

# RIDASCREEN® Campylobacter

Codice prodotto: C2401



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

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



## 1. Campo di applicazione

Per uso diagnostico *in vitro*. Il test RIDASCREEN® Campylobacter è un test immunoenzimatico per la rilevazione qualitativa di antigeni di *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* in campioni e colture di feci umane.

## 2. Sintesi e spiegazione del test

La campilobatteriosi è seconda solo alla salmonellosi quale causa più frequente di diarrea nell'uomo a livello internazionale. Il significativo aumento di casi di enterite causati da campylobacter è esacerbato dall'ampia diffusione estesa a tutte le specie del batterio negli animali sia allo stato selvaggio sia addomesticati utilizzati per il lavoro o come compagnia (uccelli e mammiferi).

Questi batteri entrano nella catena alimentare umana come batteri commensali prevalentemente nel tratto intestinale del pollame. Altri veicoli di trasporto degli agenti patogeni sono il cibo come il latte e la carne macinata e l'acqua potabile. Il Campylobacter viene rilasciato nell'ambiente in grandi quantità da numerosi ospiti e viene trasmesso all'uomo tramite cibo contaminato. Altre possibili vie di trasmissione dell'enterite da campylobacter sono il contatto diretto con animali domestici infetti da campilobatteriosi e, particolarmente in età infantile, la via oro-fecale. La dose di infezione con 500 microrganismi è relativamente bassa. Di tutte le 15 specie di campylobacter conosciute, il *C. jejuni* e il *C. coli* sono quelle che causano gastroenterite nell'uomo. Dopo un periodo di incubazione di 2 - 10 giorni, i soggetti non trattati espellono con le feci agenti patogeni infettivi per un massimo di 4 settimane. I soggetti immunodeficienti possono continuare a espellere gli agenti patogeni per un tempo indefinito. Molte delle infezioni decorrono in forma asintomatica, mentre coloro che si ammalano mostrano una fase prodromica seguita da febbre, cefalea, mialgia, artralgia e spossatezza in aggiunta a diarrea, crampi e dolore addominale quali sintomi tipici dell'enterite. L'intensità della diarrea varia da feci molli a liquide, talvolta anche ematiche. L'infiammazione articolare e la rara comparsa della sindrome di Guillain-Barré sono complicanze tardive della malattia.

Il trattamento sintomatico con reintegrazione di liquidi ed elettroliti rappresenta l'approccio più comune; il trattamento antibiotico viene usato solo nei casi gravi. Per garantire il successo della coltura è necessario raccogliere i campioni più freschi possibili e il trasporto in condizioni di refrigerazione per distanze brevi. Le tecniche moderne per l'identificazione degli antigeni non dipendono da questi prerequisiti, per esempio il test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA, che rileva l'antigene di campylobacter specifico in un campione di feci dopo che non è più possibile procedere alla coltura degli agenti patogeni.

### 3. Principio del test

Nel test RIDASCREEN® *Campylobacter* gli anticorpi monoclonali sono posizionati a sandwich. La superficie dei pozzetti della piastra di microtitolazione viene rivestita con anticorpi monoclonali agli antigeni di *Campylobacter*.

Una sospensione del campione di feci da esaminare e i controlli vengono introdotti nel pozzetto della piastra per microtitolazione insieme ad anticorpi anti-*campylobacter* biotinilati (Coniugato 1) mediante pipetta a temperatura ambiente (20 e 25 °C) per l'incubazione. Dopo il lavaggio aggiungere il poli-coniugato streptavidina-perossidasi (Coniugato 2) e incubare nuovamente a temperatura ambiente (20 e 25 °C). Quando viene rilevata presenza di antigeni di *campylobacter* in un campione, si forma un complesso a sandwich composto dagli anticorpi immobilizzati, dagli antigeni e dagli anticorpi coniugati. Un altro lavaggio rimuove il poli-coniugato streptavidina-perossidasi non legato. Nei campioni positivi, l'aggiunta di un substrato trasforma l'enzima legato da una soluzione incolore in una soluzione blu. L'aggiunta di un reagente bloccante causa una variazione cromatica da blu a giallo. L'estinzione è proporzionale alla concentrazione di antigeni di *campylobacter* presenti nel campione.

