

Dosage de détection de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT

REF R247609696 tests

FR

1. DOMAINE D'APPLICATION

Le dosage de détection de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT™ est un dosage immuno-enzymatique (EIA) *in vitro* sur microplaque destiné à la détection qualitative de l'antigène spécifique de *Campylobacter* dans les échantillons fécaux et dans les coprocultures sur bouillon d'enrichissement. Le dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT est destiné à faciliter le diagnostic des infections à *Campylobacter*.

2. RÉSUMÉ

La bactérie entéropathogène *Campylobacter jejuni* est considérée comme l'un des principaux agents étiologiques de la diarrhée aiguë chez l'homme^{1,2,3}. C'est la principale cause de diarrhées bactériennes aux États-Unis où sa fréquence dépasse celles de *Salmonella* et de *Shigella* réunies^{4,5}. Bien que la maladie soit présente dans le monde entier, sa gravité se manifeste en particulier dans les pays en voie de développement. Les infections par *Campylobacter jejuni* provoquent une diarrhée parfois aqueuse pouvant contenir du sang, le plus souvent occulte, et des leucocytes fécaux⁶. Les autres symptômes sont la fièvre, des crampes abdominales, la nausée, les céphalées et les douleurs musculaires. La maladie se déclare entre 2 et 5 jours après l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés et peut durer de 7 à 10 jours. La plupart des infections guérissent spontanément et aucun traitement antibiotique n'est nécessaire⁹. Bien que les complications soient rares, il existe des exemples documentés de pathologies associées à l'infection telles que l'arthrite réactionnelle, le syndrome hémolytique et urémique, la méningite, la colite récurrente, la cholécystite aiguë et le syndrome de Guillain-Barré⁴. Les enfants de moins de 5 ans et les jeunes adultes (entre 15 et 29 ans) sont plus fréquemment sujets aux infections par *Campylobacter jejuni* que les autres tranches d'âge.

À l'heure actuelle, le diagnostic de la campylobactériose repose sur l'isolement et la culture du germe dans un bouillon d'enrichissement et sur un milieu sélectif contenant divers suppléments antibiotiques en atmosphère microaérophile contenant 5 % d'oxygène et 10 % de dioxyde de carbone. L'isolement peut prendre de deux jours à une semaine.

L'antigène spécifique (SA) de *Campylobacter* est un antigène de surface de *Campylobacter*. Une analyse par buvardage Western révèle 2 bandes de poids moléculaires approximatifs de 15 kd et 66 kd. Les études de réactivité croisée qui ont été réalisées indiquent que cet antigène est commun à *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*.

3. PRINCIPE DU TEST

Le dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT est un dosage immunologique en phase solide pour la détection de l'antigène spécifique (SA) de *Campylobacter*. Des prélèvements de selles dilués sont ajoutés dans les puits d'une microplaque sécable, sur lesquels est fixé l'anticorps polyclonal de lapin, anti-antigène spécifique de *Campylobacter*. L'antigène spécifique de *Campylobacter* éventuellement présent est « capturé » par l'anticorps fixé. Les puits sont incubés puis lavés pour éliminer toute matière non fixée. Le conjugué enzymatique est ajouté (anticorps polyclonal anti-SA de *Campylobacter* marqué avec l'enzyme peroxydase de raifort). Les puits sont incubés puis lavés pour éliminer le conjugué enzymatique non fixé. Si la réaction est positive, l'antigène spécifique de *Campylobacter* capturé fixe le conjugué enzymatique dans le puits. Le substrat de l'enzyme, 3,3',5,5'- tétraméthylbenzidine (TMB), est ajouté. Si la réaction est positive, l'enzyme fixée au puits par l'antigène spécifique de *Campylobacter* convertit le substrat en produit de réaction coloré. La fixation de la couleur peut être détectée visuellement ou à l'aide d'un spectrophotomètre. Si la réaction est négative, l'antigène spécifique de *Campylobacter* n'est pas présent ou en quantité insuffisante pour fixer au puits le conjugué enzymatique et aucun produit de réaction coloré ne se développe.

