

RIDA® GENE Helicobacter pylori

REF PG2305



1. Zweckbestimmung

Für die *in-vitro* Diagnostik. RIDA®GENE *Helicobacter pylori* ist eine multiplex real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis von *Helicobacter pylori*¹ und einer Clarithromycin-Resistenz aus humanem nativem Biopsiematerial.

Die RIDA®GENE *Helicobacter pylori* multiplex real-time PCR soll die Diagnose einer durch *Helicobacter pylori* verursachten Magenerkrankung unterstützen.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Helicobacter pylori ist ein gram-negatives Stäbchenbakterium, welches bei Infektion den menschlichen Magen besiedelt. Durch den von *H. pylori* ausgelösten Pathomechanismus erhöht sich die Magensäuresekretion und führt dadurch zu verschiedenen Magenerkrankungen, wie zum Beispiel Typ B Gastritis, Magengeschwüre und auch 12-Fingerdarmgeschwüre. *H. pylori* hat weltweit eine Prävalenz von 50 %, wobei die Infektionsrate in Entwicklungsländern höher ist als in Industrieländern. In Deutschland sind ca. 33 Mio. Menschen mit *H. pylori* infiziert, wovon ungefähr 10 – 20 % ein Geschwür entwickeln.

Während dem *H. pylori* Stamm Typ 2 die Pathogenitätsfaktoren *cag* und das *VacA*-Gen fehlen, führt eine Infektion mit dem *H. pylori* Stamm Typ 1 vermehrt zu gastroduodenalen Ulkuskrankheiten und erhöht bei einer chronischen Infektion das Risiko von Darmkrebs erheblich. Um sich selbst vor Magensäure zu schützen nistet sich *H. pylori* in die Magenschleimhautbarriere ein und spaltet Harnstoff durch das Enzym Urease um den pH-Wert der direkten Umgebung des Erregers zu erhöhen. *H. pylori* wird heutzutage durch Mikroskopie oder den *Helicobacter*-Urease Test aus einer Magenbiopsie nachgewiesen. Weitere Diagnosemöglichkeiten sind Antigenteste oder Atemteste.

Nach einer Diagnose von *H. pylori* sind verschiedene Behandlungsmethoden möglich. Meist wird jedoch die „Triple Therapie“ angewandt, welche aus einer Kombination von Amoxicillin, Clarithromycin und einem Protonenpumpenhemmer oder Metronidazol, Clarithromycin und einem Protonenpumpenhemmer besteht.² Ansteigende Clarithromycin-Resistenzen mindern die Erfolgsrate einer solchen Behandlung um bis zu 30 %. Auch weitere, immer mehr verbreitete Resistenzen gegen Antibiotika wie Metronidazol oder Levofloxacin (Fluoroquinolon) führen zu erhöhtem Misserfolg einer *H. pylori* Eradikationstherapie.³

3. Testprinzip

RIDA®GENE *Helicobacter pylori* ist eine multiplex real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis von *Helicobacter pylori* und einer Clarithromycin-Resistenz in humanem nativem Biopsiematerial.

Nach der DNA-Isolierung werden (falls vorhanden) die spezifischen Genfragmente für *Helicobacter pylori* (16S rRNA) und einer vorliegenden Clarithromycin-Resistenz (23S rRNA) amplifiziert. Die amplifizierten Zielsequenzen werden mit Hydrolyse-

Sonden, die an einem Ende mit dem Quencher und am anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor) markiert sind, nachgewiesen. In Gegenwart einer Zielsequenz hybridisieren die Sonden mit den Amplikons. Während der Extension trennt die **Taq-Polymerase** den Reporter vom Quencher. Der Reporter emittiert ein Fluoreszenzsignal, das durch die optische Einheit eines real-time PCR-Gerätes detektiert wird. Das Fluoreszenzsignal steigt mit der Menge der gebildeten Amplikons an. Der RIDA® GENE Helicobacter pylori Test enthält eine **Internal Control DNA** (ICD), um die Probenpräparation und/oder eine potentielle PCR Inhibition kontrollieren zu können.

