

ProSpecT

Campylobacter

Mikrotiterplatten-Assay

REF R247609696 Tests

DE

1. ANWENDUNGSBEREICH

Beim ProSpecT™ Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assay handelt es sich um ein IN-VITRO-Enzymimmunoassay auf Mikrotiterplattenbasis für den qualitativen Nachweis von *Campylobacter*-spezifischem Antigen in Stuhlproben und in Bouillon angereicherten Stuhlkulturen. Der ProSpecT *Campylobacter*-Mikrotiterplatten-Assay soll die Diagnose von *Campylobacter*-Infektionen unterstützen.

2. ZUSAMMENFASSUNG

Das enteropathogene Bakterium *Campylobacter jejuni* ist als einer der wichtigsten Erreger akuter Diarrhö bei Menschen bekannt^{1,2,3}. In den USA übertrifft er *Salmonella* und *Shigella* zusammengekommen in der Häufigkeit^{4,5}. Obwohl der Krankheitserreger weltweit vorkommt, tritt er besonders stark in den Entwicklungsländern auf. *Campylobacter-jejuni*-Infektionen verursachen Durchfall, der wässrig sein und Blut enthalten kann - gewöhnlich okkult mit fäkalen Leukozyten⁶. Weitere Symptome sind Fieber, Abdominalschmerz, Nausea, Kopfschmerzen und Muskelschmerzen. Die Krankheitssymptome treten 2 - 5 Tage nach der Aufnahme von kontaminierten Lebensmitteln oder Wasser auf und können 7 - 10 Tage andauern. Die meisten Infektionen verlaufen selbst-limitierend und eine Antibiotikatherapie ist nicht erforderlich⁹. Komplikationen sind selten, aber die Infektion wird mit reaktiver Arthritis, hämolytisch-urämischem Syndrom, Meningitis, rezidivierender Kolitis, akuter Cholezystitis und dem Guillain-Barré-Syndrom in Verbindung gebracht⁴. Kinder unter 5 Jahren und junge Erwachsene (15 - 29) sind häufiger von einer *Campylobacter-jejuni*-Infektion betroffen als andere Altersgruppen.

Die Diagnose einer *Campylobacter*-Infektion erfolgt derzeit einzig durch Isolation und Kultivierung des Organismus in Anreicherungsmedium und mit selektiven Medien, die eine Vielzahl von antibiotischen Zusätzen in mikroaerophiler Umgebung von 5 % Sauerstoff und 10 % Kohlendioxid enthalten. Die Isolation dauert zwei Tage bis zu einer Woche.

Das *Campylobacter*-spezifische Antigen (CSA) ist ein *Campylobacter*-Oberflächenantigen. Mit Hilfe des Westernplot-Verfahrens wurden zwei Bereiche mit Molekulargewichten von ungefähr 15 kD und 66 kD gefunden. Kreuzreaktivitätsstudien haben gezeigt, dass dies ein Antigen ist, das von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* gemeinsam genutzt wird.

3. TESTPRINZIP


Der ProSpecT *Campylobacter*-Mikrotiterplatten-Assay ist ein Immunoassay fester Phase zum Nachweis von *Campylobacter*-spezifischem Antigen (CSA). Die verdünnten Stuhlproben werden in die abbrechbaren Mikrotiterplatten-Vertiefungen gegeben, die mit polyklonalen (Kaninchen) Anti-CSA-Antikörpern beschichtet sind. Wenn CSA vorhanden ist, wird es vom gebundenen Antikörper „eingefangen“. Die Vertiefungen werden inkubiert

und anschließend gewaschen, um das ungebundene Material zu entfernen. Das Enzymkonjugat (polyklonale Anti-CSA-Antikörper, die mit Meerrettich-Peroxidase-Enzym markiert sind) wird hinzugegeben. Die Vertiefungen werden inkubiert und anschließend gewaschen, um ungebundenes Enzymkonjugat zu entfernen. Bei einer positiven Reaktion wird das Enzymkonjugat durch CSA an die Vertiefung gebunden. Das Substrat für das Enzym, 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB), wird hinzugegeben. Bei einer positiven Reaktion wandelt das durch CSA an die Vertiefung gebundene Enzym das Substrat in ein farbiges Reaktionsprodukt um. Die Farbentwicklung kann visuell oder mit einem Spektrophotometer ausgewertet werden. Bei einer negativen Reaktion ist kein oder nicht genügend CSA vorhanden, um das Enzymkonjugat an die Vertiefung zu binden, und es wird kein farbiges Reaktionsprodukt gebildet.


4. SYMBOLDEFINITIONEN

REF Katalognummer


IVD In-vitro-Diagnostikum

 Inhalt ausreichend für <n> Tests

 Gebrauchsanweisung beachten

 Temperaturbeschränkung (Lagertemp.)


