

RIDASCREEN® Campylobacter

Nº do artigo: C2401



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

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



1. Uso previsto

Para *uso* em diagnóstico *in vitro*. O RIDASCREEN® Campylobacter é um ensaio imunoenzimático para a identificação qualitativa de antígenos de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em amostras de fezes humanas e em culturas.

2. Resumo e explicação do teste

A campilobacteriose é apenas ultrapassada pela salmonelose como a causa mais frequente de diarreia em humanos em todo o mundo. O grande aumento nos casos de enterite causada por bactérias *Campylobacter* é agravado pela sua ampla prevalência de cruzamento de espécies entre os animais selvagens, bem como animais domesticados usados para o trabalho ou como animais domésticos (aves e mamíferos).

Estas bactérias entram na cadeia alimentar humana como bactérias comensais no trato intestinal de aves em particular. Mas outros veículos para o transporte dos patógenos são alimentos, como leite e carne moída, bem como água potável. Grandes quantidades de patógenos *Campylobacter* que são liberados para o meio ambiente por um grande número de hospedeiros infectam, eventualmente, humanos por meio de alimentos contaminados. Outras vias de transmissão possíveis de enterite de *Campylobacter* são o contato direto com animais domésticos que são infectados com campilobacteriose e, particularmente em crianças, via fecal-oral. A dose de infecção de 500 microrganismos é relativamente baixa. Das cerca de 15 espécies conhecidas de *Campylobacter*, a *C. jejuni* e a *C. coli* são as que provocam gastroenterite em humanos. Após um período de incubação de 2 a 10 dias, os indivíduos não tratados excretam os agentes patogênicos infecciosos durante até quatro semanas em fezes. Indivíduos com deficiência imunológica podem continuar excretando os patógenos indefinidamente. Muitas das infecções tomam um curso assintomático, mas aqueles que ficam doentes após a fase prodrômica sofrem febre, cefaleia, mialgia, artralgia e fadiga, além de diarreia, cólicas abdominais e dor abdominal como os sintomas típicos de enterite. Em consistência a diarreia varia de fezes aquosas moles a sólidas, por vezes, também misturadas com sangue. A inflamação das articulações e a ocorrência rara da síndrome de Guillain-Barré são sequelas tardias da doença.

O tratamento sintomático com reposição de líquidos e eletrólitos é mais comum; o tratamento com antibióticos somente é utilizado nos casos graves da doença. O sucesso na cultura desses patógenos sensíveis requer as amostras de fezes mais frescas possíveis e o transporte refrigerado em distâncias curtas. As técnicas modernas para a identificação dos antígenos não dependem desses pré-requisitos, por exemplo, o RIDASCREEN® Campylobacter ELISA, que detecta o antígeno específico de *Campylobacter* em uma amostra de fezes, após os agentes patogênicos não poderem mais ser cultivados.

3. Princípio do teste

O teste RIDASCREEN® *Campylobacter* emprega anticorpos monoclonais em um método do tipo sanduíche. A superfície da placa de micropoços é revestida com anticorpos monoclonais específicos aos antígenos de *Campylobacter*.

Usa-se uma pipeta para posicionar uma suspensão da amostra de fezes para ser examinada, bem como as amostras de controle no poço da placa de micropoços, juntamente com anticorpos anti-*Campylobacter* biotinados (conjugado 1) para incubação à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Depois de uma etapa de lavagem, o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase (Conjugado 2) é adicionado e incubado novamente à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Se há antígenos de *Campylobacter* em uma amostra, os anticorpos imobilizados, os antígenos e os anticorpos conjugados formam um complexo de sanduíche. Outra etapa de lavagem remove o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase não ligado. Em amostras positivas, a adição de um substrato muda a enzima ligada, de uma solução incolor para uma solução azul. A adição de um reagente de parada muda a cor de azul para amarelo. A extinção é proporcional à concentração de antígenos de *Campylobacter* encontrados na amostra.

4. Reagentes fornecidos

Os reagentes do kit são suficientes para 96 determinações.

