

# RIDA<sup>®</sup> QUICK Campylobacter

Art. No.: N2403



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Germany  
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



## 1. Anwendungsbereich

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDA®QUICK Campylobacter ist ein immunchromatografischer Schnelltest zum qualitativen Nachweis von Antigenen von Campylobacter jejuni und Campylobacter coli in Stuhlproben und in Kulturen.

## 2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Die Campylobacteriose zählt mittlerweile weltweit neben der Salmonellose zu der häufigsten lebensmittelbedingten Durchfallerkrankung des Menschen. Die starke Häufung der Campylobacter - Enteritis ist begünstigt durch die weite speziesübergreifende Verbreitung des Bakteriums unter Wild -, Nutz - und Haustieren (Vögel und Säugetiere).

Als Kommensale im Darmtrakt von Geflügel gelangt es insbesondere über diese Tiere in die Nahrungskette des Menschen. Aber auch andere Lebensmittel wie Milch, Hackfleisch und Trinkwasser sind Vehikel der Übertragung des Erregers. Campylobacter wird von den zahlreichen Wirten in großen Mengen in die Umwelt freigesetzt und gelangt letztlich über kontaminierte Nahrung in den Menschen. Aber auch der direkte Kontakt mit selbst an Campylobacteriose erkrankten Haustieren sowie auf dem fäkal oralen Weg hauptsächlich im Kindesalter sind mögliche Übertragungswege der Campylobacter-Enteritis. Die Infektionsdosis ist mit 500 Keimen relativ gering. Von den etwa 15 bekannten Campylobacter-Spezies sind hauptsächlich C. jejuni und C. coli Auslöser der Gastroenteritiden des Menschen. Nach einer Inkubationszeit von 2 bis 10 Tagen scheiden unbehandelte Erkrankte bis zu 4 Wochen lang infektiöse Erreger im Stuhl aus. Bei Immundefizienz kann es zur dauerhaften Ausscheidung kommen. Während viele Infektionen asymptomatisch verlaufen, treten bei Erkrankten nach einem Prodromalstadium mit Fieber, Kopfschmerzen, Myalgien, Arthralgien und Müdigkeit die typischen Enteritissymptome mit Diarrhoe, Krämpfen und Abdominalschmerzen auf. Die Durchfälle sind breiig bis massiv wässrig und gelegentlich blutig. Arthritiden und das selten auftretende Guillain-Barré-Syndrom sind Spätfolgen der Erkrankung.

Die Therapie ist meist symptomatisch durch Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution und nur in schweren Fällen antibiotisch zu behandeln.

Die erfolgreiche Anzuchtung des sensiblen Erregers aus möglichst frischen Stuhlproben erfordert kurze oder gekühlte Transportwege. Davon unabhängig sind moderne Antigennachweisverfahren wie der vorliegende RIDA®QUICK Campylobacter Schnelltest, der spezifisches Campylobacter Antigen in der Stuhlprobe auch dann noch erfasst, wenn die Erreger schon nicht mehr anzüchtbar sind.

## 3. Testprinzip

Der vorliegende Schnelltest ist ein einstufiger immunchromatografischer Lateral-Flow Test, bei dem sowohl biotinylierte als auch goldmarkierte Anti-Campylobacter Antikörper eingesetzt werden. Sobald in einer positiven Probe der Erreger vorhanden ist, bilden sich Immunkomplexe mit den markierten Anti-Campylobacter Antikörpern aus, die dann durch die Membran laufen. Das an der Testlinie T befindliche Streptavidin bindet die heranfließenden Immunkomplexe über das

an die Anti-Campylobacter-Antikörper gekoppelte Biotin und führt so zu einer rot-violetten Färbung der T-Linie. An der nachfolgenden Kontrolllinie C werden durchlaufende nicht komplexierte goldmarkierte Antikörper gebunden. Bei negativen Proben erfolgt demnach keinerlei Bindung goldmarkierter Immunkomplexe an der T-Linie, sondern nur an der C-Linie. Die rote C-Linie zeigt stets an, ob der Testverlauf valide war.