LOT Chargennummer (Losnummer)

 Verwendbar bis (Verfallsdatum)

 Hersteller

DILUTED SAMPLE Verdünnte Probe

5. KITTETS INDHOLD, KLARGØRING TIL BRUG SAMT OPBEVARING

Der ProSpecT *Campylobacter*-Mikrotiterplatten-Assay enthält genügend Reagenzien für die Durchführung von  96 Tests.

Siehe auch die **Vorsichtsmaßnahmen** in Abschnitt 6.

Das Verfallsdatum des Kits ist auf dem Verpackungsetikett vermerkt.

Alle Komponenten bei 2 - 8 °C lagern.

Vor dem Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen und vorsichtig mischen. Unverbrauchte Reagenzien im Kühlschrank aufbewahren.

Mit Ausnahme des Waschpuffers werden die Reagenzien in der erforderlichen Konzentration geliefert. Die Reagenzien können direkt von den Tropfflaschen getropft oder zwecks Verwendung mit einer Mehrkanalpipette pipettiert werden. Zuviel ausgeschüttetes Reagenz muss entsorgt werden. Zuviel ausgeschüttetes Reagenz nicht wieder in die Flasche füllen.



Gebrauchsanweisung

Vollpipetten
Teststreifenhalterung und Abdeckung
Kurzanleitung

Mikrotiterplatte* (8 Vertiefungen/Streifen)

6 Streifen (R2476048) bzw. 12 Streifen (R2476096) beschichtet mit polyklonalen Anti-CSA-Antikörpern von Kaninchen. Unverbrauchte Teststreifen im Beutel mit

Trockenmittel lagern, um sie vor Feuchtigkeit zu schützen.

CONJUGATE

Enzymkonjugat*

Ein Tropfflasche mit 12 ml (R2476048) bzw. 25 ml (R2476096) meerrettich-peroxidase-markiertem, polyklonalem (Kaninchen) Anti-CSA mit antimikrobiellen Mitteln

CONTROL +

Positivkontrolle

Eine Tropfflasche mit 4 ml deaktivierter, überstehender *Campylobacter-jejuni*-Kulturflüssigkeit suspendiert in Pufferlösung mit Serum von Kälberföten und antimikrobiellen Mitteln

CONTROL -

Negativkontrolle

Eine Tropfflasche mit 4 ml gepufferter Lösung mit Kaninchenserum, rotem Farbstoff und antimikrobiellen Mitteln

SAMPLE DILUENT

Bakterienprobenverdünnung

Eine Flasche mit 120 ml einer Pufferlösung mit Kaninchenserum, rotem Farbstoff und antimikrobiellen Mitteln

WASH BUFFER (x10)

Waschpuffer

Eine Flasche mit 120 ml einer 10fach konzentrierten Pufferlösung mit antimikrobiellen Mitteln

Das 10fach-Waschpufferkonzentrat durch die Zugabe von 1 Teil Konzentrat auf 9 Teile destilliertes oder deionisiertes Wasser auf einfache Stärke verdünnen. Der verdünnte Waschpuffer ist bei Lagerung bei 2 - 8 °C einen Monat lang stabil.

SUBSTRATE TMB

Farbsubstrat

Eine Tropfflasche mit 12 ml (R2476048) bzw. 25 ml (R2476096) 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) in Puffer.

Das Farbsubstrat sollte in der lichtgeschützten Flasche, in der es geliefert wird, aufbewahrt und daraus ausgegeben werden. Wenn aus einem beliebigen Grund ein Aliquot aus der Flasche entnommen wird, das unbenutzte Farbsubstrat nicht wieder in die ursprüngliche Flasche füllen.

STOP SOLUTION

Stopplösung

Eine Tropfflasche mit 12 ml Schwefelsäure (0,46 mol/l)

***Hinweis:** Die Reagenzien von Kits verschiedener Chargennummern dürfen nicht vertauscht werden.

6. VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD

Reagenzien nur für den *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.

Nur für die professionelle Verwendung.

Informationen zu potenziell gefährlichen Komponenten dem Sicherheitsdatenblatt oder der Produktkennzeichnung entnehmen.

GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSMASSNAHMEN

6.1. Die Reagenzien werden aus Biomaterial hergestellt und müssen als potenziell infektiös gehandhabt werden. Die Entsorgung muss unter Einhaltung entsprechender Verfahren für infektiöses Material („Biohazard“) durchgeführt werden.

6.2. Nicht mit dem Mund pipettieren. Bei der Handhabung von Proben und der Durchführung des Tests Einweghandschuhe und Schutzbrille tragen. Danach die Hände gründlich waschen.

6.3. Die Proben können potenziell infektiöse Mittel enthalten und müssen unter Einhaltung der Sicherheitsstufe 2 („Biosafety Level 2“) entsprechend des CDC/NIH-Handbuchs „Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories“, 5. Ausgabe, gehandhabt werden.

