

RIDASCREEN[®] Campylobacter

Art. No.: C2401



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 RIDASCREEN® Campylobacter ist ein Enzymimmunoassay zum qualitativen Nachweis von Antigenen von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* in humanen 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-SCREEN® Campylobacter ELISA, der spezifisches *Campylobacter*-Antigen in der Stuhlprobe auch dann noch erfasst, wenn die Erreger schon nicht mehr anzüchtbar sind.

3. Testprinzip

Im RIDASCREEN® Campylobacter-Test werden monoklonale Antikörper in einem Sandwich-Verfahren eingesetzt. An der Oberfläche der Vertiefung der Mikrotiterplatte sind monoklonale Antikörper gegen *Campylobacter*-Antigene gebunden.

Eine Suspension der zu untersuchenden Stuhlprobe sowie die Kontrollen werden zusammen mit biotinylierten Anti-*Campylobacter*-Antikörpern (Konjugat 1) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C)

zur Inkubation in die Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach einem Waschschrift wird Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugat (Konjugat 2) dazu gegeben und erneut bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert. Bei Anwesenheit von *Campylobacter*-Antigenen in der Probe bildet sich ein Sandwich-Komplex aus immobilisierten Antikörpern, Antigenen und konjugierten Antikörpern. Nicht gebundenes Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugat wird in einem weiteren Waschschrift entfernt. Nach der Zugabe von Substrat wandelt gebundenes Enzym bei positiven Proben die farblose Lösung in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte in eine blaue Lösung um. Durch Zugabe von Stopp-Reagenz erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Extinktion ist proportional zur Konzentration der in der Probe vorhandenen Menge an *Campylobacter*-Antigenen.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 96 Bestimmungen

Plate	96 Best. Mikrotiterplatte, 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit spezifischen monoklonalen Antikörpern gegen Antigene von <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>Campylobacter coli</i>
Diluent 1	100 ml Probenverdünnungspuffer, Protein gepufferte NaCl-Lösung; gebrauchsfertig; blau gefärbt
Wash	100 ml Waschpuffer, Phosphat-gepufferte NaCl-Lösung (10fach konz.); enthält 0,1 % Thimerosal
Control +	2 ml Positivkontrolle; inaktiviertes <i>Campylobacter</i> -Antigen; gebrauchsfertig
Control -	2 ml Negativkontrolle (Probenverdünnungspuffer); gebrauchsfertig
Conjugate 1	13 ml Biotin-konjugierte monoklonale Antikörper gegen <i>Campylobacter jejuni</i> und <i>C. coli</i> in stabilisierter Proteinlösung; gebrauchsfertig; blau gefärbt
Conjugate 2	13 ml Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugat in stabilisierter Proteinlösung; gebrauchsfertig; orange gefärbt
Substrate	13 ml Wasserstoffperoxid/TMB; gebrauchsfertig
Stop	12 ml Stopp-Reagenz; 1 N Schwefelsäure; gebrauchsfertig

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Alle Reagenzien sind bei 2 - 8 °C zu lagern und bis zu dem auf den Etiketten aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von

2 - 8 °C 4 Wochen haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfalldatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Der Alu-Beutel ist mit einer Schere so zu öffnen, dass der Klippverschluss nicht abgetrennt wird. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sind im verschlossenen Alu-Beutel sofort wieder bei 2 - 8 °C zu lagern.

Eine direkte Lichteinwirkung auf das farblose Substrat ist zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Blaufärbung durch Autooxidation vorzubeugen. Bei aufgetretener Blaufärbung kann das Substrat nicht mehr verwendet werden.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

6.1. Reagenzien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2. Zubehör

- Probenröhrchen
- Einwegpipetten (Art. Nr.: Z0001)
- Vortex Mixer (optional, siehe 9.3.)
- Mikropipette für 50 – 100 µl und 1 ml Volumina
- Messzylinder (1000 ml)
- Stoppuhr
- Waschgerät für Mikrotiterplatten oder Mehrkanalpipette (300 µl)
- Photometer für Mikrotiterplatten (450 nm, Referenzfilter 620 - 650 nm)
- Filterpapier (Labortücher)
- Abfallbehälter mit 0,5 % 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.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Proben persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Weitere Details siehe Material Safety Data Sheets (MSDS) www.r-biopharm.com.