### 4. Reagenti forniti

I reagenti nel kit sono sufficienti per 96 determinazioni.

Plate	96	Piastra per microtitolazione, 12 strisce di micropozzetti (divisibili) in telaio di fissaggio, rivestita con anticorpi monoclonali specifici agli antigeni di <i>Campylobacter jejuni</i> e <i>Campylobacter coli</i>
Diluent   1	100 ml	Tampone di diluizione dei campioni, soluzione proteica tamponata NaCl; pronto per l'uso, colorazione in blu
Wash	100 ml	Tampone di lavaggio, soluzione tamponata al fosfato NaCl (concentrata 10-volte); contiene 0,1% di Thimerosal
Control   +	2 ml	Controllo positivo (antigene di <i>Campylobacter</i> inattivato); pronto all'uso
Control   -	2 ml	Controllo negativo (tampone di diluizione dei campioni); pronto per l'uso
Conjugate   1	13 ml	Anticorpi biotina-coniugati anti- <i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C.coli</i> in soluzione proteica stabilizzata; pronti per l'uso; colorati in blu
Conjugate   2	13ml	Poli-coniugato streptavidina-perossidasi in soluzione proteica tamponata; pronto per l'uso; colorato in arancione
Substrate	13 ml	Perossido di idrogeno/TMB; pronto per l'uso
Stop	12 ml	Reagente di bloccaggio; acido solforico 1 N; pronto per l'uso

## 5. Reagenti e loro conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a 2 e 8 °C e p  
stampata sull'etichetta. Il tampone di lavaggio diluito è utilizzabile per quattro settimane se  
conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Evita

la data di scadenza, non può essere più fornita alcuna garanzia di qualità.

La busta in alluminio deve essere aperta con le forbici, in modo tale da non rimuovere la  
chiusura a clip. Le strisce per microtitolazione inutilizzate devono essere immediatamente  
riposte nella busta in alluminio e conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

Evitare l'esposizione diretta alla luce del substrato incolore, per evitare la decomposizione o la  
colorazione blu per auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere  
utilizzato.

## 6. Reagenti aggiuntivi necessari – attrezzatura richiesta

### 6.1. Reagenti forniti

- Acqua distillata o deionizzata

### 6.2. Attrezzatura

- Provette
- Pipette monouso (Codice articolo: Z0001)
- Vorticatore (opzionale, vedere Punto 9.3.)
- Micropipetta da 50 - 100 µl e 1 ml in volume
- Cilindro graduato (1.000 ml)
- Cronometro
- Dispositivo di lavaggio per piastre per microtitolazione o pipette multicanale (300 µl)
- Fotometro per piastre per microtitolazione (450 nm e filtro di riferimento 620–650 nm)
- Carta filtrante (carta da laboratorio)
- Contenitore di rifiuti con soluzione di ipoclorito allo 0,5%

## 7. Precauzioni per gli utilizzatori

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato.  
Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici. Attenersi rigorosamente alle  
istruzioni per l'uso nell'esecuzione del test.

Non introdurre con la bocca campioni o reagenti mediante pipetta, evitare il contatto con la  
cute lesa o con le mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare guanti monouso e  
lavare le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si  
opera con i campioni.

Per maggiori informazioni consultare la Scheda di sicurezza dei materiali (MSDS) all'indirizzo [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Il kit include un controllo positivo che contiene l'antigene di *Campylobacter* inattivato. Deve essere trattato come potenzialmente infettivo, analogamente ai campioni dei pazienti, e maneggiato in conformità alle disposizioni di sicurezza nazionali vigenti.

Il tampone di lavaggio contiene 0,1 % di Thimerosal come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le membrane mucose.

Garantire uno smaltimento idoneo e responsabile di tutti i reagenti e i materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

## 8. Raccolta e conservazione dei campioni

Fino all'uso, conservare il materiale di test a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Qualora il materiale non possa essere utilizzato per un test entro tre giorni, si raccomanda di conservarlo a una temperatura di -20 °C o inferiore. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento del campione. Dopo la diluizione in tampone 1:11, il campione può essere conservato a 4 °C e dovrà essere utilizzato entro sette giorni.