6.4. Der Waschpuffer enthält Hautreizstoffe (< 1 % v/v). Hautkontakt vermeiden. Einweg-Schutzhandschuhe aus Vinyl oder Nitril tragen.

6.5. Den benutzten Waschpuffer in entsprechenden Behältern für infektiöses Material („Biohazard“) entsorgen.

ANALYTISCHE VORSICHTSMASSNAHMEN

6.6. Alle in dieser Gebrauchsanweisung enthaltenen Anweisungen sorgfältig durchlesen und befolgen.

6.7. Mit Ausnahme des Waschpufferkonzentrats werden alle Reagenzien in Arbeitskonzentration geliefert. Reagenzien nur verdünnen, wenn ausdrücklich angewiesen.

6.8. Nicht nach dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum verwenden. Die Verwendung von Reagenzien nach dem Verfallsdatum kann die Genauigkeit der Ergebnisse beeinträchtigen.

6.9. Die folgenden allgemeinen Reagenzien können in der ProSpecT-Serie produktübergreifend verwendet werden: Waschpuffer, Farbsubstrat und Stopplösung.

6.10. Durch eine mikrobielle Kontaminierung der Reagenzien kann die Testgenauigkeit vermindert werden. Beim Entnehmen von aliquoten Teilen aus den Reagenzflaschen sterile Einwegpipetten verwenden, um eine mikrobielle Kontaminierung der Reagenzien zu vermeiden.

6.11. Vor der Verwendung alle Reagenzien auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen.

6.12. Teststreifen im verschließbaren Beutel mit Trockenmittel lagern, um die Vertiefungen vor Feuchtigkeit zu schützen.

6.13. Die Stuhlproben müssen vor der Verarbeitung der Probe gründlich gemischt werden, um eine genaue Darstellung der Probe sicherzustellen. DIE PROBEN VOR DEM TEST NICHT KONZENTRIEREN.

6.14. Das Farbsubstrat ist lichtempfindlich. Wenn das Reagenz Licht ausgesetzt wird und Farbe entwickelt, muss es entsorgt werden.

6.15. Bediener, die an Farbenblindheit oder anderen Sehschwächen leiden, können das Testergebnis nicht visuell ablesen und müssen die Messergebnisse mithilfe des Spektrophotometers auswerten.

6.16. Reagenzien während des gesamten Verfahrens in der gleichen Reihenfolge in die Vertiefungen pipettieren. Die Flüssigkeit in den Vertiefungen nicht mit den Tropföffnungen berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.

6.17. Die Inkubationszeit genau einhalten. Nach dem Hinzufügen des Reagens in die letzte Vertiefung auf jeder zu testenden Mikrotiterplatte die Zeitmessung starten. Nie mehr als drei Platten mit jeweils 96 Vertiefungen gleichzeitig bearbeiten, um die genaue Zeitmessung sicherzustellen. Abweichungen von diesem Testverfahren können die Testergebnisse beeinträchtigen.

6.18. Es ist wichtig, dass die Tropfflasche senkrecht gehalten wird und der Tropfen sich an der Spitze bildet. Falls die Spitze nass wird, bildet sich ein Tropfen mit dem falschen Volumen um das Ende herum und nicht an der Spitze. In diesem Fall die Spitze vor dem Fortfahren trocknen.

7. GEWINNUNG VON STUHLPROBEN

Bei der direkten Bestimmung von Stuhlproben werden optimale Ergebnisse erzielt, wenn die Proben unmittelbar nach dem Eintreffen im Labor analysiert werden. Bei der in Bouillon angereicherten Bestimmung sollten die Stuhlproben unmittelbar nach dem Eintreffen im Labor zum Anreicherungsmedium hinzugeben werden.

FRISCH Unkonservierte Stuhlproben können bei 2 - 8 °C gelagert und innerhalb von 72 Stunden getestet werden.

Die Proben können im Verhältnis 1:3 mit Bakterienprobenverdünnung verdünnt und bei 2 - 8 °C für bis zu 72 Stunden bis zur Bestimmung aufbewahrt werden.

GEFROREN Stuhlproben sind bei -20 °C oder kälter zu lagern, wenn der Test nach mehr als 72 Stunden durchgeführt werden soll. Ein wiederholtes Auftauen ist zu vermeiden.

CARYBLAIR Stuhlproben in Cary-Blair-Transportmedium sollten bei 2 - 8 °C gelagert und innerhalb von einer Woche nach der Entnahme analysiert werden.