Plate	96	Placa de micropoços, 12 tiras de micropoços (que podem ser divididas) no suporte para tiras; revestida com anticorpos monoclonais específicos para os antígenos de <i>Campylobacter jejuni</i> e <i>Campylobacter coli</i>
Diluent 1	100 ml	Tampão de diluição de amostra, solução de NaCl tamponada com proteína, pronto para usar, cor azul
Wash	100 ml	Tampão de lavagem, solução de NaCl tamponada com fosfato (concentrada 10-vezes); contém 0,1% de timerosal
Control +	2 ml	Controle positivo; antígeno de <i>Campylobacter</i> inativado; pronto para usar
Control -	2 ml	Controle negativo (tampão de diluição da amostra); pronto para usar
Conjugate 1	13 ml	Anticorpos conjugados à biotina contra o <i>Campylobacter jejuni</i> e <i>Campylobacter coli</i> em uma solução de proteína estabilizada; pronto para usar; cor azul
Conjugate 2	13 ml	Conjugado de estreptavidina poli-peroxidase em solução de proteína estabilizada; pronto para usar; cor laranja

Substrate	13 ml	Peróxido de hidrogênio/TMB; pronto para usar
Stop	12 ml	Reagente de parada; 1 N de ácido sulfúrico; pronto para usar

5. Reagentes e sua armazenagem

Todos os reagentes devem ser armazenados a 2 – 8 °C e podem ser usados até a data impressa na etiqueta. Armazenado a 2–8 °C, o tampão de lavagem diluído pode ser usado por, no máximo 4 semanas. Deve-se evitar a contaminação microbiana. Após a data de expiração, a garantia da qualidade já não é válida.

A bolsa de alumínio deve ser aberta com tesoura de forma que a vedação de grampo não seja rasgada. As tiras de micropoços que não forem necessárias devem ser colocadas em uma bolsa de alumínio imediatamente e armazenadas a 2–8 °C.

O substrato incolor também deve ser protegido contra a luz solar direta, para impedir que se decomponha ou fique azul devido à auto-oxidação. Depois que o substrato fica azul, ele não pode mais ser utilizado.

6. Reagentes adicionais necessários – e equipamento necessário

6.1. Reagentes fornecidos

- Água destilada ou deionizada

6.2. Equipamento

- Tubos de ensaio
- Pipetas descartáveis (Artigo no: Z0001)
- Misturador de vórtice (opcional, consulte 9.3.)
- Micropipeta para volumes de 50 - 100 µl e 1 ml
- Cilindro de medição (1.000 ml)
- Cronômetro
- Dispositivo de lavagem para placas de micropoços ou pipetas multicanal (300 µl)
- Fotômetro para placas de micropoços (450 nm e filtro de referência de 620 - 650 nm)
- Papel filtro (toalhas para laboratório)
- Contêiner de resíduos com uma solução de 0,5% de hipoclorito

7. Precauções de uso

Apenas para *uso em diagnóstico* in vitro.

Este ensaio só deve ser realizado por profissionais de laboratório treinados. As diretrizes para trabalhar em laboratórios médicos devem ser seguidas. Sempre siga rigorosamente as instruções para os usuários referentes a este teste.

As amostras ou reagentes não devem ser pipetados com a boca, e o contato com a pele ferida ou com membranas mucosas deve ser evitado. Use equipamento de proteção pessoal (luvas adequadas, avental, óculos de segurança) ao manusear as amostras e lave as mãos depois de concluir o teste. Não fume, coma ou beba nas áreas onde amostras ou reagentes estão sendo processados.

Para ver mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança de Materiais (MSDS) em www.r-biopharm.com.

O kit inclui um controle positivo que contém o antígeno de *Campylobacter* inativado. Isso, assim como as amostras de pacientes, deve ser tratado como material potencialmente infeccioso e manuseado de acordo com as normas de segurança nacionais.

O tampão de lavagem contém 0,1% de timerosal como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou membranas mucosas.

Garanta o descarte adequado e responsável de todos os reagentes e materiais após o uso. Para o descarte, siga os regulamentos nacionais.