Die im Kit befindliche Positivkontrolle enthält inaktiviertes *Campylobacter*-Antigen. Sie sollte, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös gemäß den nationalen Sicherheits-

bestimmungen behandelt werden.

Der Waschpuffer enthält als Konservierungsmittel 0,1% Thimerosal. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Das Untersuchungsmaterial ist bis zur Verarbeitung bei 2 - 8 °C zu lagern. Kann das Material nicht innerhalb von 3 Tagen im Test eingesetzt werden, wird eine Lagerung bei -20 °C oder kälter empfohlen. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden. Eine im Probenverdünnungspuffer 1:11 verdünnte Stuhlprobe ist bei 4 °C bis zu 7 Tagen haltbar.

Stuhlproben oder Rektalabstriche sollten nicht in Transportbehältern gesammelt werden, die Transportmedien mit Konservierungsstoffen, tierischen Seren, Metall-Ionen, oxidierenden Agenzien oder Detergenzien enthalten, da Interferenzen mit dem RIDASCREEN® Campylobacter-Test auftreten können.

Stuhlproben, die in handelsüblichen Transportmedien (Cary Blair, Amies) können im RIDASCREEN® Campylobacter ELISA verwendet werden. Dabei muss jedoch die dadurch bedingte Vorverdünnung der Probe berücksichtigt werden. Die Endverdünnung der Stuhlprobe im Diluent 1 soll möglichst genau bei 1:11 liegen.

Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 100 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

Bei Umgebungsuntersuchungen sollten auch Stuhlproben von klinisch unauffälligen Kontaktpersonen genommen werden, um asymptomatische Träger zu identifizieren.

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien und die Mikrotiterplatte Plate auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Die Mikrotiterstreifen sind erst nach Erreichen der Raumtemperatur dem Alu-Beutel zu entnehmen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch sind die Mikrotiterstreifen (im verschlossenen Beutel) und die Reagenzien wieder bei 2 - 8 °C zu lagern. Einmal benutzte Mikrotiterstreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Reagenzien und Mikrotiterstreifen dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

Ein direkter Kontakt von Proben mit den Kitkomponenten ist zur Vermeidung von Kreuzkontamination zu vermeiden.

Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung sollte vermieden werden. Es wird empfohlen, die Mikrotiterplatte zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten abzudecken oder abzukleben.

9.2. Herstellung des Waschpuffers

1 Teil des Waschpuffer-Konzentrates **Wash** wird mit 9 Teilen destilliertem Wasser gemischt. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle sind vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) zu lösen.

9.3. Vorbereitung der Proben

In ein gekennzeichnetes Teströhrchen wird 1 ml RIDASCREEN® Probenverdünnungspuffer **Diluent | 1** vorgelegt. Flüssiger Stuhl wird in eine Einwegpipette (Art. Nr. Z0001) bis kurz oberhalb der zweiten Verdickung aufgesaugt (ca. 100 µl) und im vorgelegten Puffer suspendiert. Bei festem Stuhl wird eine äquivalente Menge Stuhl (ca. 50 - 100 mg) mit einem Spatel oder einer Einweg-Impföse entnommen und suspendiert.

Das Homogenisieren der Stuhlsuspension erfolgt entweder durch Aufsaugen und Ausstoßen mit der Einwegpipette oder alternativ durch Mischen auf einem Vortexmixer.

Nach kurzem Stehenlassen zur Sedimentation grober Stuhlpartikel kann der auf diese Weise geklärte Überstand der Stuhlsuspension direkt im Test eingesetzt werden. Erfolgt die Testdurchführung in einem Elisa-Automaten muss dieser Überstand partikelfrei sein. In diesem Fall empfiehlt sich eine Zentrifugation bei 2500 G für 5 Minuten.

Hinweis:

Die im **Diluent | 1** verdünnten Stuhlproben können auch in allen anderen RIDASCREEN® ELISA eingesetzt werden, die ebenfalls das **Diluent | 1** verwenden.

9.4. Erste Inkubation

Nach dem Einstecken einer ausreichenden Zahl von Kavitäten in den Halterahmen erfolgt die Zugabe von 100 µl der Positivkontrolle **Control | +**, der Negativkontrolle **Control | -** oder der Stuhlprobensuspension (oder gegebenenfalls des Überstandes der Kolonie-Suspension) in die Vertiefungen. Anschließend werden 100 µl des Biotin-konjugierten Antikörpers **Conjugate | 1** zugegeben und nach Durchmischung (leichtes Tippen an den Plattenrand) für 60 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert.

