

RIDASCREEN® Campylobacter

Réf. : C2401



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Allemagne

Téléphone : +49 (0) 61 51 - 81 02-0 / Fax : +49 (0) 61 51 - 81 02-20



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDASCREEN® Campylobacter est un test immunoenzymatique destiné à l'identification qualitative des antigènes de *Campylobacter jejuni* et de *Campylobacter coli* dans les échantillons et cultures de selles humaines.

2. Résumé et explication du test

La campylobactériose occupe une deuxième place après la salmonellose en tant que cause la plus fréquente de diarrhée chez l'humain dans le monde entier. La grande augmentation de cas d'entérite provoquée par les bactéries Campylobacter est accentuée par leur forte prévalence hétérospécifique chez les animaux tant sauvages que domestiqués, utilisés pour le travail ou en tant qu'animaux de compagnie (oiseaux et mammifères).

Ces bactéries font leur entrée dans la chaîne alimentaire humaine en tant que bactéries commensales dans le tractus intestinal des volailles en particulier. Il existe cependant d'autres véhicules de transport des agents pathogènes, par exemple, le lait, la viande hachée et l'eau de boisson. Lorsque de grandes quantités de Campylobacter pathogènes sont libérées dans l'environnement par plusieurs hôtes, ils finissent par contaminer l'humain par l'intermédiaire d'aliments contaminés. D'autres voies de transmission possibles de l'entérite à Campylobacter sont le contact direct avec les animaux domestiqués infectés par une campylobactériose et, en particulier chez les enfants, la voie oro-fécale. La dose infectieuse de 500 micro-organismes est relativement faible. Parmi les près de 15 espèces connues de Campylobacter, *C. jejuni* et *C. coli* sont celles responsables de la gastro-entérite chez l'humain. Après une période d'incubation de 2 à 10 jours, les personnes non traitées excrètent les agents pathogènes infectieux dans les selles pendant jusqu'à quatre semaines. Les personnes souffrant d'immunodéficience peuvent continuer à excréter les pathogènes de manière indéfinie. De nombreuses infections sont asymptomatiques, mais les personnes qui deviennent malades après la phase prodromique souffrent de fièvre, céphalée, myalgie, arthralgie et fatigue en plus de la diarrhée, des crampes et douleurs abdominales qui sont les symptômes classiques de l'entérite. La consistance de la diarrhée peut aller de selles pâteuses à liquides et massives, parfois mêlées de sang. Une inflammation des articulations et la rare survenue du syndrome de Guillain-Barré sont des séquelles tardives de la maladie.

Le traitement des symptômes par un apport de liquides et d'électrolytes est le plus courant, l'antibiothérapie n'étant prescrite que dans les cas graves de la maladie. La réussite de la culture de ces agents pathogènes sensibles nécessite des échantillons de selles le plus frais possible et un transport réfrigéré sur de courtes distances. Les techniques modernes d'identification des antigènes ne sont pas concernées par ces contraintes, par exemple le test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA, qui détecte l'antigène spécifique de Campylobacter dans un échantillon de selles ne pouvant plus être utilisé pour une culture des agents pathogènes.

3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® *Campylobacter* utilise des anticorps monoclonaux en appliquant une méthode de type sandwich. La surface des puits de la microplaque est revêtue d'anticorps monoclonaux ciblant les antigènes de *Campylobacter*.

Une suspension de l'échantillon de selles à examiner ainsi que des contrôles sont pipetés ensemble avec des anticorps anti-*Campylobacter* biotinylés (conjugué 1) dans le puits de la microplaque, puis sont mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Après une étape de lavage, le conjugué polyperoxydase-streptavidine (conjugué 2) est ajouté et de nouveau mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Si des antigènes de *Campylobacter* sont présents dans l'échantillon, les anticorps immobilisés, les antigènes et les anticorps conjugués forment un complexe sandwich. Le conjugué polyperoxydase-streptavidine non lié est éliminé au cours d'une autre étape de lavage. Dans les échantillons positifs, l'ajout d'un substrat modifie l'enzyme liée dans la solution incolore qui vire au bleu. L'ajout d'un réactif d'arrêt fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction est proportionnelle à la concentration de l'antigène de *Campylobacter* présent dans l'échantillon.

