. Das Problem dürfte sich durch vermehrte Waschgänge, kräftigeres Waschen, gründlicheres Abgießen oder Neukalibrieren der Waschgeräte beheben lassen. Bei fortgesetzten Schwierigkeiten bitte unter der Rufnummer 800-343-3858 (gebührenfrei innerhalb der USA) von Meridians Technical Support Services bzw. vom zuständigen Meridian-Vertriebshändler Unterstützung anfordern.

### LEISTUNGSMERKMALE

Premier CAMPY wurde 2008 von vier unabhängigen Testzentren im Westen, Mittleren Westen und Südosten der USA untersucht. Es wurden insgesamt 2073 qualifizierte Patientenproben untersucht; 166 von diesen waren gefrorene Retrospektivproben. Der Großteil (1862/2073) war in einem Cary-Blair-Transportmedium und Konservierungsmittel gesammelt worden. Die restlichen 211 Proben wurden ohne vorherige Konservierung getestet. Die Proben stammten von männlichen (41 %) und weiblichen (57 %) Personen. Bei 2 % der Patienten war das Geschlecht nicht bekannt. Die Altersgruppe der Patienten reichte von jünger als ein Monat bis 97 Jahre. Es zeigten sich keine auf Geschlecht oder Alter der Patienten zurückzuführenden Testleistungsschwierigkeiten. In den folgenden Tabellen ist die Assay-Leistung nach klinischem Standort, Patientenalter und Probenotyp aufgeführt.

Tabelle 1. Leistungsmerkmale nach klinischem Standort

Stand-ort	Positive Proben			Negative Proben		
	Premier/ Kultur	Empfind- lichkeit (in %)	95%-VB	Premier/ Kultur	Spezifität (in %)	95%-VB
Stand-ort 1	22/23	95,7 %	79,0–99,2 %	189/193	97,9 %	94,8–99,2 %
Stand-ort 2	0/0	N/Z	N/Z	51/51	100 %	93,0–100 %
Stand-ort 3	26/27	96,3 %	81,7–99,3 %	1429/1511	94,6 %	93,3–95,6 %
Stand-ort 4	11/11	100 %	74,1–100 %	255/257	99,2 %	97,2–99,8 %
Stand-orte insge-samt	59/61	96,7 %	88,8–99,1 %	1924/2012	95,6 %	94,6–96,4 %

Tabelle 2. Leistungsmerkmale nach Patientenalter

Patienten- alter	Positive Proben			Negative Proben		
	Premier/ Kultur	Empfind- lichkeit (in %)	95%-VB	Premier/ Kultur	Spezifität (in %)	95%-VB
Geburt bis 1 Monat	0/0	N/Z	N/Z	12/13	92,3 %	66,7–98,6 %
> 1 Monat bis 2 Jahre	3/3	100 %	43,9–100 %	338/348	97,1 %	94,8–98,4 %
> 2 Jahre bis 12 Jahre	5/5	100 %	56,6–100 %	374/388	96,4 %	94,0–97,8 %
> 12 Jahre bis 21 Jahre	2/2	100 %	34,2–100 %	139/145	95,9 %	91,3–98,1 %
> 21 Jahre	32/34	94,1 %	80,9–98,4 %	1052/1109	94,9 %	93,4–96,5 %
Keine Angaben	17/17	100 %	81,6–100 %	9/9	100 %	70,1–100 %

Tabelle 3. Leistungsmerkmale nach Probenotyp (mit Konservierungsmittel bzw. ohne Konservierungsmittel)

Probenotyp	Positive Proben			Negative Proben		
	Premier/ Kultur	Empfind- lichkeit (in %)	95%-VB	Premier/ Kultur	Spezifität (in %)	95%-VB
mit Konser- vierungs- mittel	42/43	97,7 %	87,9–99,6 %	1733/1819	95,3 %	94,2–96,2 %
ohne Konser- vierungs- mittel	17/18	94,4 %	74,2–99,0 %	191/193	99,0 %	96,3–99,7 %

Tabelle 4. Leistungsmerkmale nach bei frischen Proben i. Vgl. zu gefrorenen Proben

Frisch/Gefrore- n	Positive Proben			Negative Proben		
	Premier/ Kultur	Empfind- lichkeit (in %)	95%-VB	Premier/ Kultur	Spezifität (in %)	95%-VB
Frisch	17/18	94,4 %	74,2–99,0 %	1810/1889	95,8 %	94,8–96,6 %
Gefroren	42/43	97,7 %	87,9–99,6 %	114/123	92,7 %	86,7–96,1 %

### TESTEMPFLINDLICHKEIT

Die Testempfindlichkeit dieses Assays für *C. jejuni* und *C. coli* stützt sich auf 45 Tests für jedes Mass bei einer Wahrscheinlichkeitsangabe (z. B. 95 %) zur Erzielung positiver Reaktionen bei den folgenden Niveaus der Masseinheiten: *C. jejuni* 1,2 x 10<sup>6</sup> Zellen/mL; *C. coli* 8,0 x 10<sup>6</sup> Zellen/mL.