8. TESTVERFAHREN

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Siehe **Inhalt** in Abschnitt 5

ERFORDERLICHES, JEDOCH NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

- Behälter für die Entnahme von Stuhlproben
- Stoppuhr zum Messen von Minuten
- Waschflasche für Waschpuffer
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

OPTIONALE MATERIALIEN (NICHT MITGELIEFERT)

- Lesegerät für Mikrotiterplatten, das 450 nm oder 450/620 bis 650 nm messen kann
- Abstrichupfer mit Baumwoll- oder Rayonspitze
- Mikropipette für Volumen bis 200 µl
- Einwegröhrchen aus Kunststoff oder Glas
- Vortexmischer mit Plattenadapter oder Plattenschüttler

TESTVERFAHREN

8.1. **Probenvorbereitung für den Test:** Proben in Cary-Blair-Transportmedium können direkt zum Testen in die Vertiefungen gegeben werden (siehe Schritt 8.4 unten). Die Proben müssen vor dem Pipettieren in die Vertiefungen im Transportmedium gemischt werden.

Frische Stuhlproben oder in Bouillon angereicherte Kulturen verdünnen (siehe Tabelle **A** oder **B** unten).

A	Direkte Bestimmung frischer, unkonservierter Stuhlproben
1	0,6 ml Bakterienprobenverdünnung in ein sauberes Einwegröhrchen aus Kunststoff oder Glas geben.
2	Stuhlprobe so gründlich wie möglich vermischen.
3	Bei flüssigen oder halbflüssigen Stuhlproben ungefähr 0,3 ml (dritte Markierung von der Spitze der Pipette) mit einer Pipette hinzugeben. Probe in die Bakterienprobenverdünnung geben und durch einmaliges Einziehen und Ausgeben vermischen. Vollpipette in Röhrchen belassen.
4	Bei festen Proben 0,3 g (~6 mm Durchmesser) mit einem Abstrichupfer hinzugeben. Die Stuhlprobe mit dem Abstrichupfer in der Bakterienprobenverdünnung zu einer Emulsion verrühren. Die Vollpipette in das Röhrchen halten und den Inhalt des Röhrchens durch einmaliges Einziehen und Ausgeben vermischen. Vollpipette in Röhrchen belassen.
5	WEITER MIT SCHRITT 8.2

B	Verfahren für bouillon-angereicherte Proben
1	150 µl oder 3 Tropfen der Stuhlprobe in 5 ml GN-Bouillon (Hajna) geben.
2	Bei 35 °C +/- 2 °C unter Umgebungsbedingungen für 18 - 24 Stunden inkubieren.
3	0,6 ml Bakterienprobenverdünnung in ein sauberes Röhrchen (12 x 75 mm) geben.
4	Mit einer Pipette 0,3 ml Bouillonkultur in 0,6 ml Bakterienprobenverdünnung geben. Vollpipette in Röhrchen belassen.
5	WEITER MIT SCHRITT 8.2

- 8.2. Den Beutel öffnen, die erforderliche Anzahl Teststreifen entnehmen und in einen Teststreifenhalter geben. Eine Vertiefung für die Negativkontrolle und eine weitere für die Positivkontrolle verwenden. Wenn weniger als 8 Vertiefungen benötigt werden, die erforderliche Anzahl von Vertiefungen abbrechen und die nicht benötigten Vertiefungen wieder in den Beutel mit Trockenmittel geben. DEN BEUTEL WIEDER FEST VERSCHLIESSEN, UM DEN INHALT VOR FEUCHTIGKEIT ZU SCHÜTZEN UND IM KÜHLSCHRANK AUFBEWAHREN.
- 8.3. **4 Tropfen** (200 µl) Negativkontrolle in die Vertiefung A1 geben. **4 Tropfen** (200 µl) Positivkontrolle in die Vertiefung B1 geben.
- 8.4. Mit einer Vollpipette **4 Tropfen** der verdünnten Probe oder der angereicherten Bouillonkultur bzw. **4 Tropfen** der Probe in Transportmedium in jede Vertiefung geben. Hinweis: Die Öffnung der Pipetten etwas in die Vertiefungen halten, um Spritzer in die angrenzenden Vertiefungen zu vermeiden.
- 8.5. Die Mikrotiterplatte **abdecken** und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) **60 Minuten** lang inkubieren. Mit der Zeitmessung nach dem Hinzufügen der letzten Stuhlprobe beginnen.
- 8.6. Den Inhalt durch Schütteln oder Absaugen aus den Vertiefungen entfernen. Alle Vertiefungen mit **verdünntem** Waschpuffer (~350 bis 400 µl pro Vertiefung) gründlich waschen. Nach jedem Waschen alle Flüssigkeiten aus den Vertiefungen ausschütten oder aspirieren. Insgesamt **3 Mal** waschen. Nach dem

letzten Waschen den Inhalt ausschütten und Platte auf sauberen Papiertüchern ausklopfen oder aspirieren. So viel Waschpuffer wie möglich entfernen. Die Vertiefungen dürfen jedoch niemals vollkommen trocken sein.