4. Réactifs fournis

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

Plate	96	Microplaque, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support, revêtue d'anticorps monoclonaux ciblant spécifiquement les antigènes de <i>Campylobacter jejuni</i> et de <i>Campylobacter coli</i>
Diluent 1	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon, solution de NaCl tamponnée à la protéine ; prêt à l'emploi, de couleur bleue
Wash	100 ml	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérosal-
Control +	2 ml	Contrôle positif ; antigène de <i>Campylobacter</i> inactivé ; prêt à l'emploi
Control -	2ml	Contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon), prêt à l'emploi
Conjugate 1	13 ml	Anticorps conjugués à la biotine de <i>Campylobacter jejuni</i> et <i>Campylobacter coli</i> dans une solution protéique stabilisée, prêts à l'emploi, de couleur bleue
Conjugate 2	13 ml	Conjugué polyperoxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée, prêt à l'emploi, de couleur orange
Substrate	13 ml	Peroxyde d'hydrogène/TMB, prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Réactif d'arrêt, acide sulfurique 1 N, prêt à l'emploi

5. Les réactifs et leur stockage

Tous les réactifs doivent être entreposés entre 2 et 8 °C et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Le tampon de lavage dilué doit être conservé entre 2 et 8 °C pendant 4 semaines maximum. La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium doit être ouvert à l'aide de ciseaux sans déchirer le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C.

Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Autres réactifs et matériels nécessaires

6.1. Réactifs fournis

- Eau distillée ou désionisée

6.2. Équipement

- Tubes à essai
- Pipettes à usage unique (réf. : Z0001)
- Agitateur-mélangeur vortex (facultatif, voir rubrique 9.3.)
- Micropipette pour volumes de 50 à 100 µl et 1 ml
- Éprouvette graduée (1 000 ml)
- Chronomètre
- Appareil de lavage pour microplaques ou pipettes multicanaux (300 µl)
- Photomètre pour microplaques (450 nm et filtre de référence à 620-650 nm)
- Papier filtre (serviettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets avec 0,5 % de solution d'hypochlorite

7. Précautions à prendre par l'utilisateur

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche et tout contact avec une peau ou des membranes muqueuses lésées doit être évité. Lors de la manipulation des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes

de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter la Fiche de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

La trousse comprend un contrôle positif qui contient l'antigène inactivé de *Campylobacter*. Ce contrôle doit être traité comme du matériel potentiellement infectieux et manipulé conformément aux règlements de sécurité nationaux, de la même manière que les échantillons de patients.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % en tant que conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Avant utilisation, entreposer le matériel de test entre 2 et 8 °C. S'il n'est pas possible d'effectuer le test en l'espace de trois jours, il est préconisé de conserver le matériel à une température inférieure ou égale à -20 °C. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois. Après dilution d'un échantillon de selles dans un tampon de dilution d'échantillon à 1/11, l'échantillon peut être conservé à 4 °C pour être utilisé dans les sept jours qui suivent.

Les échantillons de selles et les frottis rectaux ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® Campylobacter.

Les échantillons de selles conditionnés dans les milieux de transport disponibles dans le commerce (Cary Blair, Amies) peuvent être utilisés avec le test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA. Cependant, il faut tenir compte de l'étape requise de pré-dilution de l'échantillon. Dans la mesure du possible, la concentration de la dilution finale de l'échantillon de selles dans le Diluent 1 doit être précisément de 1/11.

Lorsque des frottis rectaux sont utilisés, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 100 mg).

La recherche des contacts doit inclure des échantillons de selles provenant des personnes ayant été en contact qui ne présentent pas de symptômes cliniques, afin d'identifier des porteurs asymptomatiques.

9. Procédures de test

9.1. Informations générales

Tous les réactifs et la microplaque Plate doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en

aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante. Les réactifs doivent être bien mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après utilisation, les barrettes à micropuits (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes à micropuits ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient.

Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse.

Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Nous recommandons de couvrir la microplaque ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

9.2. Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage **Wash** avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissouts au préalable, en les réchauffant dans un bain d'eau à 37 °C.