#### 4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 25 Bestimmungen

Cassette	25 Best	25 einzeln verpackte Testkassetten
Reagent   A	13,5 ml	Spezifische Anti-Helicobacter-Antikörper; enthält 0,05 % Azid, gebrauchsfertig blau gefärbt
Reagent   B	13,5 ml	Spezifische Anti-Helicobacter-Antikörper; enthält 0,05 % Azid, gebrauchsfertig, gelb gefärbt
Pipet	50 Stck	Beutel mit 50 Multifunktionspipetten, graduiert zum Pipettieren von flüssigen Proben und mit Spatel zum Dosieren fester Stuhlproben
Reagent vial	25 Stck	Beutel mit 25 Reaktionsgefäßen

#### 5. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Packung kann bei 2 – 25 °C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden. Ebenso kann eine Verwendungsfähigkeit von Kassetten dann nicht mehr gewährleistet werden, wenn die Kassettenverpackung beschädigt ist.

#### 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

- Vortexmischer (optional)
- Abfallbehälter mit einer 0,5 %igen Natrium-Hypochloritlösung

#### 7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Die Reagenzien enthalten als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmal-Handschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammen kommen, müssen genau wie diese mit geeigneten Desinfektionsmitteln (z.B. Natrium-Hypochlorit) behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

## 8. Sammlung und Lagerung der Proben

Stuhlproben sind in sauberen Behältern ohne irgendwelche Zusätze zu sammeln und vor Testbeginn bei 2 – 8 °C zu lagern. Bei Lagerung von mehr als 3 Tagen muss die Probe bei - 20 °C eingefroren werden. In diesem Fall wird die Probe vor Testbeginn vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden.

Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 50 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

## 9. Testdurchführung

### 9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind die Proben, die Reagenzien sowie die Testkassetten auf Raumtemperatur (20-25 °C) zu bringen. Die Testkassetten sollen erst kurz vor Verwendung der Umverpackung entnommen werden. Einmal benutzte Kassetten dürfen nicht wiederverwendet werden. Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung ist zu vermeiden. Überschüssiges Reagenz darf nicht wieder in die Gefäße zurückgegeben werden, da dies zu einer Kontamination führen kann.

### 9.2. Vorbereitung der Proben

Grundsätzlich sind alle Stuhlproben vor Verwendung gründlich zu mischen um eine homogene Verteilung des Antigens zu gewährleisten.

#### **Bitte beachten:**

Für jede Probestellung sind zwei graduierte Multifunktionspipetten **Pipet** verfügbar, die folgendermaßen zu benutzen sind:

**Pipette 1:** zum Pipettieren von Reagenz A **Reagent | A** und der Probe (50 µl oder 50 mg mit dem Spatel je nach Konsistenz der Probe).

**Pipette 2:** zum Pipettieren von Reagenz B **Reagent | B** und der Mischung aus den Reagenz A und B und der Probe.

### 9.3. Proben -Testung

In ein gekennzeichnetes Reaktionsgefäß **Reagent vial** werden 0,5 ml Reagenz A **Reagent | A** mit **Pipette 1** und 0,5 ml Reagenz B **Reagent | B** mit **Pipette 2** pipettiert. In dieses Reagenzgemisch werden dann je nach Konsistenz der Probe 50 mg mit dem Spatel (Markierung auf Spatel beachten) der **Pipette 1** oder 50 µl (erste Graduierung der Pipette ) der zuvor homogenisierten Stuhlprobe eingebracht. Danach wird das Reaktionsgefäß fest verschlossen und der Inhalt durch Schütteln gut gemischt (optional: vortexen). Anschließend wird das Reaktionsgefäß

in die im Testkit befindliche Haltevorrichtung für mindestens 5 min eingestellt. Während dieser Zeit reagiert die Probe mit dem Reagenzgemisch bei gleichzeitiger Sedimentation der festen Stuhlbestandteile. In dieser Zeit wird die auf RT erwärmte Testkassette **Cassette** aus ihrer Umverpackung entnommen und auf eine ebene Unterlage gelegt.