- 8.7. Jeweils **4 Tropfen** (200 µl) Enzymkonjugat in die Vertiefungen geben.
- 8.8. Die Mikrotiterplatte **abdecken** und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) **30 Minuten** lang inkubieren.
- 8.9. Alle Vertiefungen **5 Mal** ausschütteln oder absaugen und waschen (siehe Schritt 8.6).
- 8.10. **4 Tropfen** (200 µl) Farbsubstrat in jede Vertiefung geben.
- 8.11. Die Mikrotiterplatte **abdecken** und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) **10 Minuten** lang inkubieren.
- 8.12. Jeweils **1 Tropfen** (50 µl) Stopplösung in die Vertiefungen geben. Vorsichtig auf die Vertiefungen klopfen oder diese in einem Vortexmischer mischen, bis ein gleichmäßig gelber Farbton entsteht. Die Reaktionen innerhalb von **10 Minuten** nach Zugabe der Stopplösung auswerten.
- 8.13. Reaktionen visuell oder bei 450 nm (eine Wellenlänge) oder 450/620 bis 650 nm (zwei Wellenlängen) spektrophotometrisch bestimmen.

9. QUALITÄTSKONTROLLE

Positiv- und Negativkontrollen müssen bei jeder Testdurchführung hinzugegeben werden. Sie dienen sowohl als Reagenzien als auch als Verfahrenskontrollen. Die Kontrollen sollen die Reagenzien auf erhebliche Fehler hin überwachen. Die Positivkontrolle ist nicht in der Lage, die Präzision am Cut-off-Wert zu gewährleisten.

Die optische Dichte (O.D.) der Negativkontrolle muss bei 450 nm < 0,100 oder bei 450/620 bis 650 nm < 0,070 betragen. Die Negativkontrolle sollte beim visuellen Ablesen farblos sein. Wenn in der Negativkontrolle eine gelbe Färbung vorliegt, die 1+ oder höher auf der Kurzanleitung entspricht, muss der Test unter genauer Einhaltung des Waschverfahrens wiederholt werden.

Die optische Dichte der Positivkontrolle muss bei 450 nm oder 450/620 bis 650 nm > 0,500 betragen. Visuell muss die Farbintensität in der Positivkontrolle größer oder gleich der 2+ Reaktion auf der Kurzanleitung sein. Ist die Farbe weniger intensiv, technische Unterstützung hinzuziehen.

10. ERGEBNISSE

Für die Farbauswertung die beiliegende Kurzanleitung einsehen.

VISUELL

- 10.1. Die Testergebnisse durch Vergleichen mit den Reaktionsfarben der Kurzanleitung ablesen.
- Positiv:** gelbe Färbung mit einer Intensität von mindestens 1+
- Negativ:** farblos
- Unbestimmt:** schwach gelb, weniger als 1+ Reaktion
- 10.2. Auswertung der visuellen Ergebnisse:
- Positiv:** Wenn sich eine gelbe Farbe mit einer Intensität von mindestens 1+ in der Testvertiefung entwickelt, enthält die Probe CSA und der Test ist positiv.
- Negativ:** Eine farblose Reaktion ist ein negatives Ergebnis und bedeutet, dass kein oder eine nicht messbare Konzentration an CSA in der getesteten Probe vorhanden ist.
- Unbestimmt:** Wenn sich eine schwach gelbe Färbung unter 1+ entwickelt, ist das Testergebnis unbestimmt. Unbestimmte Tests müssen wiederholt werden. Führt die

Wiederholung des Tests zu einem positiven Ergebnis, wird die Probe als positiv gewertet. Ist die Wiederholung des Tests jedoch negativ, wird die Probe als negativ gewertet. Ist ein wiederholter Test weiterhin unbestimmt, sollte eine andere Probe genommen und der Test wiederholt werden.

SPEKTROPHOTOMETRISCH

- 10.3. Das Ergebnis entweder bei einer Wellenlänge (450 nm) oder bei zwei Wellenlängen (450/620 bis 650 nm) am Spektrophotometer ablesen.
- 10.4. Ablesen der Testergebnisse:
- | A. Eine Wellenlänge | Frischer Stuhl | Transportmedium/
Bouillon |
|---------------------|------------------|------------------------------|
| Negativ: | OD < 0,130 | < 0,100 |
| Unbestimmt: | OD 0,130 - 0,170 | 0,100 - 0,130 |
| Positiv: | OD > 0,170 | > 0,130 |
- | B. Zwei Wellenlängen | Frischer Stuhl | Transportmedium/
Bouillon |
|----------------------|------------------|------------------------------|
| Negativ: | OD < 0,100 | < 0,070 |
| Unbestimmt: | OD 0,100 - 0,140 | 0,070 - 0,100 |
| Positiv: | OD > 0,140 | > 0,100 |
- 10.5. Auswertung der spektrophotometrischen Ergebnisse:

Positiv: Eine optische Dichte, die für den entsprechenden Probentyp über dem Cut-Off-Wert für eine bzw. zwei Wellenlängen liegt, ist positiv und bedeutet, dass CSA vorliegt.