9.3 Préparation des échantillons

Remplir un tube à essai marqué avec 1 ml de tampon de dilution des échantillons **Diluent | 1** de RIDASCREEN®. Aspirer un échantillon de selles liquides (environ 100 µl) au moyen d'une pipette à usage unique (réf. Z0001) jusqu'au-dessus du deuxième repère et ajouter au tampon du tube à essai pour obtenir une suspension. Pour obtenir une suspension avec des selles dures, ajouter une quantité équivalente de selles (environ 50 à 100 mg) prélevée à l'aide d'une spatule ou d'une anse de prélèvement à usage unique.

Homogénéiser la suspension de selles par aspiration, puis éjection avec une pipette à usage unique ou par mélange dans un agitateur-mélangeur vortex.

Laisser la suspension reposer pendant une courte période pour laisser aux particules grossières de selles le temps de se déposer ; le liquide clair surnageant la suspension de selles peut être directement utilisé pour le test. Si la procédure de test est effectuée dans un automate ELISA, ce liquide surnageant doit être dépourvu de particules. Dans ce cas, une centrifugation à 2 500 G pendant 5 minutes est recommandée.

Remarque :

Les échantillons de selles diluées dans le **Diluent | 1** peuvent être utilisés par tout autre test RIDASCREEN® ELISA, à condition que celui-ci utilise aussi le **Diluent | 1**.

9.4. Première incubation

Après avoir rempli une quantité suffisante de puits dans le support, ajouter 100 µl du **Control | +** positif, du **Control | -** négatif ou de la suspension de l'échantillon de selles (ou, si disponible, du surnageant de la suspension de colonies) dans les puits. Ajouter ensuite 100 µl

de l'anticorps conjugué à la biotine **Conjugate | 1** et mélanger (en tapotant légèrement le bord de la plaque), puis incuber pendant 60 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.5. Lavage

Un lavage soigneux est important afin d'obtenir des résultats corrects ; il convient donc de suivre les instructions fournies à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être déversée dans un conteneur de déchets et mise au rebut conformément aux réglementations locales. Retourner ensuite la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité résiduelle. Laver ensuite la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant après chaque lavage sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé.

En cas d'utilisation d'un laveur de microplaques ou d'un système ELISA entièrement automatisé, veiller à ce que l'appareil soit correctement réglé. Demander, au besoin, au fabricant de vous en fournir les réglages. Les appareils fournis par R-Biopharm sont déjà programmés avec des réglages et des protocoles de travail validés. Pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage, il convient de n'utiliser que des suspensions de selles dépourvues de particules (voir paragraphe 9.3, Préparation des échantillons). S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage.

9.6. Deuxième incubation

À l'aide d'une pipette, ajouter 100 µl de conjugué poly-HRP-streptavidine **Conjugate | 2** dans les puits, puis incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.7. Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

9.8. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **Substrate** dans tous les puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Remplir ensuite tous les puits avec 50 µl de réactif d'arrêt **Stop** afin d'arrêter la réaction. Après un mélange soigneux en tapotant légèrement le côté de la plaque, mesurer l'extinction à 450 nm (en variante : à 450/620 nm). Le réglage de la valeur nulle doit s'effectuer dans l'air, et donc sans la microplaque.

Remarque :

des échantillons de patients fortement positifs peuvent entraîner des précipités noirâtres du substrat.

9.9. Protocole de test réduit

Les durées d'incubation décrites aux rubriques 9.4 et 9.6 peuvent être fortement diminuées lorsque la plaque est incubée à 37 °C, avec une fréquence d'agitation de 20 à 25 Hz (DSX®, Fa.

Dynex). Les durées d'incubation sont modifiées comme suit :

Incubation 1 : 30 min

Incubation 2 : 15 min

Incubation 3 : 15 min

Des agitateurs de microplaques séparés conviennent aussi, par exemple le Thermomixer d'Eppendorf (réglage de la vitesse : 850 tr/min) ou le DTS2 de LTF Labortechnik (réglage de la vitesse : 800 tr/min).