Sobald 5 min Reaktionszeit verstrichen sind, wird das Reaktionsgefäß vorsichtig geöffnet und mit Hilfe der Pipette 2 werden 150 µl (zweite Graduierung der Pipette) des geklärten Überstandes entnommen und in den Probentrichter am Rande der Kassette pipettiert. Es ist darauf zu achten, dass die Flüssigkeit ungehindert durch die Membran läuft. Bei richtiger Durchführung erscheint die Kontrollbande an der Kontrolllinie C nach etwa 3 Minuten. Sollte die Kontrolllinie nicht nach 3 Minuten sichtbar sein, muss das Reaktionsgefäß wieder verschlossen und für 2 min bei 2000 x g zentrifugiert werden um eventuell störende Festpartikel in der Probe zu sedimentieren. Vom Überstand sind danach 150 µl in den Probentrichter einer neuen Kassette zu pipettieren.

Das Testergebnis ist nach **15 Minuten** abzulesen. Die Färbung der Banden und deren Intensität kann sich während der Gesamtentwicklungszeit und nach Trocknung des Streifens von rotviolett nach blau- bis grau-violett verändern.

#### 9.3.1. Verwendung von flüssigen und festen Kulturen von Campylobacter

50 µl einer **Nährbouillon** (z.B. Bolton-Bouillon) werden in 1,0 ml des zuvor im Reaktionsgefäß hergestellten Reagenzienmix aus Reagenz A (0,5 ml) und Reagenz B (0,5 ml) pipettiert und gemischt. Von dem Gemisch werden 150 µl für die Probestellung (Pkt. 9.3.) eingesetzt.

Bei Verwendung von **festen Nährböden** werden möglichst viele Kolonien von der Nährbodenplatte abgenommen und zunächst in 1 ml Aqua dest. oder Kochsalzlösung (0,9%ige NaCl) komplett suspendiert. 50 µl dieser Suspension werden anschließend in 1,0 ml des zuvor im Reaktionsgefäß hergestellten Reagenzienmix aus Reagenz A (0,5 ml) und Reagenz B (0,5 ml) pipettiert und gemischt. Von dem Gemisch werden 150 µl für die Probestellung (Pkt. 9.3.) eingesetzt.

### 10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Der Test ist nur auszuwerten, wenn die Testkassette vor dem Einpipettieren der Proben-suspension unversehrt ist und keine farbigen Veränderungen oder Banden darauf zu sehen sind. Ferner muss nach der 15-minütigen Inkubationszeit mindestens die rotviolette Kontrollbande sichtbar sein. Erscheint diese nicht, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der Testkassetten und der verwendeten Reagenzien
- Korrekte Testdurchführung
- Kontamination der Reagenzien

Ist danach bei Wiederholung des Tests mit einer neuen Testkassette die Kontrollbande wiederum nicht sichtbar, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributeur.

## 11. Auswertung und Interpretation

Es dürfen maximal zwei Banden erscheinen, vom Probenapplikationsfeld aus gesehen in folgender Reihenfolge: Eine rotviolette Reaktionsbande an der Testlinie T und eine rotviolette Kontrollbande an der Kontrolllinie C. **Fehlt die Kontrollbande ist der Test nicht auswertbar und ungültig !**

Folgende Interpretationen sind möglich:

- **Campylobacter positiv** : beide Banden sind sichtbar.
- **Campylobacter negativ** : nur die Kontrollbande ist sichtbar.
- **Ungültig** : keine Bande ist sichtbar oder eine andere Konstellation als oben beschrieben. Ebenso sind Banden-Verfärbungen, die erst deutlich später als nach 15 Minuten auftreten, ohne diagnostischen Wert und nicht zu beurteilen.

## 12. Grenzen der Methode

Der RIDA<sup>®</sup>QUICK Campylobacter weist Antigen von Campylobacter in Stuhlproben oder nach deren Anreicherung in Campylobacter-Kulturen nach. Ein Zusammenhang zwischen der Intensität der sichtbaren spezifischen Bande und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. **Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem klinischen Bild zu interpretieren.**

Ein **positives** Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger oder Ursachen nicht aus.

Ein **negatives** Ergebnis schließt eine mögliche Infektion mit Campylobacter nicht aus. Es kann durch intermittierende Ausscheidung des Erregers oder durch eine zu geringe Antigenmenge in der Probe verursacht sein. Besteht anamnestisch der begründete Verdacht auf eine Infektion mit dem gesuchten Erreger, sollte eine weitere Stuhlprobe des Patienten untersucht werden.