Negativ: Eine optische Dichte, die für den entsprechenden Probentyp unter dem Cut-Off-Wert für eine bzw. zwei Wellenlängen liegt, stellt ein negatives Ergebnis dar und bedeutet, dass in der getesteten Probe kein oder eine nicht nachweisbare Konzentration von CSA vorliegt.

Unbestimmt: Optische Dichten, die für den entsprechenden Probentyp im Bereich eines unbestimmten Testausgangs liegen, stellen ein unbestimmtes Testergebnis dar. Unbestimmte Tests müssen wiederholt werden. Führt die Wiederholung des Tests zu einem positiven Ergebnis, wird die Probe als positiv gewertet. Ist die Wiederholung des Tests jedoch negativ, wird die Probe als negativ gewertet. Ist ein wiederholter Test weiterhin unbestimmt, sollte eine andere Probe genommen und der Test wiederholt werden.

Ein unbestimmter Testausgang liegt vor, wenn die Ergebnisse der visuellen und der spektrophotometrischen Auswertung übereinstimmen. Unbestimmte Tests müssen wiederholt werden. Führt die Wiederholung des Tests zu einem positiven Ergebnis, wird die Probe als positiv gewertet. Ist die Wiederholung des Tests jedoch negativ, wird die Probe als negativ gewertet. Ist ein wiederholter Test weiterhin unbestimmt, sollte eine andere Probe genommen und der Test wiederholt werden.

Hinweis: Alle Vertiefungen, die transparent aussehen, aber eine optische Dichte haben, die mit der visuellen Auswertung nicht übereinstimmt, sind als abweichende Werte zu betrachten. Die Vertiefung sollte auf Blasen, kleine Partikel oder einen undurchsichtigen Film auf dem Boden der Vertiefung untersucht werden. Zum Entfernen des Films die Unterseite der Vertiefungen abwischen und die optische Dichte erneut ablesen. Wenn die Diskrepanz zwischen visuellen und spektrophotometrischen Werten fortbesteht, den Test wiederholen.

11. GRENZEN DER METHODE

Die Gültigkeit der Ergebnisse, die mit dem ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assay erhalten werden, hängt vom Verlauf der Kontrollreaktion ab. Siehe **Qualitätskontrolle** in Abschnitt 9.

Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit des Vorhandenseins von Campylobacter nicht aus. Dieser Fall kann eintreten, wenn die Antigenkonzentration in der Probe unterhalb des messbaren Bereichs des Tests liegt. Eine Korrelation zwischen der Antigenmenge in einer Probe und der klinischen Darstellung konnte nicht nachgewiesen werden.

Wie bei allen diagnostischen In-vitro-Tests sind die Ergebnisse zusammen mit den klinischen Befunden und/oder anderen Labortests zu interpretieren.

Die korrekte Gewinnung und Verarbeitung der Stuhlproben sind für die optimale Testdurchführung von größter Bedeutung. Optimale Testergebnisse werden für Stuhlproben erhalten, die möglichst bald nach der Entnahme getestet werden. Siehe **Gewinnung von Stuhlproben** in Abschnitt 7.

Der ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assay differenziert nicht zwischen *C. jejuni* und *C. coli*. Darüber hinaus gibt es andere Serotypen und Subspezies, die u. U. nachweisbar sind. Es ist nicht bekannt, ob zwischen *C. upsalensis*, *C. hyointestinalis* oder *C. helveticus* eine Kreuzreaktivität besteht.

12. ERWARTETE WERTE

Campylobacter jejuni ist für bakterielle Durchfallerkrankungen in den USA hauptverantwortlich. Die Infektionsrate ist im Zeitraum von Sommer bis Herbst am höchsten⁵. Die Infektionen werden gewöhnlich durch die Aufnahme von kontaminierten Lebensmitteln oder Wasser verursacht. Bei Prüfungen von Geflügelproben aus dem Handel wurden Kontaminationsraten von 30 bis 90 % ermittelt⁶. *C. jejuni* ist in der Tierwelt weit verbreitet. Es wurde bei einer Reihe von Haustieren, Geflügel und praktisch allen wild lebenden Vogelarten isoliert. Eine Übertragung durch sexuellen Kontakt, durch fäkal-orale Übertragungsmechanismen und durch das Trinken von kontaminiertem Wasser wurde berichtet⁵. Kinder unter 5 Jahren und junge Erwachsene (15 - 29) sind häufiger betroffen als andere Altersgruppen. Eine kürzlich vom College of American Pathologists durchgeführte Studie, an der 601 Institute teilnahmen, hat gezeigt, dass in 6,4 % der 59.500 genommenen Proben bakterielle Krankheitserreger vorlagen⁷. *Campylobacter* wurde in 1,5 % der Proben, Salmonella in 1,15 % und Shigella in 0,9 % der Proben gefunden. Die Prävalenzraten lagen in den USA für *C. jejuni* bei 1,0 bis 4,6 %⁸. In einer in der Schweiz über einen Zeitraum von 4 Jahren durchgeführten Studie wurden sogar Raten bis 2,9 % gefunden⁸.