4. DÉFINITION DES SYMBOLES

REF	Numéro de référence
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Contenu suffisant pour <n> tests
	Consulter la notice d'utilisation
	Limites de température de stockage
LOT	Code de lot (Numéro de lot)
	Utiliser avant (Date de péremption)
	Fabricant
DILUTED SAMPLE	Échantillon dilué

5. CONTENU DU COFFRET, PRÉPARATION POUR UTILISATION ET CONSERVATION

Le coffret de détection de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT inclut des réactifs en quantité suffisante pour réaliser  96 tests.

Voir également **Précautions**, à la section **6**.

La date de péremption de chaque coffret est indiquée sur l'étiquette de l'emballage.

Conserver tous les composants entre 2 et 8 °C.

Avant utilisation, laisser tous les réactifs atteindre la température ambiante (20 à 25 °C) et mélanger délicatement. Remettre les réactifs inutilisés au réfrigérateur après utilisation.

À l'exception du tampon de lavage, tous les réactifs sont fournis prêts à l'emploi. Les réactifs peuvent être distribués directement à partir des flacons compte-gouttes ou versés au moyen de pipettes multicanaux. Si trop de réactif a été versé, l'excès doit être éliminé et ne doit en aucun cas être remis dans le flacon.



Notice d'utilisation

Pipettes de transfert

Support de barrettes de microplaques et couvercle

Fiche de procédure

MICROTITRATION PLATE

Microplaque* (8 puits par barrette)

6 barrettes (R2476048) ou 12 barrettes (R2476096) recouvertes d'anticorps polyclonal de lapin anti-SA de *Campylobacter*. Les barrettes de microplaques inutilisées doivent être conservées dans le sachet métallisé refermable qui contient un agent dessiccatif pour éliminer l'humidité.

CONJUGATE

Conjugué enzymatique*

Un flacon compte-gouttes de 12 ml (R2476048) ou de 25 ml (R2476096) d'anticorps polyclonal de lapin anti-SA de *Campylobacter* marqué à la peroxydase de raifort contenant des agents antimicrobiens.

CONTROL +

Contrôle positif

Un flacon compte-gouttes de 4 ml de culture surnageante de *Campylobacter jejuni* inactivé en suspension dans une solution tamponnée contenant du sérum bovin fœtal et des agents antimicrobiens.

CONTROL -

Contrôle négatif

Un flacon compte-gouttes de 4 ml de solution tamponnée contenant du sérum de lapin, une teinture rouge et des agents antimicrobiens.

SAMPLE DILUTION

Tampon pour dilution d'échantillon

Un flacon de 120 ml de solution tamponnée contenant du sérum de lapin, une teinture rouge et des agents antimicrobiens.

Tampon de lavage

Un flacon de 120 ml de solution tamponnée concentrée (x10) contenant des agents antimicrobiens.

Diluer au dixième le concentré de tampon de lavage (x10) en ajoutant un volume de concentré à 9 volumes d'eau distillée ou déminéralisée. Le tampon de lavage dilué reste stable pendant un mois s'il est conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.

SUBSTRATE TMB

Substrat coloré

Un flacon compte-gouttes de 12 ml (R2476048) ou de 25 ml (R2476096) de 3,3',5,5'- tétraméthylbenzidine (TMB) dans le tampon.

Le substrat coloré doit être versé directement depuis le flacon antilumière fourni et doit y être conservé entre deux utilisations. Une portion aliquote de substrat coloré prélevée dans le flacon original, pour quelque raison que ce soit, ne doit en aucun cas y être reversée.

STOP SOLUTION

Solution d'arrêt

Un flacon compte-gouttes de 12 ml d'acide sulfurique à 0,46 mol/l.

***Remarque** : Les réactifs provenant de coffrets portant des numéros de lot différents ne sont pas interchangeables.

6. PRÉCAUTIONS

IVD

Les réactifs sont destinés uniquement au diagnostic *in vitro*.

Uniquement pour usage professionnel.

Se référer à la fiche de données de sécurité (SDS) et à l'étiquetage des produits pour prendre connaissance des informations relatives aux composants potentiellement dangereux.

