

RIDASCREEN[®] Campylobacter

Art. n°.: C 2401



R-Biopharm AG, Landwehrstr. D-64293 Darmstadt, Alemania
Telf.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Área de aplicación

Para el diagnóstico *in vitro*. El RIDASCREEN® Campylobacter es un test de enzimoimmunoensayo para la identificación cualitativa de antígenos de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli en muestras de heces.

2. Resumen y explicación del test

La campilobacteriosis se cuenta ya en el mundo, junto con la salmonelosis, entre las más frecuentes enfermedades diarreicas del hombre causadas por alimentos. La intensa de enteritis por Campylobacter es favorecida por la amplia propagación de especies de la bacteria entre los animales salvajes, útiles y domésticos (aves y mamíferos). Como comensales presentes en el tracto intestinal de aves llega principalmente desde estos animales a la cadena alimentaria del hombre. Sin embargo también otros alimentos como leche, carne picada y agua son vehículos de la transmisión del patógeno. El Campylobacter es liberado al entorno en grandes cantidades por numerosos huéspedes y accede finalmente al hombre a través de alimentos contaminados. Pero también el contacto directo con animales domésticos infectados con Campylobacter así como a través de la vía fecal oral especialmente en niños son posibles vías de transmisión de la enteritis campilobacteriana. La dosis de infección es de 500 gérmenes y es relativamente baja. De las alrededor de 15 especies conocidas de Campylobacter son principalmente las C. jejuni y C. coli las desencadenantes de la gastroenteritis en el hombre. Después de un tiempo de incubación de 2 a 10 días los enfermos no tratados eliminan el agente infeccioso hasta 4 semanas en las heces. En la inmunodeficiencia puede ocurrir una excreción continua. Mientras que muchas infecciones tienen un curso asintomático, en general aparecen en los enfermos después de una fase prodrómica con fiebre, cefalea, mialgias, artralgias y cansancio los típicos síntomas de la enteritis tales como diarrea, espasmos y dolores abdominales. Las diarreas son de pastosas a acuosas masivas y en ocasiones sanguinolentas. La artritis y el poco frecuente síntoma de Guillain-Barré son secuelas tardías de la enfermedad. La terapia es generalmente de tipo sintomática mediante el tratamiento de sustitución con líquidos y electrolitos y solo en casos graves con antibióticos. El cultivo exitoso del sensible patógeno a partir de muestras de heces lo más fresca posibles exige vías cortas o medios de transporte refrigerados. Independientemente de esto existen modernos métodos de detección de antígenos como el presente RIDASCREEN® Campylobacter ELISA, el cual también puede identificar el antígeno específico del Campylobacter en las muestras de heces cuando el patógeno ya no sea apto para un cultivo.

3. Fundamento del test

En el test RIDASCREEN® Campylobacter se emplean anticuerpos específicos en un procedimiento sándwich. En la superficie de la cavidad de la microplaca de titulación se encuentran fijados anticuerpos específicos de Campylobacter contra antígenos de C. jejuni y C. coli.

Se pipetea una suspensión de la muestra de heces a analizar así como los controles a temperatura ambiente (20 – 25 °C) a la cavidad para realizar la incubación en la microplaca. Después de un paso de lavado se adicionan anticuerpos conjugados con peroxidasa contra antígenos de *C. jejuni* y *C. coli* y se incuba a temperatura ambiente (20 – 25 °C). En caso de presencia en la muestra de antígenos de *Campylobacter* se forma un complejo sándwich entre anticuerpos inmovilizados, antígeno de *Campylobacter* y anticuerpos conjugados. Los anticuerpos no enlazados que están marcados con una enzima se eliminan en un paso posterior de lavado. Después de añadir el sustrato, si la muestra es positiva, la enzima enlazada transforma el color de la solución de la cavidad de la microplaca de incolora hacia el azul. Mediante la adición de reactivo de parada se lleva a cabo un cambio de color del azul al amarillo. La absorbancia es proporcional a la concentración de antígeno de *Campylobacter* en la muestra.

