

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

N° de art.: N2403



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



## 1. Área de aplicación

Para el diagnóstico *in vitro*. El RIDA®QUICK Campylobacter es un ensayo inmunocromatográfico rápido para detectar cualitativamente los antígenos del campylobacter jejuni y del campylobacter coli en muestras de heces y en cultivos.

## 2. Resumen y explicación del ensayo

La campilobacteriosis constituye hoy en día, conjuntamente con la salmonelosis, la más frecuente afección diarreica humana producida por alimentos. La fuerte acumulación de enteritis por campylobacter está favorecida por la amplia propagación de la bacteria en diferentes especies animales tales como animales de caza, animales útiles y animales domésticos (pájaros y mamíferos).

Como germen comensal en el tracto intestinal de la aves llega a través de estos animales a la cadena alimentaria humana. Sin embargo, también otros alimentos como leche, carne picada y agua potable son vehículos de transmisión del germen patógeno. El campylobacter es liberado al medioambiente por numerosos huéspedes y llega finalmente al hombre a través de alimentos contaminados. Pero también el contacto directo con animales domésticos afectados por la campilobacteriosis así como a través de la vía fecal-oral sobre todo a temprana edad son las vías de transmisión posibles de la enteritis por campylobacter. Con 500 gérmenes la dosis de infección es relativamente baja. De las aproximadamente 15 especies conocidas de campylobacter, la *C. jejuni* y la *C. coli* son las que provocan las gastroenteritis en el ser humano. Tras un tiempo de incubación de 2 a 10 días, los enfermos no tratados eliminan gérmenes infecciosos durante un periodo de hasta 4 semanas. En casos de inmunodeficiencia puede producirse eliminación permanente. Aunque muchas de las infecciones transcurren de modo asintomático, los enfermos muestran, tras una etapa prodromal con fiebre, dolor de cabeza, mialgias, artralgia y cansancio, los síntomas típicos de la enteritis: diarrea, espasmos y dolores abdominales. Las diarreas presentan una consistencia pastosa a fuertemente aguada y algunas veces ensangrentada. Los efectos tardíos de la enfermedad son afecciones artríticas y raramente el síndrome de Guillain-Barré.

Por lo general, los síntomas de la terapia se tratan con sustitución de líquido y electrolitos y, en casos graves, con antibióticos.

Para el cultivo satisfactorio de este sensible germen patógeno a partir de muestras de heces en lo posible frescas es necesario disponer de vías de transporte cortas o refrigeradas. Los modernos métodos de detección de antígenos como el presente ensayo rápido RIDA®QUICK Campylobacter no precisan de ellas y detectan el antígeno específico de la campylobacter en la muestra de heces aún cuando el germen infeccioso ya no se pueda cultivar.

### 3. Principio del ensayo

El presente ensayo rápido es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral en el cual se utiliza tanto anticuerpos anti-campylobacter biotinilados así como marcados endorado. Apenas haya el germen infeccioso en una muestra positiva, se forman inmunocomplejos con los anticuerpos anti-campylobacter marcados, pasando entonces a través de la membrana. La estreptavidina que se encuentra en la línea T de ensayo fija los inmunocomplejos que fluyen hacia ella a través de biotina ligada a los anticuerpos anti-campylobacter, produciendo así una coloración rojo-violeta de la línea T. En la siguiente línea de control C quedan fijados los anticuerpos marcados en dorado no complejados que pasen. Consiguientemente, en las muestras negativas no ocurre fijación alguna de inmunocomplejos marcados en dorado en la línea T sino únicamente en la línea C. La línea roja C mostrará siempre si el procedimiento de ensayo fue válido.

### 4. Contenido del paquete

Los reactivos de un paquete bastan para 25 determinaciones.

Cassette	25 determ.	25 casetes de ensayo empacados individualmente
Reagent A	13,5 ml	Anticuerpo específico anti-campylobacter; contiene azida al 0,05%, lista para usar, coloreada en azul
Reagent B	13,5 ml	Anticuerpo específico anti-campylobacter; contiene azida al 0,05%, lista para usar, colorada en amarillo
Pipette	50 unidades	Bolsa con 50 pipetas multifunción, graduadas para pipetear muestras líquidas y con una espátula para medir muestras de heces sólidas
Reagent vial	25 unidades	Bolsa con 25 viales de reacción

### 5. Reactivos y su almacenamiento

El paquete se puede almacenar a una temperatura de 2 a 25 °C y se podrá utilizar hasta la fecha de vencimiento impresa. Una vez que se ha sobrepasado la fecha de vencimiento ya no se puede asumir garantía sobre la calidad. Asimismo, si el paquete de los casetes estuviese dañado no se podrá garantizar que los casetes estén en buenas condiciones de utilización.