### KREUZREAKTIVITÄT

Es wurden Kreuzreaktivitätsstudien mit positiven und negativen Stuhlproben durchgeführt, die mit Bakterien oder Pilzen in Endkonzentrationen bis zu 1,1 x 10<sup>8</sup> KBE/mL bzw. mit Virenkonzentrationen von 1,3 x 10<sup>8</sup> bis 3,1 x 10<sup>8</sup> TCID<sub>50</sub>/mL beimpft waren. Keine der folgenden, im Stuhl vorhandenen Organismen reagierte mit Premier CAMPY: *Aeromonas hydrophila*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonellen* der Gruppen B–E, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, Adenoviren der Typen 40 und 41, Coxsackievirus, Echovirus, Rotavirus.

### TESTSPEZIFITÄT

Die folgenden *Campylobacter*-Bestandskulturen verschiedener Quellen ergaben beim Testen mit Premier CAMPY positive Reaktionen (bei 1,1 x 10<sup>8</sup> KBE/mL): *C. coli*-Stämme 10956, 17755, 36994 und 53138 und *C. jejuni*-Stämme 6951, 10940, 12081, 29411 und 38106.

### STÖRSUBSTANZEN-TESTS

Die folgenden Substanzen zeigten in den angegebenen gesättigten Lösungen/Verdünnungen und den aufgeführten Endkonzentrationen keine Auswirkungen auf die Testergebnisse: Bariumsulfat (5 mg/mL), Stuhlflotte (entsprechend 2,65 mg Stearinsäure plus 1,3 mg Palmitinsäure pro mL), Hämoglobin (in Form von Methämoglobin)(3,2 mg/mL), Iodium AD® (0,00667 mg/mL), Kaopectate® (0,87 mg/mL), Mucin (3,33 mg/mL), Mylanta® (4,2 mg/mL), Pepto-Bismol® (0,87 mg/mL), Prilosec® (0,5 mg/mL), Tagamet® (0,5 mg/mL), TUMS® (0,5 mg/mL), Vollblut (5 % Vol./Vol.).

### REFERENCES

- Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, Amisu KO, Obi CL. Human Campylobacteriosis in developing countries. EID. 2002 Mar 2;8(3):237-43.
- Friedman CR, Hoekstra RM, Samuel M, Marcus R, Bender J, Shiferaw B et al. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: A case-control study in FoodNet sites. CID 2004;38 (Suppl 3):S265-96.



SN11174

REV. 01/15

Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.  
 USA/Corporate Office  
 3471 River Hills Drive  
 Cincinnati, Ohio 45244  
 Telephone: 513.271.3700  
 Orders/Customer Service:  
 800.543.1980  
 Technical Support Center:  
 800.343.3858  
 Information Fax: 513.272.5432  
 Ordering Fax: 513.271.0124

Meridian Bioscience Europe S. r. L.  
 Via dell'Industria, 7  
 20020 Villa Cortese, Milano  
 ITALY  
 Tel: +39 0331 43 36 36  
 Fax: +39 0331 43 36 16  
 Email: info@meridianbioscience.eu  
 WEB: www.meridianbioscience.eu

Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe s.a.n.v.  
 2 Avenue du Japon - 1420 Braine l'Alleud  
 BELGIUM  
 Tel: +32 (0) 67 89 59 59  
 Fax: +32 (0) 67 89 59 58  
 Email: info.bn@meridianbioscience.eu











Meridian Bioscience Europe France  
 34 rue de Ponthieu - 75008 Paris  
 FRANCE  
 Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40  
 Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10  
 Email: info.fr@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe b.v.  
 Postbus 301 - 5460 AH Veghel  
 NETHERLANDS  
 Tel: +31 (0) 411 62 11 66  
 Fax: +31 (0) 411 62 48 41  
 Email: info.bn@meridianbioscience.eu

## INTERNATIONAL SYMBOL USAGE CHART

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guia de símbolos, Erläuterung der graphischen symbole)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusqu'à / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	<b>CONTROL +</b>	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
<b>LOT</b>	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	<b>CONTROL -</b>	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
<b>IVD</b>	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	<b>EC REP</b>	Authorized Representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostico in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG.	<b>SMP PREP DIL SPE</b>	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
<b>REF</b>	Catalogue number / Numero de catalogo / Référence au catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	<b>BUF RXN</b>	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	<b>SOLN STOP</b>	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	<b>CONJ ENZ</b>	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
<b>SN</b>	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	<b>CONTROL</b>	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
<b>TEST</b>	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	<b>REAG</b>	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	<b>BUF WASH</b>	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
<b>BUF</b>	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenza / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweis
<b>CONJ</b>	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	<b>DIL SPE</b>	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
<b>SUBS</b>	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	<b>BUF WASH 20X</b>	Wash Buffer Concentration: 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
		<b>DET REAG</b>	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Détection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.