Ein Überschuss an Stuhlprobe kann eine bräunliche Verfärbung des Teststreifens verursachen, die die rot-violette Färbung der spezifischen Testbande überlagert. In solchen Fällen ist eine erneute Testung mit einer geringeren Stuhlmenge oder einer durch Zentrifugation stärker geklärten Stuhlsuspension erforderlich, um zu klären, ob die gesuchten Campylobacter-Antigene doch in der Probe vorliegen, jedoch durch zuviel eingesetzte Stuhlmatrix überlagert wurden.

## 13. Leistungsmerkmale

### 13.1 Testqualität

Die Leistungsfähigkeit des RIDA<sup>®</sup>QUICK Campylobacter Schnelltests wurde in einer Studie mit dem Goldstandard, der kulturellen Anzucht des Erregers auf CCD-Agar unter mikroaerophilen Bedingungen, verglichen. Hierzu wurden insgesamt 574 Stuhlproben aus der täglichen Diagnostik eines Einsendelabors im RIDA<sup>®</sup>QUICK Campylobacter Schnelltest untersucht. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle 1 zusammengefasst.

Tab.1: Vergleich des RIDA®QUICK Campylobacter mit kultureller Anzucht auf CCDA Platten

		Kultur (CCDA)	
		positiv	negativ
RIDA®QUICK Campylobacter	positiv	62	7
	negativ	1	504

Sensitivität: 98,4 %

Spezifität: 98,6 %

PPW: 89,8 %

NPW: 99,8 %

### 13.2 Analytische Sensitivität

Die analytische Nachweisgrenze wurde für *C.jejuni* und *C.coli* getrennt ermittelt. Sie beschreibt die niedrigste Keimkonzentration, die im RIDA®QUICK Campylobacter noch als gerade sichtbare Bande positiv zu bewerten ist. Sie wurde aus 60-fachem Testansatz mit Kassetten aus zwei verschiedenen Lots und 3 verschiedenen Ablesern (95% CI) ermittelt und beträgt für *Campylobacter jejuni*  $2,1 \times 10^4$  KBE/ml) und für *Campylobacter coli*  $8,5 \times 10^5$  KBE/ml.

### 13.3 Präzision

Zur Bestimmung der Präzision des RIDA®QUICK Campylobacter Tests wurden die Intra-Assay-Reproduzierbarkeit, die Inter-Tag-Reproduzierbarkeit (10Tage), die Inter-Operator-Reproduzierbarkeit (3 Operatoren) und die Inter-Lot-Reproduzierbarkeit (3 Lots) untersucht. Für jede Untersuchung wurden 5 Referenzen in Replikaten gemessen: eine negative, zwei mittelstark positive, zwei schwach-positive Probe. Der RIDA®QUICK Campylobacter Test zeigte in allen Messungen das erwartete Ergebnis.

### 13.4 Kreuzreaktivität

Verschiedene pathogene Keime des Intestinaltraktes wurden mit dem RIDA®QUICK Campylobacter Schnelltest untersucht und zeigten keine Kreuzreaktivität. Durchgeführt wurden die Untersuchungen mit Bakteriensuspensionen ( $10^6$  bis  $10^9$  KBE/ml), mit Parasiten-kulturen ( $10^7$  bis  $10^9$  Organismen/ml) und mit Zellkulturüberständen virusinfizierter Zellen. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle 2 aufgelistet. Außer den beiden *Campylobacter*-Spezies *C. jejuni* und *C. coli* reagierte keiner der getesteten Organismen im RIDA®QUICK Campylobacter Schnelltest.