9.5. Waschen

Sorgfältiges Waschen ist wichtig zur Erzielung korrekter Ergebnisse und sollte daher strikt nach Anleitung erfolgen. Das Inkubat in den Kavitäten sollte zunächst in einen Abfallbehälter entleert und gemäß den behördlichen Vorschriften entsorgt werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wird 5mal mit jeweils 300 µl Waschpuffer gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

Bei der Verwendung von Waschautomaten oder ELISA-Vollautomaten ist die korrekte Einstellung des Gerätes zu beachten bzw. beim Hersteller zu erfragen. Geräte, die R-Biopharm

liefert, sind bereits mit validierten Einstellungen und Arbeitsprotokollen programmiert. Um Verstopfungen von Waschnadeln zu vermeiden sollten gemäß der Probenvorbereitung (Punkt 9.3.) nur partikelfreie Stuhlsuspensionen eingesetzt werden. Bei den Waschschriften muss auf ein komplettes Absaugen der Flüssigkeit geachtet werden.

9.6. Zweite Inkubation

100 µl des Streptavidin-Poly-HRP-Konjugates **Conjugate | 2** werden in die Kavitäten pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert.

9.7. Waschen

Waschen gemäß Punkt 9.5.

9.8. Dritte Inkubation

Zugabe von 100 µl Substrat **Substrate** in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 15 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubiert. Danach wird durch Zugabe von 50 µl Stopp-Reagenz **Stop** in alle Vertiefungen die Reaktion gestoppt. Nach vorsichtigem Mischen (leichtes Tippen an den Plattenrand) wird die Extinktion bei 450 nm gemessen (optional: 450/620 nm). Der Abgleich des Nullwertes sollte gegen Luft -also ohne Mikrotiterplatte- erfolgen.

Hinweis:

Hoch positive Patientenproben können schwärzliche Präzipitate des Substrates verursachen.

9.9. Verkürztes Testprotokoll

Die unter Pkt. 9.4, und 9.6 beschriebenen Inkubationszeiten können deutlich verkürzt werden, wenn die Platte bei 37 °C und einer Schüttelfrequenz von 20 - 25 Hz. (DSX®, Fa. Dynex) inkubiert wird. Die Inkubationszeiten ändern sich dann wie folgt:

1. Inkubation: 30 min
2. Inkubation: 15 min
3. Inkubation: 15 min

Es eignen sich auch separate Mikrotiterplatten-Schüttler wie der Thermomixer von Eppendorf (Frequenzeinstellung: 850 rpm) oder auch der DTS 2 von LTF-Labortechnik (Frequenzeinstellung 800 rpm).

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Für die Qualitätskontrolle sind bei jeder Testdurchführung Positiv- und Negativkontrolle mitzuführen, um Reagenzien-Stabilität und korrekte Testdurchführung sicherzustellen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn der Extinktionswert (O.D.) der Negativkontrolle bei 450 nm kleiner 0,2 (kleiner 0,160 bei 450/620 nm) und der gemessene Wert der Positivkontrolle bei 450 nm oder

bei 450/620 nm größer 0,8 ist. Ist der Wert der Negativkontrolle größer 0,2 (0,160) kann dies ein Zeichen für ungenügendes Waschen sein. Eine Abweichung von den geforderten Werten kann ebenso wie eine Trübung oder Blaufärbung des farblosen Substrates vor Zugabe in die Kavitäten ein Hinweis auf einen Reagenzienverfall sein. Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläuliche verfärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

Sind bei Wiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributor.

11. Auswertung und Interpretation

11.1. Berechnung des Grenzwertes

Zur Festlegung des Grenzwertes werden zu der gemessenen Extinktion der Negativkontrolle 0,15 Extinktionseinheiten hinzuaddiert.

$$\text{Cut-off} = \text{Extinktionswert der Negativkontrolle} + 0,15$$

11.2. Testergebnis

Als positiv werden solche Proben beurteilt, deren Extinktionswert mehr als 10 % über dem errechneten Grenzwert liegt.