I campioni di feci e i prelievi rettali non devono essere riposti in contenitori per il trasporto contenenti sostanze per il trasporto come conservanti, sieri animali, ioni metallici, agenti ossidanti e detergenti, in quanto potrebbero crearsi interferenze con il test RIDASCREEN® *Campylobacter*.

Nel test RIDASCREEN® *Campylobacter* ELISA possono essere utilizzati campioni di feci racchiusi negli usuali mezzi di trasporto presenti in commercio (Cary Blair, Amies). Tuttavia, occorre tenere conto della necessaria prediluizione del campione. Se possibile, la diluizione finale del campione di feci nel diluente Diluent 1 dovrebbe essere 1:11.

Se vengono usati prelievi rettali, assicurarsi che il volume del materiale fecale sia sufficiente (circa 100 mg) per il test.

Le indagini ambientali devono includere anche campioni di feci prelevati da persone che non mostrano sintomi clinici al fine di identificare i portatori asintomatici.

## 9. Esecuzione del test

### 9.1. Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra di microtitolazione **Plate** devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25 °C) prima dell'uso. Le strisce per microtitolazione devono essere rimosse dalla busta in alluminio solo dopo il raggiungimento della temperatura ambiente. Mescolare con cura i reagenti immediatamente prima dell'utilizzo. Dopo l'uso, le strisce di micropozzetti (inserite in buste sigillate) e i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Una volta usate, le strisce di micropozzetti non devono essere riutilizzate. I reagenti

e le strisce per microtitolazione non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o i flaconi non sono ermetici.

Evitare il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione incrociata.

Il test non deve essere esposto all'irradiazione solare diretta. Si raccomanda di coprire o sigillare con una pellicola in plastica la piastra per microtitolazione per evitare la perdita per evaporazione.

## 9.2. Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare 1 parte di concentrato di tampone di lavaggio **Wash** con 9 parti di acqua distillata. Eventuali cristalli presenti nel concentrato devono essere precedentemente riscaldati in un bagnomaria a 37 °C per scioglierli.

## 9.3. Preparazione dei campioni

Introdurre in una provetta marcata 1 ml di tampone per diluizione dei campioni RIDASCREEN® **Diluent | 1**. Utilizzare una pipetta monouso (codice prodotto Z0001) per aspirare un campione di feci liquide (circa 100 µl) fino a superare di poco la seconda graduazione e aggiungerlo al tampone nella provetta per ottenere una sospensione. Per realizzare una sospensione con un campione di feci solide, introdurre una quantità equivalente (circa 5050.100 mg) con una spatola o un'ansa di inoculazione monouso.

Omogeneizzare la sospensione fecale mediante aspirazione ed espulsione tramite pipetta monouso oppure, in alternativa, miscelare in un vortificatore.

Lasciare riposare la sospensione per un breve periodo affinché le particelle di feci più grandi possano depositarsi, quindi il supernatante di sospensioni di feci purificato è pronto per essere utilizzato direttamente nel test. Se la procedura viene eseguita in un sistema ELISA automatico, il supernatante **non** deve contenere particelle. In questo caso, è consigliabile centrifugare il campione a 2.500 G per 5 minuti.

### **Nota:**

I campioni di feci diluiti in **Diluent | 1** possono essere utilizzati in qualsiasi altro test RIDASCREEN® ELISA a condizione che anche questo impieghi il diluente **Diluent | 1**.

## 9.4. Prima incubazione

Dopo aver filtrato un numero sufficiente di pozzetti nel telaio di fissaggio, introdurre nei pozzetti 100 µl di controllo positivo **Control | +**, di controllo negativo **Control | -** o di sospensione di campione di feci (oppure, se disponibile, di supernatante della sospensione di colonia). Quindi aggiungere 100 µl dell'anticorpo biotina-coniugato **Conjugate | 1** e miscelare (dando dei leggeri colpi sul bordo della piastra); successivamente incubare per 60 minuti a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

## 9.5. Lavaggio

Un accurato lavaggio è importante per ottenere i giusti risultati e deve pertanto essere effettuato in stretta conformità con le istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti per poi essere smaltito nel rispetto delle disposizioni locali. Quindi, tamponare la piastra su carta assorbente per rimuovere l'umidità residua. Lavare la piastra cinque volte utilizzando 300 µl di lavaggio ogni volta. Assicurarsi che i pozzetti vengano completamente svuotati estroflettendoli tamponandoli dopo ciascun lavaggio su un'area di carta assorbente ancora asciutta e inutilizzata.