4. Packungsinhalt

Tab. 1: Packungsinhalt (Die Reagenzien einer Packung reichen für 100 Bestimmungen)

Kit Code	Reagenz	Menge		Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	gelb
2	Taq-Polymerase	1x	80 µl	rot
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	orange
N	No Template Control	1x	450 µl	weiß
P	Positive Control	1x	200 µl	blau

5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Alle Reagenzien müssen lichtgeschützt bei -20 °C gelagert werden und können bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.
- Vor dem Gebrauch sollten die Reagenzien schonend aufgetaut werden (z.B. im Kühlschrank bei 2 – 8 °C).
- Ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen bis zu **20 Mal** beeinträchtigt die Testeigenschaft nicht (ggf. Aliquots nach dem ersten Auftauen herstellen und die Reagenzien sofort wieder einfrieren).
- Alle Reagenzien während der PCR-Vorbereitung geeignet kühlen (2 – 8 °C).

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

Der RIDA® GENE Helicobacter pylori multiplex real-time PCR Test ist geeignet für die Verwendung mit folgenden Extraktionsplattformen und real-time PCR-Geräten:

Tab.2: Benötigtes Zubehör

Extraktionsplattformen	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Roche	MagNA Pure 96
Real-time PCR-Geräte	
Roche	LightCycler® 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Hinweis: Bei Verwendung des Rotor-Gene Q (QIAGEN) nur 0,1 ml Reaktionsgefäße verwenden

Sollten Sie weitere Extraktionsverfahren oder real-time PCR Geräte verwenden wollen, kontaktieren Sie bitte R-Biopharm zur Überprüfung der Kompatibilität unter mdx@r-biopharm.de.

- RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) bei Verwendung des LightCycler® 480II
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Reaktionsgefäße, Folien)
- Zentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße oder Platten
- Vortexer
- Pipetten (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)
- Pipettenspitzen mit Filtern
- Puderfreie Einmalhandschuhe
- PCR-Wasser (BioScience-Grade, Nuklease-frei)

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in-vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben, persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Klinische Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen entsprechend entsorgt werden.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) unter www.r-biopharm.com.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

8.1 DNA-Präparation aus Biopsiematerial

Für die DNA-Präparation aus Biopsat wird ein kommerziell erhältliches DNA-Extraktionskit (z.B. RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) oder DNA-Extraktionssystem (z.B. Maxwell[®] RSC (Promega)) empfohlen. Die Angaben des Herstellers sind zu beachten.

Es wird empfohlen das Biopsat vor der Extraktion über Nacht mit Proteinase K zu bei 55 °C zu inkubieren. Aus dem Verdau das entsprechende Volumen für die Extraktion nach Angaben des Herstellers verwenden.

Der RIDA[®]GENE Helicobacter pylori Test enthält eine Internal Control DNA, die eine mögliche PCR-Inhibition anzeigt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt. Die Internal Control DNA kann entweder nur als Inhibitionskontrolle oder als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle verwendet werden.

Wird die Internal Control DNA nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der Internal Control DNA dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab. 4).

Wird die Internal Control DNA als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der Internal Control DNA während

der Extraktion eingesetzt werden. Die **Internal Control DNA** soll dem Proben-Lysispuffer Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden. Wir empfehlen je 1 µl der **Internal Control DNA** zum PCR-Mix der Negativkontrolle und der Positivkontrolle zu pipettieren.

9. Testdurchführung

9.1 Herstellung des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Bei jedem Testlauf muss eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle mitgeführt werden.

Es wird empfohlen den Master-Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen (s. Tab.3, Tab.4). Vor der Benutzung den **Reaction Mix**, die **Taq-Polymerase**, die **Positive Control**, die **No Template Control** und die **Internal Control DNA** auftauen, durchmischen und kurz zentrifugieren. Reagenzien während der Arbeitsschritte stets geeignet kühlen (2 – 8 °C).

Tab. 3: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD als Extraktions- und Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
	Gesamt	20 µl	220 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

Tab. 4: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD nur als Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
D	Internal Control DNA	1,0 µl	11 µl
	Gesamt	21,0 µl	231,0 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren

9.2 Herstellung des PCR-Mix

Je 20 µl des Master-Mix in die jeweiligen Reaktionsgefäße (Gefäße/Platten) pipettieren.

Negativkontrolle: Je 5 µl **No Template Control** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control DNA** als **Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle je 1 µl der Internal Control DNA zum PCR-Mix der Negativkontrolle zu pipettieren.**

Proben: Je 5 µl DNA-Extrakt zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Positivkontrolle: Je 5 µl **Positive Control** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control DNA** als **Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle je 1 µl der Internal Control DNA zum PCR-Mix der Positivkontrolle zu pipettieren.**

Reaktionsgefäße bzw. Platte verschließen, mit wenigen Umdrehungen pro Minute kurz zentrifugieren und in das real-time PCR-Gerät überführen. Die PCR entsprechend der Geräteeinstellung starten (s. Tab. 5, Tab. 6, Tab. 7, Tab. 8).