Als grenzwertig und zu wiederholen werden solche Proben bezeichnet, deren Extinktionswert im Bereich von 10 % oberhalb und unterhalb des Grenzwertes liegt. Fällt eine Wiederholungsuntersuchung mit einer frischen Stuhlprobe wieder in den Graubereich, so ist die Probe als negativ zu beurteilen.

Proben, die mehr als 10 % unter dem errechneten Grenzwert liegen, sind als negativ zu bewerten.

12. Grenzen der Methode

Der RIDASCREEN® Campylobacter-Test weist Antigene von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* in Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe eines ermittelten Extinktionswertes 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 nicht aus.

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

Ein grenzwertiges Ergebnis kann durch eine inhomogene Verteilung des Antigens in der Stuhlprobe verursacht werden. Deshalb sollte in einem solchen Fall eine zweite Suspension aus der gleichen Probe untersucht werden oder eine weitere Stuhlprobe zur Untersuchung angefordert werden.

13. Leistungsmerkmale

13.1 Testqualität

Die Leistungsfähigkeit des RIDASCREEN® Campylobacter ELISA 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 RIDASCREEN® Campylobacter Elisa getestet. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle 1 zusammengefasst.

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

		Kultur (CCDA)	
		positiv	negativ
RIDASCREEN® Campylobacter	positiv	61	4
	negativ	2	507

Sensitivität: 96,8 %

Spezifität: 99,2 %

PPW: 93,8 %

NPW: 99,6 %

13.2 Analytische Sensitivität

Die analytische Nachweisgrenze wurde für *C.jejuni* und *C.coli* getrennt ermittelt. Sie beschreibt die niedrigste Keimkonzentration, die im RIDASCREEN® Campylobacter ELISA noch als positiv (> 10 % über errechnetem Cut-off) gemessen werden kann. Sie wurde aus 90-fachem Ansatz (CI ≥ 95 %) ermittelt und beträgt für *Campylobacter jejuni* $1,9 \times 10^4$ KBE/ml und für *Campylobacter coli* $1,1 \times 10^6$ KBE/ml.

13.3 Kreuzreaktivität

Verschiedene pathogene Keime des Intestinaltraktes wurden mit dem RIDASCREEN®

Campylobacter ELISA untersucht und zeigten keine Kreuzreaktivität. Durchgeführt wurden die Untersuchungen mit Bakteriensuspensionen (10^6 bis 10^9 KBE/ml), mit Parasitenkulturen (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 *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* reagierte keiner der getesteten Organismen im RIDASCREEN® Campylobacter ELISA.

Tab. 2: Kreuzreaktionen mit pathogenen Keimen des Intestinaltraktes

Testkeim	Herkunft/Quelle	[OD 450]
<i>Adenovirus</i>	Infektiöser Kulturüberstand	0.086
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Kultur	0.081
<i>Astrovirus</i>	Infektiöser Kulturüberstand	0.068
<i>Bacillus cereus</i>	Kultur	0.070
<i>Bacteroides fragilis</i>	Kultur	0.067
<i>Campylobacter coli</i>	Kultur	2.007
<i>Campylobacter fetus</i>	Kultur	0.066
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kultur	3.622
<i>Campylobacter lari</i>	Kultur	0.074
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Kultur	0.073
<i>Candida albicans</i>	Kultur	0.062
<i>Citrobacter freundii</i>	Kultur	0.063
<i>Clostridium difficile</i>	Kultur	0.055
<i>Clostridium perfringens</i>	Kultur	0.055
<i>Clostridium sordellii</i>	Kultur	0.060
<i>Cryptosporidium muris</i>	Kultur	0.062
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kultur	0.060
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Kultur	0.058
<i>E. coli</i> (O6)	Kultur	0.054
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Kultur	0.054
<i>Enterobacter cloace</i>	Kultur	0.053
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kultur	0.059
<i>Giardia lamblia</i> Probe	Stuhlprobe	0.078
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Kultur	0.057
<i>Proteus vulgaris</i>	Kultur	0.054
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kultur	0.056

<i>Rotavirus</i>	Infektiöser Kulturüberstand	0.066
<i>Salmonella enteritidis</i>	Kultur	0.046
<i>Salmonella typhimurium</i>	Kultur	0.050
<i>Serratia liquefaciens</i>	Kultur	0.047
<i>Shigella flexneri</i>	Kultur	0.048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultur	0.051
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultur	0.052
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Kultur	0.053
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Kultur	0.046

13.4 Präzision

Zur Ermittlung der Testgenauigkeit kamen 6 Proben zum Einsatz, die jeweils einen definierten Extinktionsbereich (OD) über den gesamten Messbereich des Tests abdecken. Die Tabelle 3 zeigt eine Übersicht über das jeweilige OD-Spektrum der Proben.

