

Liste des méthodes utilisées dans le champ des missions du Laboratoire National de Référence de l'Anses

Campylobacter

Agence nationale de sécurité sanitaire
De l'alimentation, de l'environnement, et du travail
14 Rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr

Responsable du LNR : Martine DENIS

Suppléante : Elisabeth REPERANT

Le classement des méthodes est effectué selon l'origine, comme suit :

- Méthodes normalisées : méthodes éditées par des instances de normalisation reconnues telles que l'International Standard Organisation (ISO : méthodes codées « ISO »), le Comité Européen de Normalisation (CEN : méthodes codées « EN »), l'Association Française de NORmalisation (AFNOR: méthodes codées « NF »).
- Méthodes commerciales : méthodes ou trousse de diagnostic diffusées et mises sur le marché par des compagnies privées
- Méthodes internes : méthodes mises au point ou adaptées par le LNR et caractérisées ou validées en intra-laboratoire ou en inter-laboratoires

Méthodes normalisées (ISO, CEN, NF)

NF EN ISO 10272 1-2 (2006)

Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter spp* dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation des animaux ainsi qu'aux échantillons environnementaux prélevés dans les secteurs de la production et de la manutention des aliments

Partie 1 : méthode de recherche

Partie 2 : technique par comptage des colonies

Confirmation du genre et identification de l'espèce par tests biochimiques selon la norme NF EN ISO 10272

Méthodes OIE, OMS, pharmacopée

Inconnues

Méthodes commerciales

Existantes mais inutilisées

Méthodes internes

1/ Recherche et le dénombrement des *Campylobacter spp* : méthode dérivée, simplifiée de NF EN ISO 10272 1-2(a) (MO.ESS.MA18)

2/ Détection et identification par PCR :

Multiplex PCR pour *C. jejuni /coli* selon Denis *et al.* 1999 (b)

Multiplex PCR pour *Arcobacter butzleri/ cryoaerophilus/skrirrowii* selon Houf *et al.* 2000 (c)

Multiplex PCR pour *C. jejuni /coli/ lari /fetus/upsaliensis* selon Wang *et al.* 2002 (d)

Simplex PCR pour *C. larienae* selon Logan *et al.* 2000 (e) et Inglis *et al.*, 2003 (f)

Simplex PCR temps réel (SyBRGreen) avec les conditions et les amorces des PCR de Denis *et al.* 1999 ou Wang *et al.* 2002

3/ Typage Génétique :

-PFGE pour *C. jejuni* et *C. coli* selon le protocole Campynet ([http:// campynet.vetinst.dk/PFGE.html](http://campynet.vetinst.dk/PFGE.html)), adapté par Rivoal *et al.* 2005 (g)

-MLST pour *C. jejuni* selon le protocole de Dingle *et al.* 2001 (h), et pour *C. coli* selon le protocole de Miller *et al.* 2005 (i)

4/ Virulence *in vitro* : Tests d'adhésion-invasion sur cellules Caco2.

Méthodes du LR-UE

EN ISO 10272 1-2 (2006)

Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*

Part 1 Detection method.

Part 2 Colony count technique.

(a) Protocoles légèrement différents de ceux de la norme mais utilisant les principaux milieux et techniques décrits dans cette norme ;

(b) Development of a m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*;

(c) Development of a multiplex PCR assay for the simultaneous detection and identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*;

(d) Colony Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus subsp. fetus*.

- (e) Logan JM, Burnens A, Linton D, Lawson AJ, Stanley J. 2000. *Campylobacter lanienae* sp. nov., a new species isolated from workers in an abattoir. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 2000, 50 Pt 2:865-872.
- (f) Inglis GD, Kalischuk LD, Busz HW. 2003. A survey of *Campylobacter* species shed in faeces of beef cattle using polymerase chain reaction. *Canadian journal of microbiology* 2003, 49(11):655-661.
- (g) Genomic diversity of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* isolates recovered from free-range broiler farms and comparison with isolates of various origins.
- (h) Multilocus Sequence Typing System for *Campylobacter jejuni*
- (i) Extended multilocus sequence typing system for *Campylobacter coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. helveticus*.