10. Contrôle qualité – signes de réactif périmé

À des fins de contrôle qualité, chaque fois qu'un test est effectué, il est nécessaire d'utiliser des contrôles positif et négatif, pour vérifier la stabilité des réactifs et la réalisation correcte du test. Le test s'est déroulé correctement lorsque la valeur d'extinction (DO) du contrôle négatif à 450 nm est inférieure à 0,02 (inférieure à 0,160 à 450/620 nm) et lorsque la valeur mesurée du contrôle positif est supérieure à 0,8 à 450 nm ou à 450/620 nm. Une valeur supérieure à 0,2 (0,160) pour le contrôle négatif pourrait indiquer que le lavage n'a pas été suffisant. Tout écart par rapport aux valeurs requises, par exemple la présence de turbidité ou d'une coloration bleue du substrat incolore avant le remplissage des puits, pourrait indiquer une dénaturation des réactifs. En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Procédure de test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

11.1. Calcul de la valeur seuil

Pour déterminer la valeur seuil, on ajoute 0,15 unité d'extinction à l'extinction mesurée du contrôle négatif.

$$\text{Valeur seuil} = \text{valeur d'extinction du contrôle négatif} + 0,15$$

11.2. Résultats du test

Un échantillon est estimé comme étant **positif** lorsque sa valeur d'extinction est supérieure de plus de 10 % à la valeur seuil calculée.

Un échantillon est estimé comme étant **limite** si sa valeur d'extinction se situe dans une plage allant de -10 % à +10 % de la valeur seuil. Si un nouvel examen utilisant un nouvel échantillon de selles obtient une valeur comprise dans cette même plage d'ombre, l'échantillon est considéré comme étant négatif.

Des échantillons ayant des valeurs d'extinction inférieures à -10 % de la valeur seuil calculée doivent être considérés comme étant **négatifs**.

12. Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN® Campylobacter identifie les antigènes spécifiques de *Campylobacter jejuni* et de *Campylobacter coli* dans des échantillons de selles. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre le niveau d'une valeur d'extinction déterminée et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. **Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.**

Un résultat **positif** n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux.

Un résultat **négatif** n'exclut pas une éventuelle infection par *C. jejuni* ou *C. coli*. Un tel résultat peut être causé par l'élimination temporaire du parasite ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection par *C. jejuni* ou *C. coli*, un autre prélèvement de selles doit être examiné.

Un résultat **limite** peut être causé par une répartition non homogène des antigènes dans l'échantillon de selles. Dans un tel cas, l'examen doit être répété avec une deuxième suspension provenant du même échantillon ou il convient de demander un autre prélèvement de selles à examiner.

13. Performances

13.1. Sensibilité analytique

La performance du test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA a été évaluée dans une étude de comparaison avec le test défini comme norme, à savoir la culture de l'agent pathogène sur agar CCDA dans des conditions microaérophiles. Le test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA a été utilisé pour analyser un total de 574 échantillons de selles provenant d'un examen diagnostique de routine d'un laboratoire participant. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1 : Comparaison du test RIDASCREEN® Campylobacter à la culture sur plaques de CCDA

		Culture (CCDA)	
		Positif	Négatif
RIDASCREEN® Campylobacter	Positif	61	4
	Négatif	2	507

Sensibilité : 96,8 %

Spécificité : 99,2 %

Valeur prédictive positive (VPP) : 93,8 %

Valeur prédictive négative (VPN) : 99,6 %

13.2 Sensibilité analytique

Les limites de détection analytique de *C. jejuni* et de *C. coli* ont été déterminées séparément. Elles représentent la concentration la plus faible en agents pathogènes qui permet encore une identification positive avec le test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA (>10 % au-dessus de la valeur seuil calculée). Calculée sur la base de 90 tests (IC ≥ 95 %), la valeur seuil pour *Campylobacter jejuni* est de $1,9 \times 10^4$ UFC/ml et pour *Campylobacter coli* elle est de $1,1 \times 10^6$ UFC/ml.

13.3. Étude de comparaison clinique

Différents micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés avec le test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA et n'ont pas présenté de réactivité croisée. Ces tests ont été réalisés avec des suspensions de bactéries (10^6 à 10^9 ufc/ml), avec des cultures de parasites (10^7 à 10^9 organismes/ml) et avec des cultures de cellules infectées par le virus. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 2. Hormis les deux espèces de Campylobacter *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, aucun des organismes du test n'a réagi dans le test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA.