9.3 Geräteeinstellungen

9.3.1 DNA real-time PCR-Profil

Tab. 5: DNA real-time PCR-Profil für LightCycler® Serie und Rotor-Gene Q

Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing/Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Tab. 6: DNA real-time PCR-Profil für Mx3005P, ABI 7500, CFX96™

Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing/Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

9.3.2 Universal real-time PCR-Profil

Hinweis: Das Universal real-time PCR-Profil für DNA Tests sollte nur verwendet werden, wenn RIDA® GENE DNA und RIDA® GENE RNA real-time PCR Tests in einem Lauf kombiniert werden.

Tab. 7: Universal real-time PCR-Profil für LightCycler® Serie

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing/Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Tab. 8: Universal real-time PCR-Profil für Mx3005P, ABI 7500, CFX96™ und Rotor-Gene Q

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing/Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

9.4 Detektionskanaleinstellung

Tab. 9: Auswahl der geeigneten Detektionskanäle

Real-time PCR-Gerät	Nachweis	Detektionskanal	Bemerkung
Roche LightCycler® 480II	<i>H. pylori</i>	465/510	RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) wird benötigt
	ICD	533/580	
	Clarithromycin-Resistenz	618/660	
ABI 7500	<i>H. pylori</i>	FAM	Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none
	ICD	VIC	
	Clarithromycin-Resistenz	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>H. pylori</i>	FAM	Stellen Sie den Referenzfarbstoff auf none
	ICD	HEX	
	Clarithromycin-Resistenz	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>H. pylori</i>	Green	Die Gain-Einstellungen müssen für alle Kanäle auf 5 (Werkseinstellung) eingestellt sein
	ICD	Yellow	
	Clarithromycin-Resistenz	Red	
Bio-Rad CFX96™	<i>H. pylori</i>	FAM	-
	ICD	VIC	
	Clarithromycin-Resistenz	Cy5	

10. Qualitätskontrolle

Die Auswertung der Proben erfolgt über die Analyse-Software des jeweiligen real-time PCR-Gerätes nach den Angaben des Herstellers. Negativkontrolle und Positivkontrolle müssen die korrekten Ergebnisse zeigen (s. Tab. 10, Abb. 1, Abb. 2).

Die **Positive Control** liegt in einer Konzentration von 10^3 Kopien/ μ l vor. Sie wird in einer Gesamtmenge von 5×10^3 Kopien in jedem PCR-Lauf eingesetzt.

Tab. 10: Ein valider PCR-Lauf muss die folgenden Bedingungen erfüllen

Probe	Ergebnis	ICD Ct	Zielgen Ct
Positivkontrolle	Positiv	NA * ¹	Siehe Quality Assurance Certificate
Negativkontrolle	Negativ	Ct > 20	0

*¹ Ein Ct-Wert für die ICD ist nicht erforderlich um ein positives Ergebnis der Positivkontrolle zu erhalten.

Wenn die Positivkontrolle in dem angegebenen Ct-Bereich nicht positiv ist, die Negativkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen neu angesetzt werden.

Wenn die Negativkontrolle nicht negativ ist, die Positivkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen neu angesetzt werden.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung Folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte
- Korrekte Testdurchführung