4. Contenido del envase

Los reactivos de un envase alcanzan para 96 determinaciones

Plate	96 determ.	Microplaca de titulación; 12 tiras de microtitulación (separables) en marco de soporte; recubiertas con anticuerpos específicos de <i>Campylobacter</i> frente a antígenos de <i>C. jejuni</i> y <i>C. coli</i>
Diluent 1	100 ml	Buffer de lavado de muestras, solución de NaCl tamponada con buffer de proteína; contiene Kathon al 0,1 %; listo para el uso, teñido de azul
Wash	100 ml	Buffer de lavado, solución de NaCl tamponada con buffer de fosfato (conc.10 veces); contiene Timerosal al 0,1 %
Control +	1,8 ml	<i>Campylobacter jejuni</i> inactivo; listo para el uso; contiene Kathon al 0,1%
Conjugate	10 ml	Anticuerpos conjugados con peroxidasa contra <i>Campylobacter</i> en solución de proteína estabilizada; contiene Kathon al 0,1 %; listo para el uso
Substrate	10 ml	Peróxido de urea/TMB; listo para el uso
Stop	6 ml	Reactivo de parada, 1 N de ácido sulfúrico listo para el uso

5. Reactivos y su almacenamiento

Todos los reactivos se deben guardar a 2 – 8 °C y pueden usarse hasta la fecha de vencimiento impresa en las etiquetas. El buffer de lavado diluido se puede conservar 4 semanas si se mantiene a 2 – 8 °C. La contaminación microbiana se debe evitar. Después de la fecha de vencimiento no se asumen garantías de calidad. La bolsa de aluminio se debe cortar con una tijera de manera que el cierre no sea eliminado. Las tiras de microtitulación no usadas se deben guardar de inmediato en la bolsa de aluminio cerrada y a temperaturas de 2 – 8 °C. Se debe evitar la incidencia directa de la luz sobre el sustrato incoloro para prevenir la descomposición o su coloración de azul debido a la autoxidación. Si ocurre una coloración azul no se deberá utilizar el sustrato.

6. Reactivos adicionales necesarios – accesorios requeridos

6.1. Reactivos

- Agua destilada o desionizada

6.2. Accesorios

- Tubos de muestra
- Pipetas desechables (Art. n°.: Z 0001)
- Vibrador Vortex (opcional, véase 9.3.)
- Micropipeta de 50 – 100 µl y 1 ml Volumen
- Probeta (1000 ml)
- Cronómetro
- Instrumento de lavado para las microplacas de titulación o pipetas multicanal (300 µl)
- Fotómetro para microplacas de titulación (450 nm, eventualmente filtro de referencia ≥ 600 nm)
- Papel de filtro (pañños de laboratorio)
- Recipiente de desechos con una solución de hipoclorito al 0,5 %

7. Medidas de seguridad

Sólo para el diagnóstico *in vitro*.

Este test debe ser realizado solamente por personal calificado de laboratorio. Se deben observar las líneas directivas de trabajo para laboratorios médicos. Las instrucciones para el uso del test deben cumplirse estrictamente.

El control positivo que se encuentra en el kit contiene antígenos de *Campylobacter*. No obstante debe ser manejado, al igual que las muestras de los pacientes, como potencialmente infeccioso de acuerdo a las reglamentaciones nacionales de seguridad.

No se debe pipetear las muestras o reactivos con la boca, así como también evitar el contacto con piel lesionada o mucosas. Durante el trabajo con las muestras deben usarse guantes desechables y lavar las manos después del test. En los locales donde se trabaje con las muestras o reactivos de prueba no está permitido fumar, comer o beber.

El control positivo, el buffer de dilución de muestras y el conjugado contienen Kathon al 0,1 % como agente conservante. Se debe evitar por tanto el contacto con la piel o mucosas.

El buffer de lavado contiene Timerosal al 0,1 % como agente conservante. Se debe evitar por tanto el contacto con la piel o mucosas.

El peróxido de urea puede conducir a efectos cáusticos sobre la piel. ¡Manejar con cuidado!

El reactivo de parada contiene una solución 1 N de ácido sulfúrico ¡Evitar el contacto con la piel o ropa! Si se produce contacto con la piel debe enjuagarse con agua.

Todos los materiales y reactivos que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas se requiere que sean tratados con agentes desinfectantes adecuados o se sometan a autoclave por lo menos una hora a 121 °C. ATENCIÓN: Para evitar la formación de gases venenosos deben neutralizarse los residuos líquidos que contengan reactivo de parada antes de echarlos a la solución de hipoclorito.