INFORMATIONS DE SÉCURITÉ

- Les réactifs sont préparés à partir de matériaux biologiques et doivent être considérés au cours de leur manipulation comme potentiellement infectieux. Les éliminer en respectant les procédures appropriées contre les risques biologiques.
- Ne pas prélever de produits dans une pipette par aspiration buccale. Porter des gants jetables et des lunettes de sécurité pendant la manipulation des échantillons et l'exécution du test. Se laver soigneusement les mains à la fin du test.
- Les échantillons peuvent contenir des agents potentiellement infectieux et doivent être manipulés conformément aux procédures de biosécurité de niveau 2, exposées dans le manuel du CDC/NIH, « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories », 5e édition.
- Le tampon de lavage contient une substance qui peut s'avérer sensibilisante au niveau cutané (< 1 % v/v). Éviter tout contact avec la peau. Porter des gants jetables en vinyle ou en nitrile.
- Jeter le tampon de lavage utilisé dans un conteneur adapté aux produits présentant un risque biologique.

PRÉCAUTIONS D'ANALYSE

- Lire attentivement et suivre scrupuleusement toutes les instructions de cette notice.
- Les réactifs sont fournis dosés et prêts à l'emploi, à l'exception du concentré de tampon de lavage. Ne pas diluer les réactifs sauf instruction contraire.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà des dates de péremption. Ces dates sont imprimées sur l'étiquette de chaque réactif. L'utilisation de réactifs au-delà de la date de péremption risque d'altérer la précision des résultats.
- Les réactifs communs suivants peuvent être utilisés pour toute la gamme de produits ProSpecT : le tampon de lavage, le substrat coloré et la solution d'arrêt.
- La contamination microbienne des réactifs peut diminuer la précision du test. Pour éviter la contamination microbienne des réactifs, utiliser des pipettes stériles à usage unique pour prélever des portions aliquotes dans les flacons de réactif.
- Laisser aux réactifs et aux échantillons dilués le temps d'atteindre la température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation.
- Les barrettes de microplaques doivent être conservées

dans le sachet métallisé refermable contenant un agent dessiccant pour protéger les micropuits de l'humidité.

6.13. Les prélèvements de selles doivent être entièrement mélangés avant tout traitement de l'échantillon pour garantir une parfaite représentativité. NE PAS CONCENTRER LES ÉCHANTILLONS AVANT LE TEST.

6.14. Le substrat coloré est sensible à l'exposition à la lumière. Tout réactif fixant la couleur lors de son exposition à la lumière doit être jeté.

6.15. Les personnes atteintes de daltonisme ou de déficience visuelle peuvent avoir des difficultés à interpréter le test visuellement. Elles doivent utiliser les mesures relevées au spectrophotomètre pour interpréter les résultats.

6.16. Respecter le même ordre d'ajout des réactifs dans les puits tout au long de la procédure. Pour éviter toute contamination, ne pas toucher le liquide contenu dans les puits avec la pointe des flacons.

6.17. Chronométrer chaque incubation avec précision. Commencer à compter après avoir ajouté le réactif dans le dernier puits de chaque microplaque à tester. Pour assurer la précision du chronométrage, ne pas traiter simultanément plus de trois plaques de 96 puits. Tout écart par rapport à la procédure établie risque d'altérer la performance du test.

6.18. Il est important de tenir les flacons compte-gouttes verticalement afin que les gouttes se forment à l'extrémité de l'embout. Si l'embout est mouillé, une goutte d'un volume incorrect va se former autour de l'extrémité et non à la pointe ; le cas échéant, sécher l'embout avant de procéder au test.

7. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS FÉCAUX

Dans le cas du test direct des échantillons de selles, les résultats optimaux sont obtenus lorsque le test a lieu dès réception des échantillons au laboratoire. Si un bouillon d'enrichissement est utilisé, les échantillons doivent y être placés dès leur réception au laboratoire.

FRAIS Les prélèvements de selles frais non fixés doivent être conservés entre 2 et 8 °C et être examinés dans les 72 heures.

Les échantillons peuvent être dilués au 1/3 dans le tampon pour dilution d'échantillon et conservés au réfrigérateur entre 2 et 8 °C pendant un maximum de 72 heures avant le test.

CONGELÉS Les prélèvements de selles doivent être conservés à une température de -20 °C ou plus si le test doit avoir lieu au-delà de 72 heures. Éviter de répéter les cycles de congélation-décongélation.