**Se si utilizza una lavatrice per micropiastre o un sistema ELISA completamente automatico, assicurarsi che la macchina sia correttamente regolata e, se necessario, chiedere le impostazioni al produttore. I dispositivi forniti da R-Biopharm sono già programmati con le impostazioni e i protocolli di lavoro convalidati. Per evitare di bloccare gli aghi di lavaggio, introdurre solo sospensioni di feci prive di particelle (vedere Punto 9.3., Preparazione dei campioni). Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase di lavaggio.**

## 9.6. Seconda incubazione

Utilizzare una pipetta per introdurre 100 µl di coniugato poli-HRP streptavidina **Conjugate | 2** nei campioni, quindi incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (20 e 25 °C).

## 9.7. Lavaggio

Lavare come descritto al Punto 9.5.

## 9.8. Terza incubazione

Iniettare nei pozzetti 100 µl di substrato **Substrate**. Quindi incubare la piastra per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (20 e 25 °C). Su  
reagente bloccante **Stop** per arrestare la reazione. Dopo aver accuratamente miscelato picchiando leggermente sul lato della piastra, misurare l'estinzione a 450 nm (opzionale: 450/620 nm). Regolare il punto zero contro aria, ovvero senza la piastra per microtitolazione.

### **Nota:**

I campioni di pazienti altamente positivi possono causare precipitati nerastri del substrato.

## 9.9. Protocollo di test abbreviato

I tempi di incubazione descritti ai punti 9.4 e 9.6 possono essere notevolmente ridotti incubando la piastra a 37 °C e con una frequenza di agitazione pari a 20–25 Hz (DSX®, ditta Dynex). Il tempo tempo di incubazione si modifica come segue:

1° Incubazione: 30 min

2° Incubazione: 15 min

3° Incubazione: 15 min

Possono essere utilizzati anche agitatori separati per piastre di microtitolazione come Thermomixer di Eppendorf (impostazione della frequenza: 850 giri al minuto) o DTS2 di LTF Labortechnik (impostazione della frequenza 800 giri al minuto).

## 10. Controllo della qualità – indicazioni della scadenza dei reagenti

Per il controllo della qualità eseguire il controllo positivo e negativo ad ogni esecuzione del test al fine di garantire la stabilità dei reagenti e la corretta esecuzione del test. Il test è eseguito correttamente se il tasso di estinzione (O.D.) del controllo negativo è inferiore a 0,2 a 450 nm (inferiore a 0,160 a 450/620 nm) e il valore misurazione del controllo positivo è superiore a 0,8 a 450 nm o a 450/620 nm. Un valore superiore a 0,2 (0,160) per il controllo negativo può indicare un lavaggio insufficiente. La deviazione dai valori richiesti, proprio come un'opacizzazione o una colorazione blu del substrato incolore prima dell'inserimento nei pozzetti, può indicare che i reagenti sono scaduti. Se i valori stipulati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (p.es. calibrazione)
- Procedura di esecuzione del test corretta
- Controllare visivamente che i componenti del kit non presentino contaminazione o perdite:  
non utilizzare una soluzione di substrato che sia diventata blu.

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, rivolgersi al produttore o al proprio distributore R-Biopharm locale.

## 11. Valutazione e interpretazione

### 11.1. Calcolo del valore limite

Per stabilire il valore limite, introdurre 0,15 unità di estinzione all'estinzione misurata per il controllo negativo.

$$\text{Valore limite} = \text{estinzione per il controllo negativo} + 0,15$$

### 11.2. Risultati del test

Il campione è considerato **positivo** se il tasso di estinzione supera il valore limite calcolato di più del 10 %.