13. LEISTUNGSDATEN

SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Der ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assay wurde an drei geographisch unterschiedlich gelegenen klinischen Instituten in den USA und in Kanada untersucht, an einem städtischen Krankenhaus in Illinois, einem großen Referenzlabor in New Jersey und einem zentralen Prüflabor in Ontario, Kanada. Alle Proben wurden nach Kultur und biochemischen Assays analysiert, um ein positives, auf *Campylobacter* getestetes Isolat zu bestätigen. In Tabelle 1 sind die Ergebnisse aller Studienzentren aufgeführt. Unbestimmte und abweichende Tests wurden dabei gemäß der hier beschriebenen Gebrauchsanweisungen wiederholt.

Tabelle 1. Vergleich des ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assays mit Kulturverfahren zur direkten Bestimmung von Stuhlproben

		ZENTRUM 1 KULTURERGEBNISSE		
		+	-	
ProSpecT	+	70	6	
Mikrotiterplatte	-	0	337	
Assay		70	343	413

Sensitivität: 100 %
Spezifität: 98,3 %

		ZENTRUM 2 KULTURERGEBNISSE		
		+	-	
ProSpecT	+	10	0	
Mikrotiterplatte	-	0	214	
Assay		10	214	224

Sensitivität: 100 %
Spezifität: 100 %

		ZENTRUM 3 KULTURERGEBNISSE		
		+	-	
ProSpecT	+	49	2	
Mikrotiterplatte	-	0	361	
Assay		49	363	412

Sensitivität: 100 %
Spezifität: 99,4 %

Tabelle 2: Ergebnisse der direkten Bestimmung von Stuhlproben mit den zusammengeführten Daten von drei klinischen Zentren

		Direkt		
		+	-	
ProSpecT	+	129	8	
Mikrotiterplatte	-	0	912	
Assay		129	920	1049

Sensitivität: 100 % (97,2 - 100 %)
Spezifität: 99,1 % (98,3 - 99,6 %)
Korrelation: 99,2 % (98,5 - 99,7 %)

Wie in Tabelle 2 verdeutlicht ist, bestand zwischen den Ergebnissen des ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assays und denen des Kulturverfahrens eine Korrelation von 99,2 %, wenn die Ergebnisse von allen drei Zentren zusammengeführt und hinsichtlich unbestimmter und abweichender Tests bereinigt werden. Alle abweichenden EIA-Ergebnisse wurden nach der Wiederholung der Tests als negativ bereinigt. Eine Probe führte beim Assay (EIA) zu einem positiven und beim Kulturverfahren zu einem negativen Ergebnis. Nach der Testwiederholung war die Kultur positiv und wurde als richtig positiv gewertet. Von den verbleibenden 8 Proben mit positiven EIA und negativen Kulturergebnissen war eine Probe nach der EIA-Wiederholung negativ. Die anderen 7 Proben waren auch nach der Wiederholung positiv.

In Zentrum 2 wurden alle Proben neben der direkten Assay-Bestimmung der Stuhlproben auch in GN-Bouillon (Hajna) übernacht bei 35 °C +/- 2 °C unter Umgebungsbedingungen angereichert. Die angereicherte Kultur wurde dann mit dem ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assay analysiert und mit dem Stuhlkultur-Standardverfahren verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3. Vergleich des ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assays mit dem Kulturverfahren für in Bouillon angereicherte Stuhlproben

		ZENTRUM 2 KULTURERGEBNISSE		
		+	-	
ProSpecT	+	9	0	
Mikrotiterplatte	-	1	214	
Assay		10	214	224

Sensitivität: 90,0 % (55,5 - 99,9 %)
Spezifität: 100 % (98,3 - 100 %)
Korrelation: 99,6 % (97,5 - 100 %)

Gemäß Tabelle 3 besteht zwischen dem ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assay und der Kultur eine Korrelation von 99,6 %, nachdem die Proben in GN-Bouillon (Hajana) angereichert und alle abweichenden Ergebnisse bereinigt wurden. Alle unbestimmten und abweichenden EIA-Ergebnisse wurden nach der Wiederholung der Tests als negativ bereinigt.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Mit dem ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assay können ungefähr 2,81 ng/ml Campylobacter-spezifisches Antigen (CSA) und ungefähr 10⁵ KBE/ml nachgewiesen werden.