CARY BLAIR Les échantillons recueillis sur un milieu de transport Cary Blair doivent être réfrigérés entre 2 et 8 °C et analysés dans la semaine suivant le prélèvement.

8. PROCÉDURE DE TEST

MATÉRIEL NÉCESSAIRE FOURNI

Voir **Contenu du coffret**, à la section 5

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Récipients de recueil de selles
Minuteur
Flacon de lavage pour le tampon de lavage
Eau distillée ou déminéralisée

MATÉRIEL EN OPTION NON FOURNI

Lecteur de microplaque pour lecture à 450 nm ou à 450/620 à 650 nm

Bâtonnets applicateurs à embout recouvert de rayonne ou de coton

Micropipette pour la délivrance de volumes jusqu'à 200 µl

Tubes à essai à usage unique en plastique ou en verre
Mélangeur vortex avec adaptateur ou agitateur de plaques

PROCÉDURE

8.1. **Préparation des échantillons pour le test :** Les échantillons dans des milieux de transport de Cary Blair peuvent être ajoutés directement dans les puits de la microplaque pour le test (voir l'étape 8.4 ci-dessous). Les échantillons doivent être bien mélangés dans le milieu de transport avant leur transfert dans un puits.

Les échantillons de selles fraîches et les coprocultures sur bouillon d'enrichissement doivent être dilués (voir la section **A** ou **B** ci-dessous).

A	Analyse directe des selles pour les échantillons frais non fixés
1	Ajouter 0,6 ml de tampon pour dilution d'échantillon dans un tube à essai propre, à usage unique, en verre ou en plastique.
2	Mélanger l'échantillon de selles le plus soigneusement possible.
3	Pour les selles liquides ou semi solides, utiliser une pipette de transfert pour ajouter 0,3 ml environ (troisième repère à partir de l'embout de la pipette). Déposer l'échantillon dans le tampon pour dilution d'échantillon et mélanger en aspirant une fois vers le haut puis vers le bas. Laisser la pipette de transfert dans le tube.
4	Pour les selles solides, utiliser un bâtonnet applicateur et ajouter 0,3 g (diamètre ~6 mm). À l'aide du bâtonnet applicateur, émulsionner l'échantillon dans le tampon pour dilution d'échantillon. Placer une pipette de transfert dans le tube et mélanger le contenu du tube en aspirant une fois vers le haut puis vers le bas. Laisser la pipette de transfert dans le tube.
5	PASSER À L'ÉTAPE 8.2

B	Méthode pour les échantillons sur bouillon d'enrichissement
1	Inoculer 150 µl ou 3 gouttes d'échantillon de selles dans 5 ml de bouillon GN-Hajna.
2	Incuber à 35 °C +/- 2 °C dans les conditions atmosphériques ambiantes pendant 18 à 24 heures.
3	Ajouter 0,6 ml de tampon pour dilution d'échantillon dans un tube propre de 12 x 75 mm.
4	Transférer 0,3 ml de bouillon de culture dans 0,6 ml de tampon pour dilution d'échantillon à l'aide d'une pipette de transfert. Laisser la pipette de transfert dans le tube.
5	PASSER À L'ÉTAPE 8.2

8.2. Ouvrir le sachet métallisé, retirer le nombre nécessaire de barrettes de microplaques et les placer dans un support de barrette de microplaques. Utiliser un puits pour le contrôle négatif et un puits pour le contrôle positif. Si moins de 8 puits doivent être utilisés, détacher d'une

barrette le nombre nécessaire de puits et remettre les puits non utilisés dans le sachet métallisé contenant le dessiccant. REFERMER LE SACHET HERMÉTIQUEMENT AFIN D'ÉVITER L'INTRODUCTION D'HUMIDITÉ, ET REMETTRE AU RÉFRIGÉRATEUR.

8.3. Ajouter **4 gouttes** (200 µl) de contrôle négatif dans les puits A1. Ajouter **4 gouttes** (200 µl) de contrôle positif dans les puits B1.

8.4. À l'aide d'une pipette de transfert, ajouter **4 gouttes** d'échantillon dilué ou de coproculture sur bouillon d'enrichissement ou **4 gouttes** d'échantillon en milieu de transport par puits. Remarque : Placer l'embout de la pipette de transfert juste à l'intérieur du puits pour éviter toute éclaboussure dans les puits adjacents.