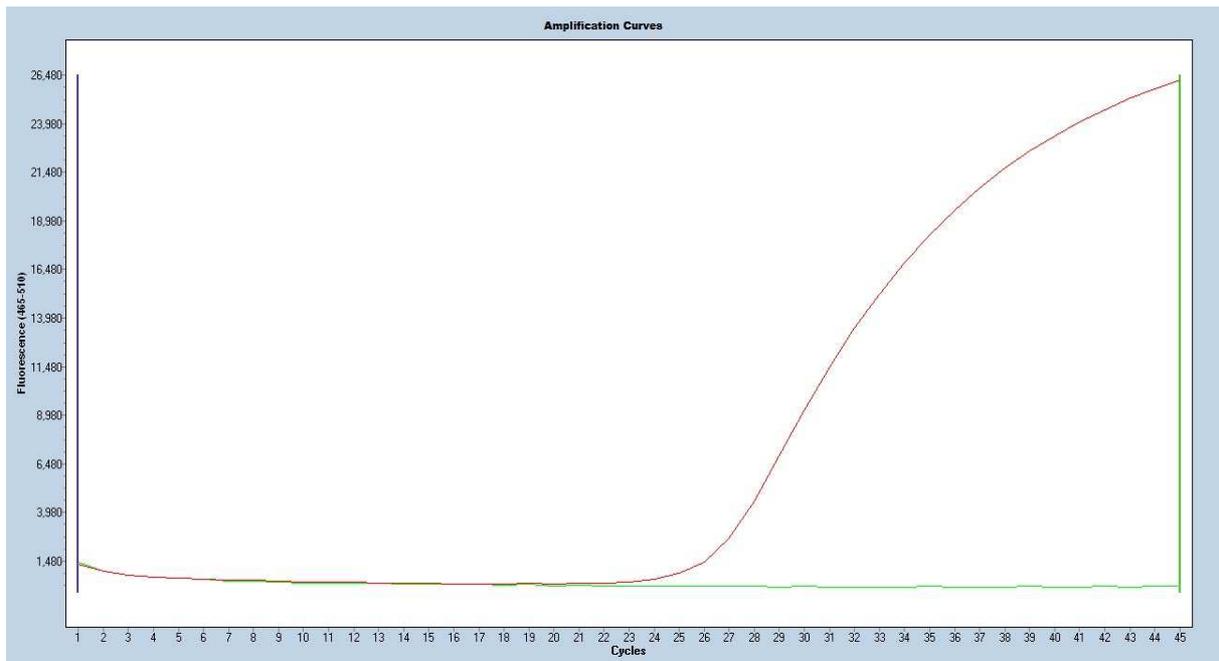


Abb. 1: Korrekter Verlauf der Positivkontrolle und Negativkontrolle (*Helicobacter pylori*) auf dem LightCycler® 480II

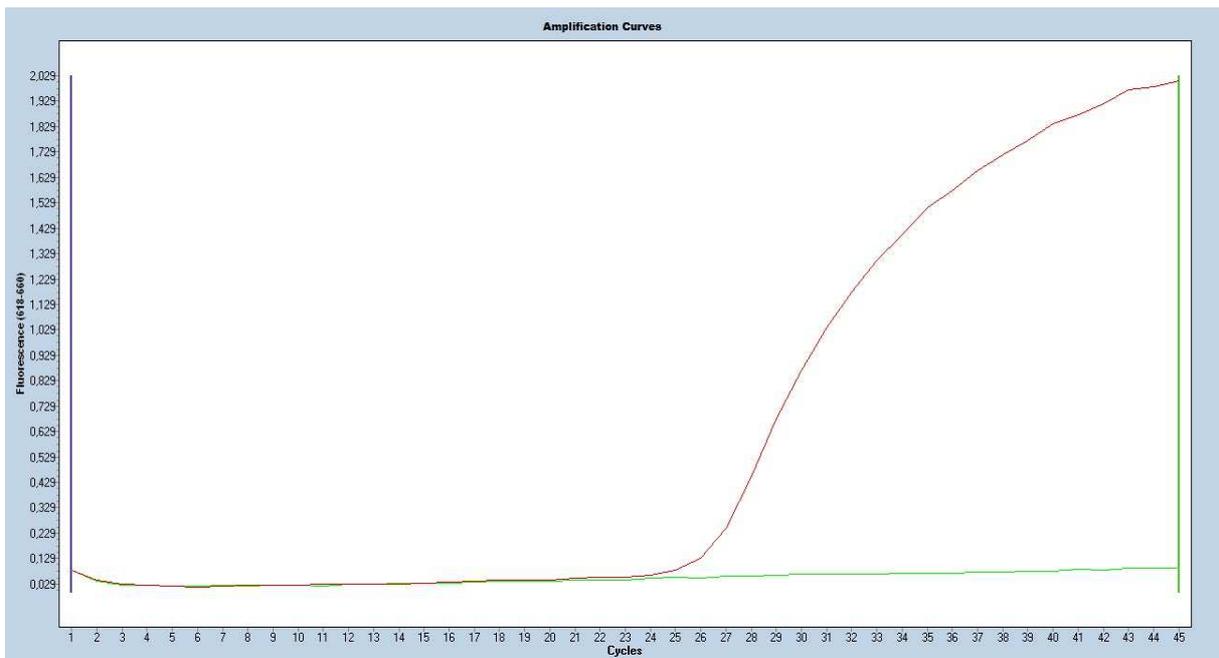


Abb. 2: Korrekter Verlauf der Positivkontrolle und Negativkontrolle (Clarithromycin-Resistenz) auf dem LightCycler® 480II

11. Interpretation der Ergebnisse

Die Probenauswertung der Ergebnisse erfolgt nach Tabelle 11.