8. Recolección y conservación de las muestras

El material de examen se debe guardar a 2 – 8 °C hasta el momento de su elaboración. Si el material no puede ser usado en el espacio de 3 días se recomienda almacenarlo a –20 °C o menor temperatura. Evite congelar y descongelar las muestras varias veces. Las muestras de heces o frotis rectales no se deben recolectar en recipientes que contengan medios de transporte, agentes conservantes, sueros animales, iones metálicos, agentes oxidantes o detergentes debido a posibles interferencias con el test RIDASCREEN® Campylobacter. Si se van a utilizar frotis rectales se debe prestar atención a que haya suficiente material de heces (ca. 100 mg) para la realización del test. En los estudios de entorno se deben incluir también muestras de heces de personas de contacto clínicamente inaparentes para identificar portadores asintomáticos.

9. Realización del test

9.1. Generalidades

Antes de su uso se deben llevar todos los reactivos y la microplaca de titulación **Plate** a la temperatura ambiente (20 – 25 °C). Las tiras de microtitulación no se deben sacar de la bolsa de aluminio hasta que no hayan alcanzado la temperatura del ambiente. Los reactivos se deben mezclar bien inmediatamente antes de su empleo.

Posterior a su uso se deben conservar las tiras de microtitulación (cerradas en su bolsa) y los reactivos otra vez a la temperatura de 2 – 8 °C. Las las tiras de microtitulación que se hayan usado una vez no pueden volverse a utilizar. Los reactivos y las tiras de microtitulación no se deben usar cuando el envase esté dañado o los recipientes hayan perdido su hermeticidad. Se debe evitar el contacto directo de las muestras con los componentes del kit para prevenir la contaminación cruzada. Se debe evitar la incidencia directa de la luz solar durante la realización del test. Se recomienda tapar o pegar la microplaca de titulación para evitar pérdidas por evaporación.

9.2. Preparación del buffer de lavado

Se mezcla 1 parte del buffer de lavado concentrado **Wash** con 9 partes de agua destilada. Los cristales que pudieran encontrarse en el buffer concentrado se deben solubilizar primeramente con calor (baño María a 37 °C).

9.3. Preparación de las muestras

En un tubo de ensayo rotulado se vierte 1 ml de RIDASCREEN® buffer de dilución de muestras **Diluent | 1**. Las heces líquidas se aspiran con una pipeta desechable (Art. n°. Z 0001) hasta poco antes de la segunda parte espesa (ca. 100 µl) y se suspende en el buffer preparado. En el caso de heces sólidas se toma una cantidad equivalente (alrededor de 50 – 100 mg) con una espátula o con un asa de siembra desechable y se suspende igualmente. La homogeneización de la suspensión de heces se efectúa mediante aspiración y expulsión con la pipeta desechable o alternativamente por agitación en un vibrador Vortex. Después de dejar reposar un corto tiempo para lograr la sedimentación de partículas grandes de heces se emplea directamente el sobrenadante claro obtenido de esta manera. En caso de usar para la determinación analítica un equipo Elisa automático el sobrenadante **tiene que** estar libre de partículas. Para estas determinaciones se recomienda entonces una centrifugación a 5000 rpm (aprox. 2000-2500 G) durante 5 minutos.

9.4. Primera incubación

Después de introducir una cantidad suficiente de cavidades en el marco de soporte se pipetea en cada una 2 gotas (100 µl) del control positivo **Control | +**, del buffer de dilución de muestras **Diluent | 1** (= control negativo) o de la muestra de heces en suspensión. A continuación se incuba la microplaca durante 60 minutos a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.5. Lavar

Un lavado cuidadoso es importante para lograr resultados correctos por lo cual éste debe llevarse a cabo estrictamente según las instrucciones. Las muestras incubadas en las cavidades se deben vaciar primeramente en un recipiente de desechos con hipoclorito para la desinfección. Posteriormente se sacude la placa sobre un papel absorbente para eliminar los restos de humedad. Seguidamente se lava 5 veces con 300 µl de buffer de lavado en cada caso.

Después de cada enjuague se cuida de vaciar completamente la placa sacudiéndola sobre partes secas y no usadas del papel.