8.5. **Couvrir** la microplaque et incubé à température ambiante (20 à 25 °C) pendant **60 minutes**. Commencer à chronométrer une fois le dernier échantillon ajouté.

8.6. Aspirer ou déverser le contenu des puits. Procéder au lavage en remplissant complètement chaque puits avec le tampon de lavage **dilué** (~350 à 400 µl par puits). Déverser tout le liquide des puits ou l'aspirer après chaque lavage. Au total, procéder à **3 lavages**. Après le dernier lavage, éliminer tout contenu résiduel en tapotant la plaque sur des serviettes en papier propres ou aspirer. Éliminer autant de tampon de lavage que possible sans jamais laisser les puits s'assécher complètement.

8.7. Ajouter **4 gouttes** (200 µl) de conjugué enzymatique dans chaque puits.

8.8. **Couvrir** la microplaque et incubé à température ambiante (20 à 25 °C) pendant **30 minutes**.

8.9. Vider chaque puits ou aspirer son contenu, puits laver **5 fois** comme indiqué à l'étape 8.6.

8.10. Ajouter **4 gouttes** (200 µl) de substrat coloré dans chaque puits.

8.11. **Couvrir** la microplaque et incubé à température ambiante (20 à 25 °C) pendant **10 minutes**.

8.12. Ajouter **1 goutte** (50 µl) de solution d'arrêt dans chaque puits. Tapoter ou vortexer les puits jusqu'à ce que la couleur jaune soit uniforme. Lire les résultats dans les **10 minutes** suivant l'ajout de la solution d'arrêt.

8.13. Lire visuellement ou par spectrophotométrie à 450 nm (longueur d'onde simple) ou à 450/620 à 650 nm (longueur d'onde double).

9. CONTRÔLE QUALITÉ

Les contrôles positif et négatif doivent être inclus lors de chaque réalisation du test. Les contrôles positifs et négatifs ont pour but de contrôler à la fois les réactifs et la procédure. Ces contrôles ont pour objet de révéler tout échec substantiel des réactifs. Le contrôle positif ne garantit pas la précision du seuil de détection.

La densité optique (DO) du contrôle négatif doit être < 0,100 à 450 nm ou < 0,070 à 450/620 à 650 nm. Le contrôle négatif doit être incolore à l'examen visuel. Si le contrôle négatif présente une couleur jaune d'intensité égale ou supérieure à 1+ sur la fiche de procédure, le test doit être réitéré en prêtant une attention particulière au lavage.

La DO du contrôle positif doit être > 0,500 à 450 nm ou à 450/620 à 650 nm. À l'examen visuel, l'intensité de couleur du contrôle positif doit être supérieure ou égale à celle de la couleur de

la réaction 2+ de la fiche de procédure. Si la couleur est d'une intensité inférieure, prendre contact avec l'assistance technique.

10. RÉSULTATS

Consulter la fiche de procédure jointe pour l'interprétation des couleurs.

EXAMEN VISUEL

10.1. Lire les résultats du test en les comparant aux couleurs de réaction de la fiche de procédure.

Positif : couleur jaune d'intensité minimale 1+

Négatif : incolore

Indéterminé : couleur jaune pâle, inférieure à la réaction 1+

10.2. Interprétation des résultats visuels :

Positif : Si une couleur jaune d'une intensité au moins égale à 1+ se développe dans le puits, l'échantillon contient l'antigène spécifique de *Campylobacter* et le test est positif.

Négatif : L'absence de couleur révèle un résultat négatif et indique que l'échantillon testé ne contient pas d'antigène spécifique de *Campylobacter* ou en contient une proportion indétectable.

Indéterminé : Si une couleur jaune pâle d'une intensité inférieure à 1+ se développe, le résultat du test est indéterminé. Dans ce cas, le test doit être réitéré. Si au second test les résultats sont positifs, l'échantillon est positif. Si les résultats sont négatifs, l'échantillon est négatif. Si les résultats restent indéterminés, obtenir un nouvel échantillon et refaire le test.