Il campione viene considerato **marginale** se il tasso di estinzione è compreso tra 10 % in meno e 10 % in più rispetto al valore limite. Se l'esame ripetuto con un campione di feci fresco rientra ancora nella zona grigia, il campione viene considerato negativo.

I campioni con estinzioni superiori al 10 % al di sotto del limite calcolato devono essere considerati **negativi**.

## 12. Limiti del metodo

Il test RIDASCREEN® Campylobacter identifica gli antigeni specifici di *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* nei campioni di feci. Non è possibile stabilire una relazione tra il livello di estinzione rilevato e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica. **I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati tenendo conto dei segni e dei sintomi clinici.**

Un risultato **positivo** non esclude la presenza di altri patogeni infettivi.

Un risultato **negativo** non esclude la possibilità di infezione da *C. jejuni* o *C. coli*. Un risultato simile può essere dovuto a escrezione intermittente dell'agente patogeno oppure è possibile che la quantità di antigeni nel campione sia insufficiente. Qualora a livello anamnestico sussista il sospetto di infezione da *C. jejuni* o *C. coli*, l'esame deve essere ripetuto con un altro campione di feci.

Un risultato **marginale** può essere dovuto a distribuzione non omogenea di antigeni nel campione di feci. In questo caso, l'esame deve essere ripetuto con una seconda sospensione dallo stesso campione o in alternativa dovrà essere richiesto un altro campione di feci.

## 13. Prestazioni e caratteristiche

### 13.1. Qualità del test

Le prestazioni del test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA sono state valutate in uno studio comparativo con il riferimento, vale a dire la coltura del patogeno su agar CCD in condizioni microaerofile. Il test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA è stato usato per testare un totale di 574 campioni di feci ottenute dalla pratica diagnostica di routine di un laboratorio partecipante. I risultati di questo studio sono riepilogati nella Tabella 1.

Tabella 1: Confronto del test RIDASCREEN® Campylobacter con la coltivazione su piastre CCDA

		Coltura (CCDA)	
		Positivo	Negativo
RIDASCREEN® Campylobacter	Positivo	61	4
	Negativo	2	507

Sensibilità:	96,8 %
Specificità:	99,2 %
Valore predittivo positivo (PPV):	93,8 %
Valore predittivo negativo (PPV):	99,6 %

### 13.2. Sensibilità analitica

I limiti analitici di rilevazione di *C. jejuni* e *C. coli* sono stati determinati separatamente. Viene descritta la concentrazione di agenti patogeni minima che potrebbe essere identificata positivamente nel test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA (>10% sul limite calcolato). Calcolato sulla base di 90 studi (CI ≥ 95%), il limite per *Campylobacter jejuni* è pari a  $1,9 \times 10^4$  CFU/ml, quello per *Campylobacter coli* è pari a  $1,1 \times 10^6$  CFU/ml.

### 13.3. Reattività incrociata

Diversi microrganismi patogeni del tratto intestinale sono stati esaminati con il test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA e non hanno evidenziato alcuna reattività incrociata. Questi test sono stati condotti con sospensioni batteriche ( $10^6$  -  $10^9$  CFU/ml), con colture parassitarie ( $10^7$  -  $10^9$  organismi/ml) e con supernatanti colturali di cellule infettate da virus. I risultati dello studio sono presentati nella Tabella 2. Fatta eccezione per le due specie di campylobacter *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, nessuno degli organismi nel test ha reagito nel test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA.

Tabella 2: Reazioni incrociate con microrganismi patogeni del tratto intestinale

Organismo	Origine/fonte	[OD 450]
Adenovirus	Supernatante infetto della coltura	0,086
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Coltura	0,081
Astrovirus	Supernatante infetto della coltura	0,068
<i>Bacillus cereus</i>	Coltura	0,070
<i>Bacteroides fragilis</i>	Coltura	0,067
<i>Campylobacter coli</i>	Coltura	2,007
<i>Campylobacter fetus</i>	Coltura	0,066
<i>Campylobacter jejuni</i>	Coltura	3,622
<i>Campylobacter lari</i>	Coltura	0,074
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Coltura	0,073
<i>Candida albicans</i>	Coltura	0,062
<i>Citrobacter freundii</i>	Coltura	0,063
<i>Clostridium difficile</i>	Coltura	0,055
<i>Clostridium perfringens</i>	Coltura	0,055
<i>Clostridium sordellii</i>	Coltura	0,060
<i>Cryptosporidium muris</i>	Coltura	0,062