8. Coleta e armazenagem de amostras

Até o momento da utilização, armazene o material de teste a 2 - 8 °C. Se não for possível usar o material para um teste dentro de três dias, recomendamos a armazenagem a -20 °C ou menos. Evite congelar e descongelar a amostra repetidamente. Depois de diluir uma amostra de fezes no tampão de diluição de amostra 1:11, ela pode ser armazenada a 4 °C para uso dentro de sete dias.

As amostras de fezes não devem ser coletadas em contêineres de transporte contendo meios conservantes, soros animais, íons metálicos, agentes oxidantes ou detergentes, já que podem interferir no teste RIDASCREEN® *Campylobacter*.

As amostras de fezes embaladas nos meios de transporte normalmente comercializados (Cary Blair, Amies) podem ser usadas no RIDASCREEN® *Campylobacter* ELISA. No entanto, a pré-diluição aqui requerida da amostra deve ser levada em conta. Na medida do possível, a diluição final da amostra de fezes em Diluent 1 deve ser precisamente 1:11.

Se esfregaços retais forem utilizados, certifique-se de que o volume de material fecal seja suficiente (aprox. 100 mg) para o teste.

O rastreio do contato deve incluir amostras de fezes tomadas de pessoas de contato que não apresentam sintomas clínicos, para identificar portadores assintomáticos.

9. Procedimentos do teste

9.1. Informações gerais

Todos os reagentes e a placa de micropoços devem atingir a temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes do uso. As tiras de micropoços não devem ser removidas da bolsa de alumínio até

atingir a temperatura ambiente. Os reagentes devem ser misturados totalmente imediatamente antes do uso. Depois do uso, as tiras de micropoços (colocadas em bolsas vedadas) e os reagentes devem ser armazenados a 2 - 8 °C. Depois de usadas, as tiras de micropoços não podem ser usadas novamente. Os reagentes e as tiras de micropoços não devem ser usados se a embalagem estiver danificada ou os frascos estiverem vazando.

Para evitar a contaminação cruzada, deve-se impedir que as amostras entrem em contato com os componentes do kit.

O teste não deve ser realizado sob luz solar direta. Recomendamos a cobertura da tira de micropoços ou a vedação com plástico para evitar perdas por evaporação.

9.2. Preparação do tampão de lavagem

Misture 1 parte de concentrado de tampão de lavagem **Wash** com 9 partes de água destilada. Quaisquer cristais presentes no concentrado deverão ser dissolvidos previamente aquecendo em banho-maria a 37 °C.

9.3 Preparação das amostras

Encha um tubo de ensaio com 1 ml de **Diluent | 1** tampão de diluição da amostra RIDASCREEN®. Use uma pipeta descartável (artigo no Z0001) para aspirar uma amostra fina de fezes (aprox. 100 µl) até um ponto logo acima da segunda marcação e adicione isto ao tampão no tubo de ensaio para fazer uma suspensão. Para fazer uma suspensão com uma amostra de fezes sólidas, adicione uma quantidade equivalente (aprox. 50 - 100 mg) com uma espátula ou ansa de inoculação descartável.

Homogeneíze a suspensão de fezes por sucção e ejeção com uma pipeta ou, como alternativa, misture com um misturador vortex.

Deixe a suspensão descansar por um breve período para que as partículas grossas de fezes assentem; esse sobrenadante clarificado da suspensão de fezes pode ser usado diretamente no teste. Caso o procedimento do teste seja realizado em um sistema ELISA automatizado, o sobrenadante **deve** obrigatoriamente estar livre de partículas. Nesse caso, é recomendável centrifugar a amostra a 2.500 G durante 5 minutos.

Obs.:

Amostras de fezes diluídas em **Diluent | 1** podem ser usadas em outro RIDASCREEN® ELISA, desde que ele também utilize o **Diluent | 1**.