EXAMEN AU SPECTROPHOTOMÈTRE

10.3. Lire les résultats sur la longueur d'onde simple (450 nm) ou double (450/620 à 650 nm).

10.4. Lecture des résultats du test :

A. Longueur d'onde simple	Selles fraîches	Milieu de transport/bouillon
Négatif :	DO < 0,130	< 0,100
Indéterminé :	DO 0,130 - 0,170	0,100 - 0,130
Positif :	DO > 0,170	> 0,130
B. Longueur d'onde double	Selles fraîches	Milieu de transport/bouillon
Négatif :	DO < 0,100	< 0,070
Indéterminé :	DO 0,100 - 0,140	0,070 - 0,100
Positif :	DO > 0,140	> 0,100

10.5. Interprétation des résultats enregistrés au spectrophotomètre :

Positif : Une DO mesurée supérieure à celle du seuil indiqué pour les longueurs d'onde simple ou double par type d'échantillon révèle un résultat positif et indique la présence de l'antigène spécifique de *Campylobacter*.

Négatif : Une DO mesurée inférieure à celle du seuil indiqué pour les longueurs d'onde simple ou double par type d'échantillon révèle un résultat négatif et indique que l'échantillon testé ne contient pas d'antigène spécifique de *Campylobacter* ou en contient une proportion indétectable.
Indéterminé : Les valeurs de DO situées dans la plage indiquée comme indéterminée par type d'échantillon révèlent un résultat indéterminé. Dans ce cas, le test doit être réitéré. Si au second test les résultats sont positifs, l'échantillon est positif. Si les résultats sont négatifs, l'échantillon est négatif. Si les résultats restent

indéterminés, obtenir un nouvel échantillon et refaire le test.

Un résultat est indéterminé lorsque les résultats de l'examen visuel et de l'examen spectrophotomètre concordent. Dans ce cas, le test doit être réitéré. Si au second test les résultats sont positifs, l'échantillon est positif. Si les résultats sont négatifs, l'échantillon est négatif. Si les résultats restent indéterminés, obtenir un nouvel échantillon et refaire le test.

Remarque : Si un puits apparaissant limpide à l'examen visuel offre une lecture de DO ne coïncidant pas avec l'interprétation visuelle, les résultats doivent être considérés comme divergents ; il faut rechercher l'existence, dans le puits, de bulles ou de petites particules, ou la présence d'un film opaque en dessous du puits. Pour éliminer le film, essuyer le dessous des puits et lire à nouveau la DO. Si la divergence entre lecture visuelle et DO persiste, réitérer le test.

11. LIMITES DE PERFORMANCE

La validité des résultats de la détection de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT dépend de la conformité des réactions des contrôles avec les réactions attendues. Voir **Contrôle qualité**, à la section 9.

Un résultat de test négatif n'exclut pas la possibilité de la présence de *Campylobacter* et peut provenir de la présence dans l'échantillon d'un taux d'antigène inférieur au seuil de détection du test. La corrélation entre la quantité d'antigène présente dans un échantillon et la forme clinique n'a pas été établie.

Comme pour tout test de diagnostic *in vitro*, les résultats doivent être interprétés par le clinicien en les corroborant avec d'autres résultats cliniques et/ou d'autres résultats de laboratoire.

La qualité du prélèvement et du traitement des échantillons est essentielle pour la précision du dosage. Les résultats optimaux sont obtenus sur les échantillons testés aussitôt après le prélèvement. Voir **Prélèvement des échantillons fécaux**, à la section 7.

Le dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT ne permet pas de distinguer *C. jejuni* et *C. coli* ; la détection est incertaine pour d'autres sérotypes et sous-espèces. L'existence d'une réaction croisée entre *C. upsalensis*, *C. hyointestinalis*, et *C. helveticus* n'est pas avérée.