Cuando se usen lavadores automáticos se debe poner atención al ajuste correcto del instrumento al tipo de microplaca utilizado. Además es preciso que si se tiene una suspensión de heces no totalmente libre de partículas ésta se elimine manualmente de las cavidades antes del primer lavado para evitar obstrucciones en las agujas de lavado. Igualmente se debe velar en los diferentes pasos de lavado por una aspiración completa del líquido. Después del último paso de lavado se debe sacudir la placa cuidadosamente sobre papel absorbente limpio o paños de laboratorio para eliminar la humedad residual. Para obtener resultados óptimos en el proceso de lavado se recomienda utilizar el modo de rebose con al menos 600 µl de buffer de lavado por cavidad y paso de enjuague. Es posible aumentar a más de 5 los pasos de lavado y en casos particulares esto conduce a mejores resultados de lavado.

9.6. Segunda incubación

Se adicionan en las cavidades 2 gotas (100 µl) del anticuerpo conjugado con enzima **Conjugate** se mezcla bien y se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

9.7. Lavar

Lavar según el punto 9.5.

9.8. Tercera incubación

Añadir 2 gotas (100 µl) de sustrato **Substrate** a cada uno de los pocillos. A continuación se incuba la placa durante 15 minutos a temperatura ambiente (20 – 25 °C) en la oscuridad. Después se adiciona 1 gota (50 µl) de reactivo de parada **Stop** en cada una de las cavidades para detener la reacción. Se mezcla cuidadosamente (con ligeros golpes en los bordes de la placa) y se mide la absorbancia a 450 nm (opcional: longitud de onda de referencia ≥ 600 nm) La compensación del valor cero se debe realizar contra aire, o sea sin la microplaca.

Aviso : Muestras de pacientes con altos positivos pueden dar lugar a precipitados negruzcos del sustrato.

10. Control de calidad – Indicios de reactivos vencidos

Como control de calidad en cada determinación se deben añadir un control positivo y otro negativo para asegurar la estabilidad de los reactivos y un correcto desarrollo del test. El test ha transcurrido correctamente si el valor de absorbancia (D.O.) del control negativo a 450 nm es menor que 0,2 y el valor medido para el control positivo a 450 nm es mayor de 0,8. Si el valor del control negativo es mayor de 0,2 esto puede ser un indicio de que no se ha enjuagado suficientemente.

Una desviación de los valores requeridos, lo mismo que una turbidez o coloración azul del sustrato incoloro antes de ser transferidos a las cavidades, puede ser un indicio del vencimiento de los reactivos. Si los valores predefinidos no se cumplen, se deben verificar los siguientes puntos antes de repetir el análisis:

- Durabilidad de los reactivos empleados
- Funcionamiento correcto de los instrumentos utilizados (por ej. la calibración)
- Ejecución correcta del test
- Control visual de los componentes del kit con respecto a contaminación o pérdida de hermeticidad; una solución de sustrato azulada no se debe volver a usar.

Si al repetir la determinación se obtienen nuevamente valores incorrectos Ud. debe dirigirse al fabricante o al distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

11.1. Cálculo del valor límite

Para establecer el valor límite se le suma 0,15 al valor de absorbancia obtenido para el control negativo.

$$\text{cut-off (Valor límite)} = \text{Valor de absorbancia del control negativo} + 0,15$$

11.2. Resultado del test

Se evalúan como **positivas** las muestras cuyo valor de absorbancia se encuentra más de 10 % por encima del valor límite calculado.

Se denominan como **muestras de valores límites** y que deben repetirse aquellas cuyo valor de absorbancia está en el rango de 10 % por encima o por debajo del valor límite. Si una repetición del análisis con una muestra de heces fresca corresponde de nuevo a valores en el rango gris, entonces se debe valorar la muestra como negativa.

La muestras cuyos valores se encuentren en más de 10 % por debajo del valor límite calculado se evalúan como **negativas**.

12. Limitaciones del método

El test RIDASCREEN® Campylobacter identifica antígenos de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli en muestras de heces. También es posible detectar en las muestras, en gran medida, el C. lari. No es posible a partir de este test deducir una relación entre la magnitud de un valor de absorbancia obtenido y la manifestación o gravedad de síntomas clínicos. **Los resultados obtenidos siempre deben interpretarse de conjunto con el cuadro clínico.**

Un resultado **positivo** no excluye la presencia de otros agentes infecciosos.