9.4. Primeira incubação

Depois de encher um número suficiente de poços no suporte de tiras, adicione 100 µl do positivo **Control | +**, do negativo **Control | -** ou da suspensão da amostra de fezes (ou, caso esteja disponível, o sobrenadante da suspensão da colônia) aos poços. Em seguida, adicione 100 µl do anticorpo conjugado à biotinado **Conjugate | 1** e misture (batendo levemente no lado da placa); depois, incube por 60 minutos à temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.5. Lavagem

Lavar cuidadosamente é importante para a obtenção de resultados corretos. Portanto, siga rigorosamente as instruções. A substância incubada nos poços deve ser esvaziada em um contêiner de resíduos para o descarte de acordo com os regulamentos locais. Depois disso, deite a placa em um papel absorvente para remover a umidade residual. Em seguida, lave a placa cinco vezes usando 300 µl de tampão de lavagem em cada vez. Certifique-se de que os poços sejam totalmente esvaziados, deitando-os, após cada lavagem, em uma parte do papel absorvente que ainda esteja seca e não tenha sido usada.

Se você usa uma lavadora de microplacas ou um ELISA totalmente automatizado, certifique-se de que a máquina esteja ajustada corretamente; se necessário, solicite os ajustes do fabricante. Os aparelhos que a R-Biopharm fornece já estão programados com ajustes e protocolos de controle validados. Para evitar o entupimento das agulhas de lavagem, entregue somente suspensões de fezes livres de partícula (consulte o Item 9.3., Preparação das amostras). Além disso, certifique-se de que todo o líquido seja aspirado durante cada etapa de lavagem.

9.6. Segunda incubação

Use uma pipeta para colocar 100 µl de conjugado de estreptavidina poli-HRP **Conjugate | 2** nos poços e, em seguida, incube durante 30 minutos à temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.7. Lavagem

Lave conforme o descrito no Item 9.5.

9.8. Terceira incubação

Encha todos os poços com 100 µl de substrato **Substrate**. Em seguida, incube a placa por 15 minutos no escuro à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Em seguida, coloque 50 µl de reagente de parada em todos os poços **Stop** fim de parar a reação. Depois de misturar cuidadosamente ao bater ligeiramente no lado da placa, meça a extinção a 450 nm (opcional: 450/620 nm). Ajuste o ponto zero no ar, ou seja, sem a placa de micropoços.

Obs.:

Amostras altamente positivas de pacientes podem provocar precipitados de cor preta do substrato.

9.9 Protocolo de teste resumido

Os tempos de incubação descritos nos itens 9.4 e 9.6 podem ser significativamente reduzidos caso a placa seja incubada a 37 °C e com uma frequência de vibração de 20 - 25 Hz (DSX®, Fa. Dynex). Os tempos de incubação passam a ser os seguintes:

Incubação 1: 30 minutos

Incubação 2: 15 minutos

Incubação 3: 15 minutos

Agitadores de placas de micropoços separados também são adequados, como o Thermomixer da Eppendorf (ajuste de frequência: 850 RPM) ou também o DTS-2 da LTF Labortechnik (ajuste de frequência: 800 RPM).

10. Controle de qualidade - indicações da expiração do reagente

Para fins de controle de qualidade, controles positivos e negativos devem ser usados cada vez que o teste é realizado, para garantir que os reagentes estejam estáveis e que o teste seja realizado corretamente. O teste foi realizado corretamente se a taxa de extinção (O. D.) do controle negativo é inferior a 0,2 a 450 nm (inferior a 0,160 a 450/620 nm) e o valor medido para o controle positivo é maior que 0,8 a 450 nm ou a 450/620 nm. Um valor superior a 0,2 (0,160) para o controle negativo pode indicar que a lavagem foi insuficiente. O desvio os valores exigidos, bem como uma cor turva ou azul do substrato incolor antes que seja colocado nos poços pode indicar que os reagentes expiraram. Se os valores estipulados não forem obtidos, verifique os pontos a seguir antes de repetir o teste:

- Data de expiração dos reagentes usados
- Funcionalidade do equipamento que está sendo usado (por exemplo: calibragem)
- Procedimento de teste correto
- Inspeção visual dos componentes do kit à procura de contaminação ou vazamentos - a solução de substrato que se torna azulada não deve ser usada.

Se mesmo assim as condições não forem preenchidas após a repetição do teste, consulte o fabricante ou o distribuidor local da R-Biopharm.