12. VALEURS ATTENDUES

Campylobacter jejuni est la principale cause de diarrhées bactériennes aux États-Unis et c'est en été et en automne que les infections sont les plus fortes⁵. Celles-ci se déclarent généralement après l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Des tests réalisés sur des échantillons de viande de volaille congelée du commerce ont révélé des taux de contamination allant de 30 à 90 %⁵. *C. jejuni* est très répandu dans le règne animal et a été isolé chez divers animaux domestiques, la volaille et quasiment toutes les espèces d'oiseaux sauvages. Les modes de transmission documentés incluent les contacts sexuels et la contamination oro-fécale, ainsi que l'absorption d'eau de surface contaminée⁵. Les enfants de moins de 5 ans et les jeunes adultes dont l'âge se situe entre 15 et 29 ans sont plus fréquemment sujets aux infections que les autres tranches d'âge. Une étude récente du College of American Pathologists portant sur 601 établissements a constaté la présence d'un pathogène bactérien identifiable dans 6,4 % des 59 500 échantillons soumis⁷. *Campylobacter* a été identifié dans 1,5 % des échantillons, *Salmonella* dans 1,15 % et *Shigella* dans 0,9 %. Les taux de prévalence de *C. jejuni* aux États-Unis

sont compris entre 1 et 4,6 %⁸. Des taux allant jusqu'à 2,9 % ont également été constatés dans le cadre d'une étude suisse menée pendant quatre ans⁸.

13. PERFORMANCE DU TEST

SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ

Le dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT a été évalué dans trois centres cliniques géographiquement distincts aux États-Unis et au Canada, à savoir le Metropolitan Hospital en Illinois, un grand laboratoire de référence du New Jersey et un laboratoire d'essais centralisé en Ontario, au Canada. Tous les échantillons ont été analysés par coproculture et dosages biochimiques pour confirmer la présence d'un isolat de *Campylobacter*. Les résultats obtenus par chacun des centres, après réitération du test en cas de résultats indéterminés ou de lectures divergentes conformément aux instructions de cette notice, sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Détection de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT comparée à une coproculture réalisée directement à partir des échantillons de selles.

		CENTRE 1 RÉSULTATS EN COPROCULTURE		
		+	-	
ProSpecT	+	70	6	
Détection	-	0	337	
sur microplaque		70	343	413

Sensibilité : 100 %
Spécificité : 98,3 %

		CENTRE 2 RÉSULTATS EN COPROCULTURE		
		+	-	
ProSpecT	+	10	0	
Détection	-	0	214	
sur microplaque		10	214	224

Sensibilité : 100 %
Spécificité : 100 %

		CENTRE 3 RÉSULTATS EN COPROCULTURE		
		+	-	
ProSpecT	+	49	2	
Détection	-	0	361	
sur microplaque		49	363	412

Sensibilité : 100 %
Spécificité : 99,4 %

Tableau 2 : Résultats avec les données combinées des trois centres d'essais cliniques sur les échantillons de selles testés directement.

		Test direct		
		+	-	
ProSpecT	+	129	8	
Détection	-	0	912	
sur microplaque		129	920	1049

Sensibilité : 100 % (97,2 - 100 %)
Spécificité : 99,1 % (98,3 - 99,6 %)
Corrélation : 99,2 % (98,5 - 99,7 %)

Comme le montre le tableau 2, il existe une corrélation de 99,2 % entre le dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT et la coproculture lorsque les résultats des trois centres sont combinés et que tous les résultats indéterminés ou divergents ont été éliminés. Tous les résultats d'EIA donnant des résultats divergents

se sont révélés négatifs après réitération du test. Un échantillon était initialement EIA+, Culture-. Après réitération du test, la coproculture s'est avérée positive et le test a donc été classé parmi les vrais positifs. Parmi les 8 échantillons restants qui étaient EIA+, Culture-, un échantillon a été déclaré EIA négatif après réitération du test, tandis que les 7 autres sont restés positifs.

Dans le centre n° 2, tous les échantillons testés par analyse directe des selles ont également été enrichis pendant 18 heures dans un bouillon GN-Hajna à 35 °C +/- 2 °C dans les conditions atmosphériques ambiantes. La coproculture sur bouillon d'enrichissement a ensuite été soumise au dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT et comparée à la méthode de coproculture standard. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Détection de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT comparée à une coproculture réalisée sur bouillon d'enrichissement.