Un resultado **negativo** no excluye una posible infección con *C. jejuni* y *C. coli*. La causa de ello puede ser una excreción intermitente del agente infeccioso o una cantidad demasiado baja de antígeno en la muestra. Si existe la sospecha anamnésica fundada de una infección con *C. jejuni* y *C. coli* se debe repetir el análisis con otra muestra de heces.

Un **resultado con valores límites** puede ser ocasionado por una distribución no homogénea del antígeno en la muestra de heces. Por este motivo en tales casos se debe examinar una segunda suspensión de la misma muestra o solicitar otra muestra de heces para repetir el análisis.

13. Características de rendimiento

13.1. Calidad del test

En un estudio comparativo para el estándar de oro con un cultivo microbiológico del patógeno el test RIDASCREEN® Campylobacter demostró una excelente confiabilidad con una sensibilidad de 100 % y una especificidad de 99,6 %. El estudio comparativo se llevó a cabo en un laboratorio médico certificado por la FDA con un total de 259 muestras frescas de heces de los análisis diarios de rutina. La tabla 1 muestra la comparación del RIDASCREEN® Campylobacter con el método de cultivo microbiológico.

Tabla 1: Comparación del test RIDASCREEN® Campylobacter con el método de cultivo microbiológico.

		cultivo	
		+	-
RIDASCREEN	+	14	1
	-	0	244

Sensibilidad: 100 %

Especificidad: 99,6 %

Valor predictivo positivo: 93,3 %

Valor predictivo negativo: 100 %

13.2. Reactividad cruzada

Diferentes gérmenes patógenos del tracto intestinal fueron analizados con el test RIDASCREEN® Campylobacter y no presentaron reactividad cruzada. Los análisis se realizaron utilizando suspensiones de bacterias que se sometieron a cultivo durante la noche en medio de BHI en una concentración de 10^6 hasta 10^8 gérmenes/ml en determinación por duplicado. Se indica la absorbancia a 450 nm. Los resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2: Reacciones cruzadas con bacterias patógenas

Germen de prueba	Origen	cultivo sin diluir		cultivo 1 : 11 en muestras Pu.	
		OD	Resultado	OD	Resultado
Acinobacter Iwoffii	DSM 2403	0,101	neg..	0,058	neg..
Aeromonas hydrophila anerogeneses	DSM30020	0,083	neg..	0,046	neg..
Aeromonas hydrophila hydrophila	DSM30016	0,064	neg..	0,046	neg..
Citrobacter freindii	DSM30047	0,057	neg..	0,045	neg..
Citrobacter freindii	DSM30039	0,058	neg..	0,044	neg..
Enterobacter cloacae	DSM30054	0,168	neg..	0,045	neg.
Enterobacter faecalis	DSM2570	0,124	neg..	0,047	neg..
Enterobacter faecium	DSM20477	0,11	neg.	0,057	neg.
Escherichia coli	aislamiento	0,111	neg.	0,061	neg.
Escherichia coli	aislamiento	0,146	neg.	0,047	neg.
Escherichia coli	aislamiento	0,114	neg.	0,043	neg.
Escherichia hermannii	DSM4560	0,053	neg.	0,045	neg.
Lactococcus lactis	DSM20481	0,065	neg.	0,043	neg.
Listeria innocua	SLCC5639	0,046	neg.	0,045	neg.
Proteus mirabilis	DSM788	0,045	neg.	0,046	neg.
Proteus mirabilis	DSM4479	0,126	neg.	0,087	neg.
Proteus vulgaris	DSM30119	0,012	neg.	0,073	neg.
Providencia stuartii	DSM6676	0,086	neg.	0,042	neg.
Pseudomonas auruginosa	DSM939	0,255	pos.	0,053	neg.
Pseudomonas fluorescens	DSM4358	0,083	neg.	0,046	neg.
Pseudomonas fluorescens	DSM50124	0,057	neg.	0,046	neg.
Pseudomonas putida	DSM291	0,182	neg.	0,144	neg.
Salmonella agona	aislamiento	0,066	neg.	0,046	neg.
Salmonella choleraesius	DSM4224	0,069	neg.	0,055	neg.
Salmonella Infantis	aislamiento	0,202	pos.	0,055	neg.
Salmonella ohio	aislamiento	0,407	pos.	0,061	neg.
Samonella Thyphimurium	aislamiento	0,103	neg.	0,041	neg.
Sratia proteamaculans	DSM4487	0,041	neg.	0,038	neg.
Shigella flexneri	DSM4782	0,062	neg.	0,039	neg.
Shigella sonnei	DSM5570	0,068	neg.	0,04	neg.
Staphylococcus aureus	DSM20372	0,13	neg.	0,135	neg.
Strptococcus agalactiae	aislamiento	0,041	neg.	0,047	neg.
Streptococcus dysgalactiae	aislamiento	0,041	neg.	0,063	neg.
Streptococcus uberis	aislamiento	0,04	neg.	0,039	neg.
Escherichia coli (O157:H7-)	aislamiento	0,131	neg.	0,039	neg.
Escherichia coli (O157:H-)	aislamiento	0,066	neg.	0,056	neg.
Escherichia coli (O111:H-)	aislamiento	0,052	neg.	0,038	neg.
Escherichia coli (O22:H8)	aislamiento	0,061	neg.	0,05	neg.
Escherichia coli (O26:H11)	aislamiento	0,055	neg.	0,041	neg.
Candida albicans	ATCC 10231	0,044	neg.	0,044	neg.
Samonella enteritidis	DSM9898	0,12	neg.	0,061	neg.
Morganella Morganii	DSM6675	0,058	neg.	0,043	neg.
POSKO		2,555		2,568	
NEGKO		0,046		0,043	
Cut-off (Valor límite)		0,196		0,193	