11. Avaliação e interpretação

11.1. Cálculo do corte

Para estabelecer o corte, 0,15 unidade de extinção é adicionada à extinção medida para o controle negativo.

$$\text{Corte} = \text{extinção para o controle negativo} + 0,15$$

11.2. Resultados do teste

A avaliação da amostra é **positiva** se a taxa de extinção é mais do que 10% superior ao valor de corte calculado.

A avaliação da amostra é **marginal** se a taxa de extinção varia entre 10% menor e 10% maior que o valor de corte. Se a repetição do exame com uma nova amostra de fezes fica novamente na zona cinza, a avaliação da amostra é negativa.

Amostras com extinções mais de 10% abaixo do corte calculado devem ser consideradas **negativas**.

12. Limitações do método

O Teste de Campylobacter RIDASCREEN® identifica os antígenos específicos do *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em amostras de fezes. Não é possível associar o nível determinado de extinção à ocorrência ou gravidade dos sintomas clínicos. **Os resultados obtidos sempre devem ser interpretados em conjunto com o quadro clínico.**

Um resultado **positivo** não descarta a presença de outros patógenos infecciosos.

Um resultado **negativo** não descarta a possibilidade de infecção por *C. jejuni* ou *C. coli*. Um resultado desse tipo pode ocorrer devido à excreção intermitente do patógeno ou à quantidade muito pequena de antígeno na amostra. Se o histórico do paciente respalda a suspeita de infecção por *C. jejuni* ou *C. coli*, deve-se repetir o exame com outra amostra de fezes.

Um resultado **marginal** pode ser causado pela distribuição não homogênea dos antígenos na amostra de fezes. Nesse caso, o exame deve ser repetido com uma segunda suspensão da mesma amostra ou outra amostra de fezes deve ser solicitada.

13. Características de desempenho

13.1. Qualidade do teste

O desempenho do RIDASCREEN® Campylobacter ELISA foi avaliado num estudo de comparação com a padrão ouro, ou seja, o cultivo da bactéria em ágar CCD sob condições microaerófilas. O RIDASCREEN® Campylobacter ELISA foi utilizado para testar um total de 574 amostras de fezes a partir da prática de diagnóstico de rotina de um laboratório participante. Os resultados desse estudo são resumidos na Tabela 1.

Tabela 1: Comparação do RIDASCREEN® Campylobacter com o cultivo em placas CCDA

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

Sensibilidade :	96,8 %
Especificidade :	99,2 %
Valor preditivo positivo (VPP) :	93,8 %
Valor preditivo negativo (VPN) :	99,6 %

13.2 Sensibilidade analítica

Os limites de detecção analíticos do *C. jejuni* e do *C. coli* foram determinados separadamente. Ele descreve a menor concentração de patógenos que poderiam ainda ser identificados

positivamente no RIDASCREEN® Campylobacter ELISA (> 10% acima do corte calculado). Calculado com base nos 90 ensaios clínicos (CI ≥ 95%), o corte para o *Campylobacter jejuni* é de $1,9 \times 10^4$ CFU/ml, e para o *Campylobacter coli* é de $1,1 \times 10^6$ CFU/ml.

13.3. Reatividade cruzada

Diversos micro-organismos patogênicos do trato intestinal foram examinados com o RIDASCREEN® Campylobacter ELISA e não apresentaram reatividade cruzada. Esses testes foram realizados com suspensões bacterianas (10^6 to 10^9 cfu/ml), com culturas de parasitas (10^7 to 10^9 organismos/ml) e sobrenadantes de culturas de células infectadas com o vírus. Os resultados desse estudo estão listados na Tabela 2. Com a exceção das duas espécies de Campylobacter, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, nenhum dos organismos no teste reagiram no RIDASCREEN® Campylobacter ELISA.