Tab. 11: Interpretation der Ergebnisse

Zielgene			
<i>Helicobacter pylori</i>	Clarithromycin-Resistenz	ICD	Ergebnis
positiv	negativ	positiv/negativ	<i>H. pylori</i> nachweisbar
positiv	positiv*	positiv/negativ	<i>H. pylori</i> und Clarithromycin-Resistenz nachweisbar
negativ	positiv*	positiv/negativ	<i>H. pylori</i> nicht nachweisbar
negativ	negativ	positiv	Zielgen nicht nachweisbar
negativ	negativ	negativ	Ungültig

***Hinweis:** Die Fluoreszenzhöhe eines richtig-positiven Signals im Clarithromycin-Resistenz Kanal (Cy5) muss bei Nutzung des LightCycler® 480II (Roche) und des CFX96™ (Biorad) mindestens 20 % des Fluoreszenzsignals der Positivkontrolle betragen und bei Nutzung des Mx3005P (Agilent Technologies), des ABI 7500 (Applied Biosystems) sowie des Rotor-Gene Q (Qiagen) mindestens 10 % des Fluoreszenzsignals der Positivkontrolle. Für eine eindeutigere Auswertung empfehlen wir den Threshold auf diesen Grenzwert (10 % bzw. 20 % des Fluoreszenzsignals der Positivkontrolle) zu legen.

Eine Probe wird positiv bewertet, wenn die Proben-DNA und Internal Control DNA eine Amplifikation im Nachweissystem zeigen.

Eine Probe wird ebenfalls positiv bewertet, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation zeigt, für die Internal Control DNA jedoch keine Amplifikation im Nachweissystem zu sehen ist. Der Nachweis der Internal Control DNA ist in diesem Fall nicht notwendig, da hohe Konzentrationen des Amplikons zu einem schwachen oder fehlenden Signal der Internal Control DNA führen können.

Eine Probe wird negativ bewertet, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation zeigt, für die Internal Control DNA jedoch eine Amplifikation im Nachweissystem zu sehen ist. Eine Inhibierung der PCR-Reaktion kann durch die Detektion der Internal Control DNA ausgeschlossen werden.

Eine Probe ist ungültig, wenn die Proben-DNA und die Internal Control DNA keine Amplifikation im Nachweissystem zeigen. In der Probe sind PCR-Inhibitoren

vorhanden bzw. es trat ein Fehler im Extraktionsverfahren auf. Die extrahierte Probe sollte 1:10 mit PCR-Wasser verdünnt und erneut amplifiziert werden oder es sollte die Isolierung und Reinigung der Probe verbessert werden.

12. Grenzen der Methode

1. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung sollte nicht allein zur Diagnose führen, sondern immer im Zusammenhang mit der Anamnese und Symptomatik des Patienten betrachtet werden.
2. Dieser Test ist nur für Biopsat validiert.
3. Unsachgemäße Probenentnahme, -transport, -lagerung und -handhabung oder eine Erregerlast unterhalb der analytischen Sensitivität des Tests können zu falsch negativen Ergebnissen führen.
4. Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu nicht auswertbaren Ergebnissen führen.
5. Mutationen oder Polymorphismen in den Primer- oder Sondenbindungsregionen können den Nachweis neuer oder unbekannter Varianten beeinträchtigen und mit RIDA[®] GENE *Helicobacter pylori* zu falsch negativen Ergebnissen führen.
6. Wie bei allen auf PCR basierenden in-vitro-diagnostischen Tests können äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter dem Detektionslimit (LoD) liegen, nachgewiesen werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind nicht immer reproduzierbar.
7. Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit lebensfähiger Organismen an. Ein positives Ergebnis deutet darauf hin, dass die Zielgene (16S rRNA, 23S rRNA) vorhanden sind.
8. In Einzelfällen kann es zu einem positiven Signal im Clarithromycin-Kanal kommen, wenn Organismen vorliegen, die ebenfalls das Clarithromycin-Wildtyp-Genom tragen, jedoch kein *Helicobacter pylori* sind.
9. In Einzelfällen kann es zu einem positiven Signal im H. pylori-Kanal kommen, wenn *Helicobacter felis*, jedoch kein *H. pylori* in der Probe vorliegt (Kreuzreaktivität).