### 6. Reactivos adicionales necesarios y accesorios requeridos

- Agitador Vortex (opcional)
- Contenedor de residuos con una solución al 0,5% de hipocloruro sódico

## **7. Medidas de precaución**

Únicamente para el diagnóstico *in vitro*.

Este ensayo deberá ser llevado a cabo únicamente por personal de laboratorio capacitado. Se deberán respetar las directivas laborales aplicables a los laboratorios clínicos. Se deberán cumplir estrictamente las instrucciones de ejecución del ensayo. Los reactivos contienen azida sódica como agente conservante. Se deberá evitar el contacto con la piel o con las mucosas.

No se deberá pipetear las muestras ni los reactivos con la boca. Se deberá evitar el contacto con heridas en la piel o en las mucosas. Durante el manejo de las muestras se deberá llevar guantes desechables y una vez concluido el ensayo se deberán lavarse las manos. No se deberá fumar, comer ni beber en las áreas donde se trabaje con muestras.

Todos los reactivos y materiales que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas deberán tratarse como éstas con los desinfectantes apropiados (por ejemplo hipocloruro sódico) o esterilizarse en autoclave durante por lo menos una hora a 121 °C.

## **8. Recolección y almacenamiento de las muestras**

Las muestras de heces se deberán recolectar en contenedores limpios sin ningún tipo de aditivos y almacenarse antes del inicio del ensayo a una temperatura de 2 a 8 °C. Si se prevé almacenar la muestra durante más de tres días, ésta se deberá congelar a - 20 °C. En este caso la muestra se deberá descongelar completamente y llevar a temperatura ambiente antes del inicio del ensayo. Se deberá evitar congelar y descongelar repetidamente la muestra.

Si se prevé utilizar frotis rectales, se deberá prestar atención a disponer de suficiente material de heces (aproximadamente 50 mg) para la ejecución del ensayo.

## **9. Ejecución del ensayo**

### **9.1. Generalidades**

Antes de su utilización, se deberá llevar las muestras, los reactivos así como los casetes de ensayo a la temperatura ambiental (20 a 25 °C). Los casetes de ensayo no se deberán desempacar sino hasta el momento de su utilización. No se deberá volver a utilizar los casetes ya utilizados. Se deberá evitar la radiación solar directa durante la ejecución del ensayo. Los reactivos excedentes no deberán volverse a verter en sus contenedores pues esto podría ocasionar contaminación.

### **9.2. Preparación de las muestras**

Antes del uso, todas las muestras de heces deben mezclarse siempre concienzudamente para garantizar una distribución homogénea de los antígenos.

### Téngase en cuenta:

Para cada ensayo de muestras, se dispone de dos pipetas **Pipette** para su utilización como sigue:

**Pipeta 1:** para pipetear el reactivo A **Reagent | A** y la muestra (50 µl o 50 mg con la espátula dependiendo de la consistencia de la muestra).

**Pipeta 2:** para pipetear el reactivo B **Reagent | B** y la mezcla de reactivos A y B y la muestra.

### 9.3. Ensayo de la muestra

En un vial de reactivo etiquetado **Reagent vial**, pipetear 0,5 ml de reactivo A **Reagent | A** utilizando la **pipeta 1** y 0,5 ml de reactivo B **Reagent | B** utilizando la **pipeta 2**. Añadir la muestra de heces previamente homogeneizada, bien 50 mg de la **pipeta 1** utilizando la espátula (observe la marca en la espátula), o bien 50 µl (primera graduación de la pipeta), dependiendo de la consistencia, a esta mezcla de reactivos. Cerrar herméticamente el vial de reacción y agitar bien el contenido para que se mezcle (opcional: mezclador de vórtice). Colocar el vial de reacción en el soporte del kit de ensayo durante al menos 5 min. Durante este tiempo, la muestra reacciona con la mezcla de reactivos mientras los componentes sólidos de las heces se depositan en forma de sedimento. Mientras tanto, extraer el casete de ensayo a temperatura ambiente **Cassette** de su envase y colocarlo en una superficie plana.

Tan pronto como finalice el tiempo de reacción de 5 minutos, abrir cuidadosamente el recipiente de reacción y utilizar la **pipeta 2** para extraer 150 µl (segunda graduación de la pipeta) de sobrenadante clarificado, y pipetearlo en el embudo de muestras en el borde del casete. Asegurarse de que el líquido pueda pasar a través de la membrana sin obstrucción. Si se realiza correctamente, aparecerá la banda de control en la línea de control C después de aproximadamente 3 minutos. Si la línea de control no es visible pasados 3 minutos, el vial de reacción debe volver a cerrarse y centrifugarse durante 2 min a 2000 x g para sedimentar cualquier partícula sólida causante del problema. Posteriormente, pipetear 150 µl de sobrenadante en el embudo de muestras de un nuevo casete.