Tab. 2 : Kreuzreaktionen mit pathogenen Keimen des Intestinaltraktes

Testkeim	Herkunft/Quelle	Ergebnis
Adenovirus	Infektiöser Kulturüberstand	negativ
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Kultur	negativ
Astrovirus	Infektiöser Kulturüberstand	negativ
<i>Bacillus cereus</i>	Kultur	negativ
<i>Bacteroides fragilis</i>	Kultur	negativ
<i>Campylobacter coli</i>	Kultur	positiv
<i>Campylobacter fetus</i>	Kultur	negativ
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kultur	positiv
<i>Campylobacter lari</i>	Kultur	negativ
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Kultur	negativ
<i>Candida albicans</i>	Kultur	negativ
<i>Citrobacter freundii</i>	Kultur	negativ
<i>Clostridium difficile</i>	Kultur	negativ
<i>Clostridium perfringens</i>	Kultur	negativ
<i>Clostridium sordellii</i>	Kultur	negativ
<i>Cryptosporidium muris</i>	Kultur	negativ
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kultur	negativ
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Kultur	negativ
<i>E. coli</i> (O6)	Kultur	negativ
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Kultur	negativ
<i>Enterobacter cloace</i>	Kultur	negativ
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kultur	negativ
Giardia lamblia Probe	Stuhlprobe	negativ
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Kultur	negativ
<i>Proteus vulgaris</i>	Kultur	negativ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kultur	negativ
Rotavirus	Infektiöser Kulturüberstand	negativ
<i>Salmonella enteritidis</i>	Kultur	negativ
<i>Salmonella typhimurium</i>	Kultur	negativ
<i>Serratia liquefaciens</i>	Kultur	negativ



<i>Shigella flexneri</i>	Kultur	negativ
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultur	negativ
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultur	negativ
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Kultur	negativ
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Kultur	negativ

#### 14. Interferierende Substanzen

Die nachfolgend aufgeführten Substanzen zeigten keinen Effekt auf die Testergebnisse, wenn sie in *Campylobacter jejuni* oder *Campylobacter coli* positive und negative Stuhlproben in den angegebenen Konzentrationen eingemischt wurden:

Bariumsulfat (5 % w/w), Loperamid (Antidiarrhoikum; 5 % w/w), Pepto-Bismol (Antidiarrhoikum; 5 % v/w), Muzin (5 % w/w), Cyclamate (künstlicher Süßstoff 5 % v/w), Humanblut (5 % v/w), Stearinsäure / Palmitinsäure (Mischung 1:1, 40 % w/w), Metronidazol 0.5 (Antibiotikum 5 % v/w), Diclofenac (0.00263 % v/w).

## Anhang

Testspezifische Symbole:

<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Cassette</span>	Testkassette
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Reagent   A</span>	Reagenz A
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Reagent   B</span>	Reagenz B
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Reagent vial</span>	Reaktionsgefäß
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Pipet</span>	Multifunktionspipetten

## Literatur

1. Skirrow MB, Blaser MJ (1995): *Campylobacter jejuni*. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (eds) *Infections of the Gastrointestinal Tract*. Raven Press, New York, 825 – 248.
2. Kist M, Bereswill S (2001) *Campylobacter jejuni*. In: Mühldorfer I, Schäfer KP (eds) *Emerging bacterial pathogens. Contrib Microbiol Vol.8*. Karger, Basel, 150 –165.
3. Skirrow MB (1977) *Campylobacter enteritis: a new disease*. *Br Med J* 2: 9 –11.
4. Rees JH, Soudain SE, Gregson NA, Highes RA (1995) *Campylobacter jejuni* infection and Guillain-Barré syndrome. *N Engl J Med* 333: 1374 – 1379.
5. Beumer RR, Cruysen JJ, Birtantie IR (1988) The occurrence of *Campylobacter jejuni* in raw cows milk. *J Appl Bacteriol* 65: 93 – 96.
5. Jones K (2001) *Campylobacters in water, sewage and the environment*. *J Appl Microbiol* 90: 68 S - 79 S
7. Skirrow MB, Turnbull GL, Walker RE, Young SEJ (1980) *Campylobacter jejuni* enteritis Transmitted from cat to man. *Lancet* 1: 1188.
8. Steinbrückner B, Härter G, Pelz K, Kist M (1999) Routine identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from human stool samples. *FEMS Microbiol Lett* 179: 227 – 232.
9. Kist M (2002) Lebensmittelbedingte Infektionen durch *Campylobacter*. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch- Gesundheitsschutz* 45: 497 –506.