Tabela 2: Reatividade cruzada com micro-organismos patogênicos do trato intestinal

Organismo	Origem/fonte	[OD 450]
Adenovírus	Sobrenadante da cultura infecciosa	0,086
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cultura	0,081
Astrovírus	Sobrenadante da cultura infecciosa	0,068
<i>Bacillus cereus</i>	Cultura	0,070
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cultura	0,067
<i>Campylobacter coli</i>	Cultura	2,007
<i>Campylobacter fetus</i>	Cultura	0,066
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultura	3,622
<i>Campylobacter lari</i>	Cultura	0,074
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Cultura	0,073
<i>Candida albicans</i>	Cultura	0,062
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultura	0,063
<i>Clostridium difficile</i>	Cultura	0,055
<i>Clostridium perfringens</i>	Cultura	0,055
<i>Clostridium sordellii</i>	Cultura	0,060
<i>Cryptosporidium muris</i>	Cultura	0,062
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultura	0,060
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Cultura	0,058
<i>E. coli</i> (O6)	Cultura	0,054

<i>E. coli (O157:H7)</i>	Cultura	0,054
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultura	0,053
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultura	0,059
<i>Amostra de Giardia lamblia</i>	amostra de fezes	0,078
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Cultura	0,057
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultura	0,054
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultura	0,056
Rotavírus	Sobrenadante da cultura infecciosa	0,066
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultura	0,046
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultura	0,050
<i>Serratia liquefaciens</i>	Cultura	0,047
<i>Shigella flexneri</i>	Cultura	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultura	0,051
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultura	0,052
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Cultura	0,053
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cultura	0,046

13.4. Precisão

Para determinar a precisão do ensaio, foram utilizadas seis amostras, cada uma com um nível de extinção definido (OD) que cobria toda a faixa de medição do teste. A Tabela 3 apresenta os espectros de OD das amostras.

Tabela 3: Espectros de extinção das amostras.

Amostras	Espectros de OD
Amostra 1	1,387 - 2,575
Amostra 2	0,946 - 1,758
Amostra 3	0,693 - 1,287
Amostra 4	0,470 - 0,874
Amostra 5	0,370 - 0,686
Amostra 6	0,281 - 0,523

A reprodutibilidade do RIDASCREEN® Campylobacter ELISA foi testada com as seis referências que representam toda a faixa de medição, de fraco ao altamente positivo. Para determinar a

reprodutibilidade intraensaio, 39 réplicas dessas referências foram testadas. Os valores médios e os coeficientes de variação (VC) de três lotes dos kits foram determinados. Para a reprodutibilidade intraensaio, foram testadas amostras de dez dias úteis seguidas em duplicadas, com duas execuções por dia. As medições foram determinadas em três lotes por três técnicos. A reprodutibilidade entre os lotes foi determinada para todos os três lotes de kits. Os resultados desse estudo são resumidos na Tabela 4.

Tabela 4: Valores médios e coeficientes de variação das seis referências

Amostras Valor médio / VC	Intraensaio			Entre ensaios			Entre lotes
	Lote de kits 1	Lote de kits 2	Lote de kits 3	Lote de kits 1	Lote de kits 2	Lote de kits 3	Lote de kits 1–3
Amostra 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%
Amostra 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%
Amostra 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%
Amostra 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%
Amostra 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%
Amostra 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 Substâncias interferentes

As substâncias da lista a seguir não apresentaram efeitos significativos sobre os resultados do teste quando misturadas nas amostras de fezes positivas e negativas do *Campylobacter* nas concentrações descritas:

sulfato de bário (5% w/w [peso/ peso]), loperamida (medicamento antidiarreico 5% w/w), Pepto-Bismol (medicamento antidiarreico, 5% v/w [volume/ peso]), mucinas (5% w/w), ciclamato (adoçante artificial, 5% v/w), sangue humano (5% v/w), ácido esteárico e ácido palmítico (mistura 1:1, 20% w/w), metronidazol (0,5) (antibiótico 5% v/w), diclofenaco (0,00263% v/w).

Apêndice

Símbolos específicos do teste:

Plate	Placa de micropoços
Diluent 1	Tampão de diluição da amostra
Wash	Tampão de lavagem
Control +	Controle positivo
Control -	Controle negativo
Conjugate 1	Conjugado 1
Conjugate 2	Conjugado 2
Substrate	Substrato
Stop	Reagente de parada

Bibliografia

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.