Leer el resultado del ensayo pasados **15 minutos**. Durante todo el tiempo de desarrollo y tras el secado de la tira, la coloración e intensidad de las bandas puede cambiar desde el rojo-violeta al gris-violeta pasando por el azul-violeta.

#### 9.3.1. Utilización de cultivos líquidos y sólidos de campylobacter

Se pipetea 50 µl de un **caldo de cultivo** (por ejemplo caldo de cultivo Bolton) en 1,0 ml de la mezcla de reactivos preparada previamente en el tubo de reacción a partir del reactivo A (0,5 ml) y el reactivo B (0,5 ml) y se mezclan. De la mezcla resultante se utilizarán 150 µl para el ensayo con muestra (véase el punto 9.3.).

Si se utiliza un **medio de cultivo sólido** se sacarán tantas colonias de la placa de medio de cultivo como sea posible y se suspenderán en un primer paso en 1 ml de agua destilada o de solución salina (de NaCl al 0,9%). Paso seguido se pipetea 50 µl de esta suspensión en 1,0 ml de la mezcla de reactivos hecha previamente en el tubo de reacción a partir del reactivo

A (0,5 ml) y el reactivo B (0,5 ml) y se mezclan. De la mezcla resultante se utilizarán 150 µl para el ensayo con muestra (véase el punto 9.3.).

## 10. Control de calidad y signos de caducidad del reactivo

El ensayo deberá evaluarse únicamente si el casete de ensayo se encuentra intacto antes del pipeteado de la suspensión de muestra y no muestra modificación de color ni bandas. Asimismo, después de 15 minutos de incubación deberá poder visualizarse la banda de control rojo-violeta. Si esta no apareciera, se deberá verificar lo siguiente antes de repetir el ensayo.

- Durabilidad de los casetes de ensayo y de los reactivos utilizados
- Ejecución correcta del ensayo
- Contaminación de los reactivos

Si después de repetir el ensayo con un nuevo casete de ensayo no se pudiera ver ninguna banda de control, deberá usted ponerse en contacto con el fabricante o con su distribuidor local de R-Biopharm.

## 11. Evaluación e interpretación

Como máximo deberán aparecer dos bandas partiendo del campo de aplicación de la muestra en el siguiente orden: Una banda de reacción rojo-violeta en la línea de control C. **Si no apareciera la banda de control, el ensayo no se deberá evaluar y no será válida.**

Se pueden realizar las siguientes interpretaciones:

- **Campylobacter positivo:** ambas bandas son visibles.
- **Campylobacter negativo:** sólo se puede ver la banda de control.
- **Inválido:** no se puede ver ninguna banda u otra combinación a las descritas anteriormente. Asimismo, la coloración de las bandas que no aparezcan hasta considerablemente después de 15 minutos no tendrán valor de diagnóstico y no deberán evaluarse.

## 12. Límites del método

El RIDA<sup>®</sup>QUICK Campylobacter determina el antígeno de campylobacter en muestras de heces o después de su enriquecimiento en culturas de campylobacter. No se deberá establecer una relación entre la intensidad de las bandas específicas visibles y la aparición de síntomas clínicos graves. **Los resultados obtenidos deberán interpretarse siempre conjuntamente con el cuadro clínico.**

Un resultado **positivo** no excluye la presencia de otros gérmenes infecciosos u motivos.

Un resultado **negativo** no excluye una posible infección con campylobacter. Esto puede deberse a una excreción intermitente del germen infeccioso o a un bajo volumen de antígeno en la muestra. Si existiese sospecha anamnésica fundada de una infección con el germen infeccioso buscado, se deberá analizar una muestra de heces adicional del paciente.

Un excedente de la muestra de heces puede ocasionar una coloración parduzca de la tira de ensayo que cubra la coloración rojo-violeta de la banda de ensayo específica. En tales casos, será necesario efectuar un nuevo ensayo con una cantidad menor de heces o con una suspensión de heces más clarificada mediante centrifugación, a fin de aclarar si en antígeno de campylobacter buscado si se pero que haya sido cubierto por un exceso de matriz utilizado.

### 13. Características

#### 13.1 Calidad del ensayo

En un estudio se ha comparado la eficacia del test rápido RIDA<sup>®</sup>QUICK Campylobacter con el patrón de referencia: el cultivo del germen infeccioso en agar CCD bajo condiciones microaerófilas. En él se analizaron con el ensayo rápido RIDA<sup>®</sup>QUICK Campylobacter un total de 574 muestras de heces del diagnóstico diario de un laboratorio externo.

Los resultados se resumen en la tabla 1 que aparece a continuación.