		CENTRE 2 RÉSULTATS EN COPROCULTURE		
		+	-	
ProSpecT	+	9	0	
Détection	-	1	214	
sur microplaque		10	214	224

Sensibilité : 90 % (55,5 - 99,9 %)
Spécificité : 100 % (98,3 - 100 %)
Corrélation : 99,6 % (97,5 - 100 %)

Comme le montre le tableau 3, il existe une corrélation de 99,6 % entre le dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT et la coproculture lorsque les échantillons sont enrichis dans un bouillon GN-Hajna et une fois tous les résultats divergents éliminés. Tous les résultats d'EIA donnant des résultats indéterminés et divergents se sont révélés négatifs après réitération du test.

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

Le dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT permet de détecter environ 2,81 ng/ml d'antigène spécifique de *Campylobacter* et 10⁵ bactéries UFC/ml.

REPRODUCTIBILITÉ

Le coefficient de variation (CV) inter-analyse (entre les séries de tests) du dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT a été évalué en sélectionnant 1 échantillon négatif et 3 échantillons positifs présentant des mesures de densité optiques variables. Chaque échantillon a été testé dans 22 à 24 puits par analyse pendant 3 analyses consécutives. Le CV moyen inter-analyse était de 11,4 %.

Échantillon	DO moyenne	Écart type	CV (%)
1	1,325	0,033	9,6 %
2	0,535	0,070	13,1 %
3	0,342	0,050	14,6 %
4	0,045	0,004	8,4 %

Le coefficient de variation (CV) intra-analyse (entre tests de même série) a été évalué en analysant 22 à 24 puits contenant chacun 4 échantillons. Le CV moyen intra-analyse était de 4 %.

Échantillon	DO moyenne	Écart type	CV (%)
1	1,268	0,033	2,61 %
2	0,501	0,015	2,95 %
3	0,320	0,009	2,84 %
4	0,047	0,004	7,70 %

RÉACTIVITÉ CROISÉE

Aucune réaction croisée n'a été constatée lorsque divers organismes de la microflore du côlon humain ont été analysés par dosage de *Campylobacter* sur microplaque ProSpecT. Les tests ont été réalisés en inoculant les organismes dont la liste figure ci-dessous, dans des échantillons de selles négatifs et positifs de *Campylobacter jejuni*. Les bactéries ont été ensemencées à des concentrations > 1 x 10⁷ UFC/ml d'échantillon.

Arcobacter butzleri ATCC® 49616
Campylobacter curvis ATCC® 35224
Campylobacter fetus ATCC® 19438
Campylobacter lari ATCC® 35221
Campylobacter rectus ATCC® 33238
Campylobacter sputorum ATCC® 35980
Citrobacter braakii ATCC® 43162
Escherichia coli, EHEC, ATCC® 43890 (O157:H7)
Escherichia coli, EIEC, ATCC® 43893 (O124:NM)
Escherichia coli, EPEC, ATCC® 12014 (O55:NM)
Escherichia coli, EPEC, ATCC® 33780 (O111:NM)
Escherichia coli, ETEC/EPEC, ATCC® 43887 (O111:NM)
Escherichia coli, Stx negative, ATCC® 25922
Escherichia hermannii ATCC® 33660
Enterobacter cloacae ATCC® 13047
Enterococcus faecalis ATCC® 49149
Helicobacter cinaedi ATCC® 35683
Helicobacter pylori ATCC® 43504
Klebsiella pneumoniae ATCC® 27736
Proteus vulgaris ATCC® 33420
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Salmonella typhimurium SA 972229
Serratia liquefaciens ATCC® 27592
Shigella dysenteriae ATCC® 49347
Shigella flexneri ATCC® 25929
Shigella sonnei ATCC® 25931
Staphylococcus aureus ATCC® 25923
Yersinia enterocolitica ATCC® 23715

14. BIBLIOGRAPHIE

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

Etiological Agents of Infectious Diarrhoea: Implications for Requests for Microbial Culture.

J. Clin. Microbiol. 35(6): 1427-1432.

9. **Williams, E.K., 1986.**

Acute Infectious Diarrhoea. II. Diagnosis, Treatment and Prevention.

Pediatr. Infect. Dis. 5(4): 458-465.

ProSpecT est une marque déposée.

ATCC® est une marque déposée de American Type Culture Collection



Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hants, RG24
8PW, Royaume-Uni

Pour une assistance technique, contacter le distributeur local.

Notice d'utilisation X7595A, révisée Décembre 2012