<i>Cryptosporidium parvum</i>	Coltura	0,060
<i>E. coli (O26:H-)</i>	Coltura	0,058
<i>E. coli (O6)</i>	Coltura	0,054
<i>E. coli (O157:H7)</i>	Coltura	0,054
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coltura	0,053
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coltura	0,059
<i>Giardia lamblia</i> sample	campione di feci	0,078
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Coltura	0,057
<i>Proteus vulgaris</i>	Coltura	0,054
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coltura	0,056
Rotavirus	Supernatante infetto della coltura	0,066
<i>Salmonella enteritidis</i>	Coltura	0,046
<i>Salmonella typhimurium</i>	Coltura	0,050
<i>Serratia liquefaciens</i>	Coltura	0,047
<i>Shigella flexneri</i>	Coltura	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coltura	0,051
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Coltura	0,052
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Coltura	0,053
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Coltura	0,046

#### 13.4. Precisione

Per stabilire la precisione del test sono stati impiegati 6 campioni di riferimento, ognuno dei quali corrisponde a un settore definito di estinzione (OD) di tutto il campo di misurazione del test. Nella Tabella 3 è riportata una panoramica di tutto lo spettro del campo di estinzione dei campioni.

Tabella 3: Campo di estinzione dei campioni

<b>Campioni</b>	<b>Spettro OD</b>
Campione 1	1,387 - 2,575
Campione 2	0,946 - 1,758
Campione 3	0,693 - 1,287
Campione 4	0,470 - 0,874
Campione 5	0,370 - 0,686
Campione 6	0,281 - 0,523

La riproducibilità del test RIDASCREEN® Campylobacter ELISA è stata verificata su sei riferimenti elencati che rappresentano l'intero range di misurazione da debolmente ad altamente positivo. Per la determinazione della riproducibilità intra-analisi, sono stati esaminati 39 replicati di questi riferimenti. Sono stati determinati i valori medi e i coefficienti di variazione (CV) per tre lotti dei kit. Per la riproducibilità inter-analisi, le misurazioni dei campioni sono state eseguite in 10 giorni lavorativi consecutivi con 2 serie al giorno con test doppi. Le misurazioni sono state determinate in tre lotti da tre tecnici. La riproducibilità inter-lotto è stata determinata per tutti e tre i lotti di kit. I risultati di questo studio sono riepilogati nella Tabella 4.

Tabella 4: Valori medi e coefficienti di varianza dei sei riferimenti

Campioni Valore medio / CV	Intra-analisi			Inter-analisi			Inter- lotto
	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotti kit 1-3
Campione 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%
Campione 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%
Campione 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%
Campione 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%
Campione 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%
Campione 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. Sostanze interferenti

Le sostanze incluse nell'elenco seguente non hanno mostrato effetti sui risultati dei test quando miscelate in campioni di feci positivi e negativi al campylobacter nelle concentrazioni descritte:

solfo di bario (5% w/w), loperamide (antidiarroico; 5% w/w), Peptobismol (antidiarroico, 5% v/w), mucine (5% w/w), ciclamato (edulcorante artificiale, 5% v/w), sangue umano (5% v/w), acido stearico e acido palmitico (miscela 1:1, 20% w/w), metronidazolo (0,5) (antibiotico 5% v/w), diclofenac (0,00263% v/w).

## Appendice

Simboli specifici del test:

Plate	Piastra per microtitolazione:
Diluent   1	Tampone di diluizione del campione
Wash	Tampone di lavaggio
Control   +	Controllo positivo
Control   -	Controllo negativo
Conjugate   1	Coniugato 1
Conjugate   2	Coniugato 2
Substrate	Substrato
Stop	Reagente bloccante

## Letteratura

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.