Tab. 3: Extinktionsbereich der Proben

Proben	OD- Bereich
Probe 1	1.387 - 2.575
Probe 2	0.946 - 1.758
Probe 3	0.693 - 1.287
Probe 4	0.470 - 0.874
Probe 5	0.370 - 0.686
Probe 6	0.281 - 0.523

Die Reproduzierbarkeit des RIDASCREEN® Campylobacter ELISA wurde mit den aufgelisteten sechs Proben durchgeführt, die den gesamten Messbereich von schwach positiv bis hoch positiv abdecken. Zur Bestimmung der Intra-Assay Reproduzierbarkeit wurden 39 Replikate dieser Referenzen gemessen. Die Mittelwerte und die Variations-Koeffizienten (VK) wurden für 3 Kit Lots ermittelt. Für die Inter-Assay Reproduzierbarkeit wurden die Proben an 10 aufeinanderfolgenden Arbeitstagen mit 2 Läufen am Tag in Duplikaten gemessen. Die Messungen wurden mit 3 Kitlots und von 3 Technikern durchgeführt. Die Inter-Lot Reproduzierbarkeit wurde über alle 3 Kitlots ermittelt. Die ermittelten Daten sind in der nachfolgenden Tabelle 4 zusammengefasst.

Tab.4: Mittelwerte und Variationskoeffizienten der 6 Referenzen

Proben Mittelwert / VK	Intra-Assay			Inter-Assay			Inter-Lot
	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3
Probe 1	1.625 / 7.18%	2.487 / 4.33%	2.269 / 5.94%	1.993/ 12.17%	2.188 / 13.46%	2.273 / 12.80%	2.151/ 14.24%
Probe 2	1.085 / 7,79%	1.588 / 5.78%	1.444 / 5.33%	1.389 / 15.88%	1.551/ 13.84%	1.619 / 13.93%	1.519 / 16.17%
Probe 3	0.779/ 6.71%	1.149 / 6.90%	1.171 / 5.51%	0.977 / 11.02%	1.095 / 13.28%	1.166 / 16.34%	1.079 / 16.32%
Probe 4	0.539/ 6.18%	0.710 / 6.27%	0.707 / 6.91%	0.638 / 12.46%	0.689/ 15.74%	0.804 / 17.27%	0.710 / 19.50%
Probe 5	0.397 / 9.27%	0.543/ 4.95%	0.710 / 5.45%	0.483/ 15.50%	0.541 / 17.52%	0.624/ 17.96%	0.549 / 21.24%
Probe 6	0.272 / 11.76%	0.391/ 5.89%	0.478 / 10.03%	0.381 / 19.99%	0.417 / 16.87%	0.469 / 21.18%	0.422 / 21.87%

14. Interferierende Substanzen

Die nachfolgend aufgeführten Substanzen zeigten keinen signifikanten Effekt auf die Testergebnisse, wenn sie in Campylobacter-positive und Campylobacter-negative Stuhl-proben in den angegebenen Konzentrationen eingemischt wurden:

Bariumsulfat (5 % w/w), Loperamid (Antidiarrhoikum; 5 % w/w), Peptobismol (Anti-diarrhoikum; 5 % v/w), Muzin (5 % w/w), Cyclamat (künstlicher Süßstoff 5 % v/w), Humanblut (5 % v/w), Stearinsäure / Palmitinsäure (Mischung 1:1, 20 % w/w), Metronidazol (0.5) (Antibiotikum 5 % v/w), Diclofenac (0.00263 % v/w).

Anhang

Testspezifische Symbole:

Plate	Mikrotiterplatte
Diluent 1	Probenverdünnungspuffer
Wash	Waschpuffer
Control +	Positivkontrolle
Control -	Negativkontrolle
Conjugate 1	Konjugat 1
Conjugate 2	Konjugat 2
Substrate	Substrat
Stop	Stopp-Reagenz

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 cow milk. *J Appl Bacteriol* 65: 93-96.
6. 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.