Tableau 2 : Réactivité croisée avec des micro-organismes pathogènes du tractus intestinal

Organisme	Origine/source	[DO 450]
Adénovirus	Surnageant de culture d'agent infectieux	0,086
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Culture	0,081
Astrovirus	Surnageant de culture d'agent infectieux	0,068

<i>Bacillus cereus</i>	Culture	0,070
<i>Bacteroides fragilis</i>	Culture	0,067
<i>Campylobacter coli</i>	Culture	2,007
<i>Campylobacter fetus</i>	Culture	0,066
<i>Campylobacter jejuni</i>	Culture	3,622
<i>Campylobacter lari</i>	Culture	0,074
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Culture	0,073
<i>Candida albicans</i>	Culture	0,062
<i>Citrobacter freundii</i>	Culture	0,063
<i>Clostridium difficile</i>	Culture	0,055
<i>Clostridium perfringens</i>	Culture	0,055
<i>Clostridium sordellii</i>	Culture	0,060
<i>Cryptosporidium muris</i>	Culture	0,062
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Culture	0,060
<i>E. coli (O26:H-)</i>	Culture	0,058
<i>E. coli (O6)</i>	Culture	0,054
<i>E. coli (O157:H7)</i>	Culture	0,054
<i>Enterobacter cloacae</i>	Culture	0,053
<i>Enterococcus faecalis</i>	Culture	0,059
<i>Giardia lamblia</i> échantillon	échantillon de selles	0,078
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Culture	0,057
<i>Proteus vulgaris</i>	Culture	0,054
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Culture	0,056
Rotavirus	Surnageant de culture d'agent infectieux	0,066
<i>Salmonella enteritidis</i>	Culture	0,046
<i>Salmonella typhimurium</i>	Culture	0,050
<i>Serratia liquefaciens</i>	Culture	0,047
<i>Shigella flexneri</i>	Culture	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	0,051
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Culture	0,052
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Culture	0,053
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Culture	0,046

13.4. Précision

Pour déterminer la précision du test, six échantillons ont été utilisés, chacun avec un niveau d'extinction (DO) défini couvrant l'intégralité de la plage de mesures du test. Le tableau 3 présente le spectre DO des échantillons.

Tableau 3 : Spectre d'extinction des échantillons

Échantillons	Spectre DO
Échantillon 1	1,387 - 2,575
Échantillon 2	0,946 - 1,758
Échantillon 3	0,693 - 1,287
Échantillon 4	0,470 - 0,874
Échantillon 5	0,370 - 0,686
Échantillon 6	0,281 - 0,523

La reproductibilité du test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA a été étudiée avec six références qui couvrent l'ensemble de la plage de mesure des valeurs faiblement à fortement positives. Afin de déterminer la reproductibilité intra-test, 39 répétitions de ces références ont été mesurées, couvrant l'ensemble de la plage de mesure des valeurs négatives à fortement positives. Les valeurs moyennes et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots de trousse. Pour ce qui est de la reproductibilité inter-tests, les références de dix jours de travail différents ont été mesurées en double, avec deux passages par jour. Les mesures ont été effectuées en trois lots par trois techniciens. La reproductibilité inter-lots a été déterminée pour les trois lots. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 4 : Valeurs moyennes et coefficients de variation des six références

Échantillons Valeur moyenne /CV	Intra-test			Inter-tests			Inter-lots
	Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lots des trousses 1 à 3
Échantillon 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%
Échantillon 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%
Échantillon 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%

Échantillon 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%
Échantillon 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%
Échantillon 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. Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont pas présenté d'effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans les échantillons de selles positifs et négatifs pour *Campylobacter* dans les concentrations indiquées :

sulfate de baryum (5 % p/p), lopéramide (antidiarrhéique, 5 % p/p), Pepto-bismol (antidiarrhéique, 5 % v/p), mucines (5 % p/p), cyclamate (édulcorant artificiel, 5 % v/p), sang humain (5 % v/p), acide stéarique et acide palmitique (mélange 1/1, 20 % p/p), métronidazole (0,5) (antibiotique, 5 % v/p), diclofénac (0,00263 % v/p).

Annexe

Symboles spécifiques au test :

Plate	Microplaque
Diluent 1	Tampon de dilution d'échantillon
Wash	Tampon de lavage
Control +	Contrôle positif
Control -	Contrôle négatif
Conjugate 1	Conjugué 1
Conjugate 2	Conjugué 2
Substrate	Substrat
Stop	Réactif d'arrêt

Bibliographie

1. Skirrow MB, Blaser MJ (1995): *Campylobacter jejuni*. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JJ, 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.