13.3. Precisión

La reproducibilidad intra-ensayos se determinó a partir de un grupo de 24 análisis con los controles del kit (control positivo y negativo) así como con una muestra de heces conteniendo C.jejuni y C. coli de mediana (mpr) y baja concentración (lpr). Los resultados se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3: Reproducibilidad intra-ensayos

Muestras	OD _{450 nm}	Coefficiente de variabilidad (%)
NEGKO	0,042	1,8
POSKO	2,701	4
C.jejuni mpr	1,039	8,2
C.jejuni lpr	0,494	10,5
C.coli mpr	1,257	4,7
C.coli lpr	0,734	4,6

La reproducibilidad inter-ensayos se determinó a partir de un grupo de 6 análisis con los controles descritos más arriba y muestras de 5 días consecutivos. Los resultados se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4: Reproducibilidad inter-ensayos

Fecha	1 ^{er} día		2 ^{do} día		3 ^{er} día		4 ^{to} día		5 ^{to} día	
	OD _{450 nm}	Coefficiente de variabilidad (%)	OD _{450 nm}	Coefficiente de variabilidad (%)	OD _{450 nm}	Coefficiente de variabilidad (%)	OD _{450 nm}	Coefficiente de variabilidad (%)	OD _{450 nm}	Coefficiente de variabilidad (%)
NEGKO	0,043	6,5	0,041	7,2	0,040	4,7	0,042	5,7	0,040	7,7
POSKO	2,646	3,4	2,337	3,2	2,515	3,1	2,474	3,4	2,508	3,9
C.jejuni mpr	1,081	6,1	0,891	4,5	0,948	5,4	0,995	5,3	0,981	5,0
C.jejuni lpr	0,589	3,2	0,371	8,1	0,466	5,9	0,453	7,3	0,424	8,4
C.coli mpr	1,182	3,9	0,886	4,8	1,002	9,7	0,961	5,8	0,965	7,4
C.coli lpr	0,671	5,1	0,515	6,0	0,568	7,1	0,544	7,3	0,510	8,4

Bibliografia

1. JI, Greenberg HB, Guerrant RL (eds) Infections of the gastrointestinal tract. Raven Press, New York, pp 225 – 248
2. Kist M, Bereswill S (2001) *Campylobacter jejuni*. In: Mühldorfer I, Schäfer KP, (eds) Skirrow MB, Blaser MJ (1995): *Campylobacter jejuni*. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin Emerging bacterial pathogens. Contrib Microbiol Vol.8. Karger, Basel, pp 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 cows milk. J Appl Bacteriol 65: 93 – 96.
6. Jones K (2001) *Campylobacters* in water, sewage and the environment. J Appl Microbiol 90: 68S –79S
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.