Tabla 1: Comparación del RIDA<sup>®</sup>QUICK Campylobacter con cultivo en placas de CCDA

		Cultivo (CCDA)	
		positivo	negativo
RIDA <sup>®</sup> QUICK Campylobacter	positivo	62	7
	negativo	1	504

Sensibilidad: 98,4 %

Especificidad: 98,6 %

VPP: 89,8 %

VPN: 99,8 %

#### 13.2 Sensibilidad analítica

El límite de determinación analítica para *c. jejuni* y *c. coli* se determinó por separado y describe la concentración más baja de gérmenes que se puede valorar positivamente como banda

visible en el RIDA®QUICK Campylobacter. Esta se determinó a partir de una serie de 60 ensayos con casetes de dos lotes diferentes y tres diferentes lectores (CI al 95%), siendo para el campylobacter jejuni de  $2,1 \times 10^4$  KBE/ml) y para el campylobacter coli de  $8,5 \times 10^5$  KBE/ml.

### 13.3 Precisión

Para determinar la precisión de los ensayos RIDA®QUICK Campylobacter se analizaron la reproducibilidad entre ensayos, la reproducibilidad entre días (10 días), la reproducibilidad entre operadores (tres operadores) y la reproducibilidad entre lotes (3 lotes). Para cada análisis se midieron 5 referencias en réplicas: una muestra negativa, dos muestras fuertemente positivas y dos muestras débilmente negativas. El ensayo RIDA®QUICK Campylobacter Test mostró el resultado esperado en todas las mediciones.

### 13.4 Reactividad cruzada

Se analizaron diferentes gérmenes patógenos del tracto intestinal con el ensayo rápido RIDA®QUICK Campylobacter, no mostrando ninguna reactividad cruzada. Los análisis se realizaron con suspensiones de bacterias ( $10^6$  hasta  $10^9$  KBE/ml), con cultivos de parásitos ( $10^7$  hasta  $10^9$  organismos/ml) y con células infectadas por virus en sobrenadantes de cultivos celulares. Los resultados aparecen en la tabla 2 que aparece a continuación. A excepción de las dos especies de campylobacter *C. jejuni* y *C. coli* ninguno de los organismos probados reaccionó en el ensayo rápido RIDA®QUICK Campylobacter.

Tabla 2: Reacciones cruzadas con gérmenes patógenos del tracto intestinal

Germen de ensayo	Procedencia/fuente	Resultado
Adenovirus	Sobrenadante de cultivo infeccioso	negativo
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cultivo	negativo
Astrovirus	Sobrenadante de cultivo infeccioso	negativo
<i>Bacillus cereus</i>	Cultivo	negativo
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cultivo	negativo
<i>Campylobacter coli</i>	Cultivo	positivo
<i>Campylobacter fetus</i>	Cultivo	negativo
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultivo	positivo
<i>Campylobacter lari</i>	Cultivo	negativo
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Cultivo	negativo



<i>Candida albicans</i>	Cultivo	negativo
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultivo	negativo
<i>Clostridium difficile</i>	Cultivo	negativo
<i>Clostridium perfringens</i>	Cultivo	negativo
<i>Clostridium sordellii</i>	Cultivo	negativo
<i>Cryptosporidium muris</i>	Cultivo	negativo
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultivo	negativo
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Cultivo	negativo
<i>E. coli</i> (O6)	Cultivo	negativo
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Cultivo	negativo
<i>Enterobacter cloace</i>	Cultivo	negativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultivo	negativo
Muestra de giardia lamblia	Muestra de heces	negativo
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Cultivo	negativo
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultivo	negativo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultivo	negativo
Rotavirus	Sobrenadante de cultivo infeccioso	negativo
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultivo	negativo
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultivo	negativo
<i>Serratia liquefaciens</i>	Cultivo	negativo
<i>Shigella flexneri</i>	Cultivo	negativo
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultivo	negativo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultivo	negativo
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Cultivo	negativo
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cultivo	negativo

#### 14. Sustancias de interferencia

Las siguientes sustancias no mostraron efecto alguno sobre los resultados del ensayo al mezclarlas en las concentraciones mencionadas en las muestras de heces positivas y negativas de campylobacter jejuni o de campylobacter coli.

Sulfato de bario (5 % m/m), loperamida (antidiarréico; 5 % m/m), Pepto-Bismol (antidiarréico; 5 % v/m), mucina (5 % m/m), cicalamato (edulcorante artificial 5 % v/m), sangre humana (5 %

v/m), ácido esteárico / ácido palmítico (mezcla 1:1, 40 % m/m), metronidazol 0.5 (antibiótico 5 % v/m), diclofenaco (0.00263 % v/m).

## Literatura

1. Skirrow MB, Blaser MJ (1995): *Campylobacter jejuni*. En: 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*. En: 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.