REPRODUZIERBARKEIT

Der Inter-Assay-Variationskoeffizient (VK, Lauf zu Lauf) des ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assays wurde ermittelt, indem eine negative und drei positive Proben mit unterschiedlichen optischen Dichten ausgewählt wurden. Jede Probe wurde in drei aufeinanderfolgenden Läufen in 22 bis 24 Vertiefungen pro Lauf getestet. Der durchschnittliche Inter-Assay-Variationskoeffizient betrug 11,4 %.

Probe	Mittlere OD	Standardabweichung	VK (%)
1	1,325	0,033	9,6 %
2	0,535	0,070	13,1 %
3	0,342	0,050	14,6 %
4	0,045	0,004	8,4 %

Intra-assay oder inden-for-kørsel CV blev evalueret ved at analysere 22-24 brønde med hver 4 prøver. Den gennemsnitlige intra-assay CV var 4,0%.

Probe	Mittlere OD	Standardabweichung	VK (%)
1	1,268	0,033	2,61 %
2	0,501	0,015	2,95 %
3	0,320	0,009	2,84 %
4	0,047	0,004	7,70 %

KREUZREAKTIVITÄT

Beim Testen von einer Reihe von Organismen humaner Darmmikroflora mit dem ProSpecT Campylobacter-Mikrotiterplatten-Assay trat keine Kreuzreaktivität auf. Bei diesen Tests wurden die unten aufgeführten Organismen in negative und positive *Campylobacter-jejuni*-Stuhlproben eingimpft. Die Impfung der Stuhlproben mit den Bakterien wurde bei Konzentrationen > 1 x 10⁷ KBE/ml durchgeführt.

Arcobacter butzleri ATCC® 49616
Campylobacter curvis ATCC® 35224
Campylobacter fetus ATCC® 19438
Campylobacter lari ATCC® 35221
Campylobacter rectus ATCC® 33238
Campylobacter sputorum ATCC® 35980
Citrobacter braakii ATCC® 43162

Escherichia coli, EHEC, ATCC® 43890 (O157:H7)
Escherichia coli, EIEC, ATCC® 43893 (O124:NM)
Escherichia coli, EPEC, ATCC® 12014 (O55:NM)
Escherichia coli, EPEC, ATCC® 33780 (O111:NM)
Escherichia coli, ETEC/EPEC, ATCC® 43887 (O111:NM)
Escherichia coli, Stx negative, ATCC® 25922
Escherichia hermannii ATCC® 33660
Enterobacter cloacae ATCC® 13047
Enterococcus faecalis ATCC® 49149
Helicobacter cinaedi ATCC® 35683
Helicobacter pylori ATCC® 43504
Klebsiella pneumoniae ATCC® 27736
Proteus vulgaris ATCC® 33420
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Salmonella typhimurium SA 972229
Serratia liquefaciens ATCC® 27592
Shigella dysenteriae ATCC® 49347
Shigella flexneri ATCC® 25929
Shigella sonnei ATCC® 25931
Staphylococcus aureus ATCC® 25923
Yersinia enterocolitica ATCC® 23715

14. LITERATURVERWEISE

- Guerrant, R.L. and D.A. Bobak. 1991.**
Review Article, Medical Progress, Bacterial and Protozoal Gastroenteritis. N. Engl. J. Med. 325(5): 327-340.
- Mitchell, J.E. and M.M. Skelton. 1988.**
Diarrhoeal Infections. Am. Fam. Phys. May 37(5): 195-207.
- Guerrant, R.L., et al. 1985.**
Evaluation and Diagnosis of Acute Infectious Diarrhoea. Am. J. Med. 78(6B): 91-98.
- Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook, Campylobacter jejuni. 1992.**
Bad Bug Book, <http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/chap4.htm>.
- Cohen, M.L., 1988.**
The Epidemiology of Diarrhoeal Disease in the United States Infectious Diarrhoea, Division of Bacterial Disease, CDC, 557-570.
- Gilligan, P.H., et al, April 1992.**
Laboratory Diagnosis of Bacterial Diarrhoea. ASM, Cumitech 12A: 8-10.
- Valenstein, P., et al, 1996.**
The Use and Abuse of Routine Stool Microbiology. Arch. Pathol. Lab. Med., 120: 206-211.
- Rohner, P., et al, 1997.**
Etiological Agents of Infectious Diarrhoea: Implications for Requests for Microbial Culture. J. Clin. Microbiol. 35(6): 1427-1432.
- Williams, E.K., 1986.**
Acute Infectious Diarrhoea. II. Diagnosis, Treatment and Prevention. Pediatr. Infect. Dis. 5(4): 458-465.

ProSpecT ist eine eingetragene Marke.

ATCC® ist eine eingetragene Marke von American Type Culture Collection.



Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24
8PW, GB

Für technische Unterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren
Händler.

IFU X7595A Überarbeitet Dezember 2012