13. Leistungsmerkmale

13.1 Klinische Leistungsmerkmale

In einer retrospektiven klinischen Validierungsstudie wurden 225, bzw. 139 klinische Proben mit dem RIDA[®]GENE Helicobacter pylori Test im Vergleich zur Kultur und einer anderen kommerziellen PCR-Methode untersucht.

Tab. 12: Korrelation der *Helicobacter pylori*- und Clarithromycin-Resistenz-Ergebnisse mit der RIDA[®]GENE Helicobacter pylori multiplex real-time PCR und der Referenzmethode.

Helicobacter pylori:

		Goldstandard			
		Positiv	Negativ	Insgesamt	
RIDA [®] GENE Helicobacter pylori	Positiv	115	2	117	Sensitivität: 100 %
	Negativ	0	108	108	Spezifität: 98 %
	Insgesamt	115	110	225	

Clarithromycin-Resistenz:

		Goldstandard			
		Positiv	Negativ	Insgesamt	
RIDA [®] GENE Helicobacter pylori	Positiv	78	2	80	Sensitivität: 96 %
	Negativ	3	56	59	Spezifität: 97 %
	Insgesamt	81	58	139	

13.2 Analytische Sensitivität

Die RIDA[®]GENE *Helicobacter pylori* multiplex real-time PCR hat eine Nachweisgrenze von ≥ 10 DNA-Kopien/Reaktion.

Die folgenden Abbildungen 3 und 4 zeigen Verdünnungsreihen von *H. pylori* und der Clarithromycin-Resistenz (jeweils $10^5 - 10^1$ DNA Kopien/ μ l) auf dem LightCycler[®] 480II.

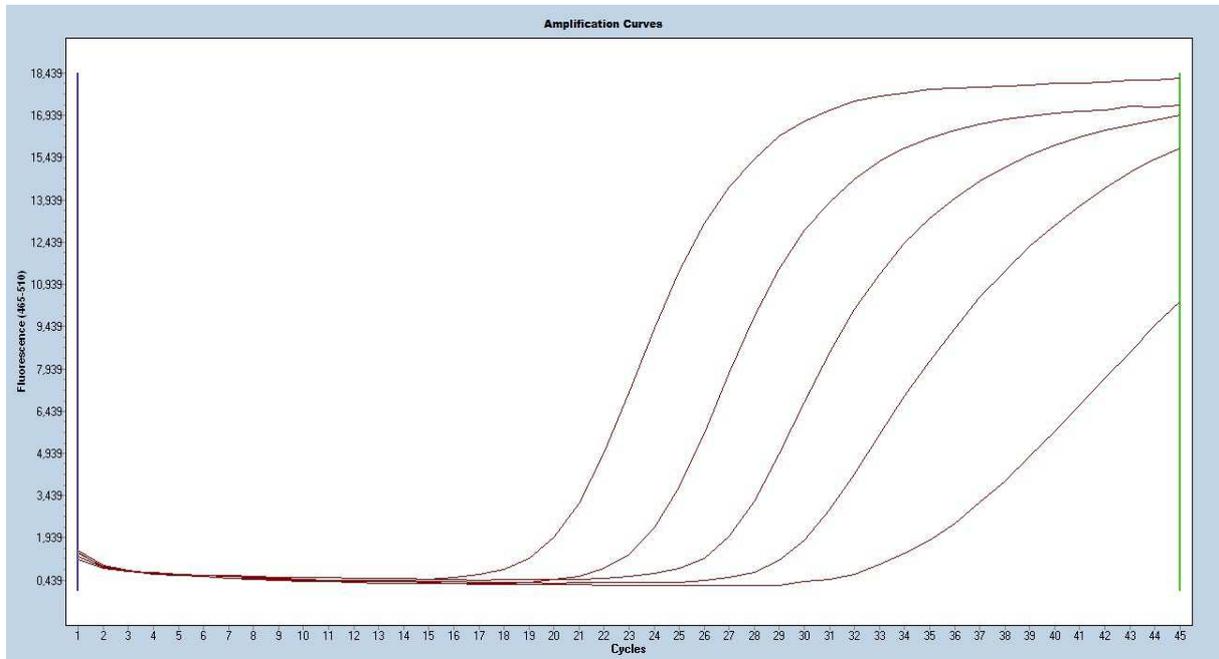


Abb. 3: Verdünnungsreihe *Helicobacter pylori* ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien/ μ l) auf dem LightCycler[®] 480II

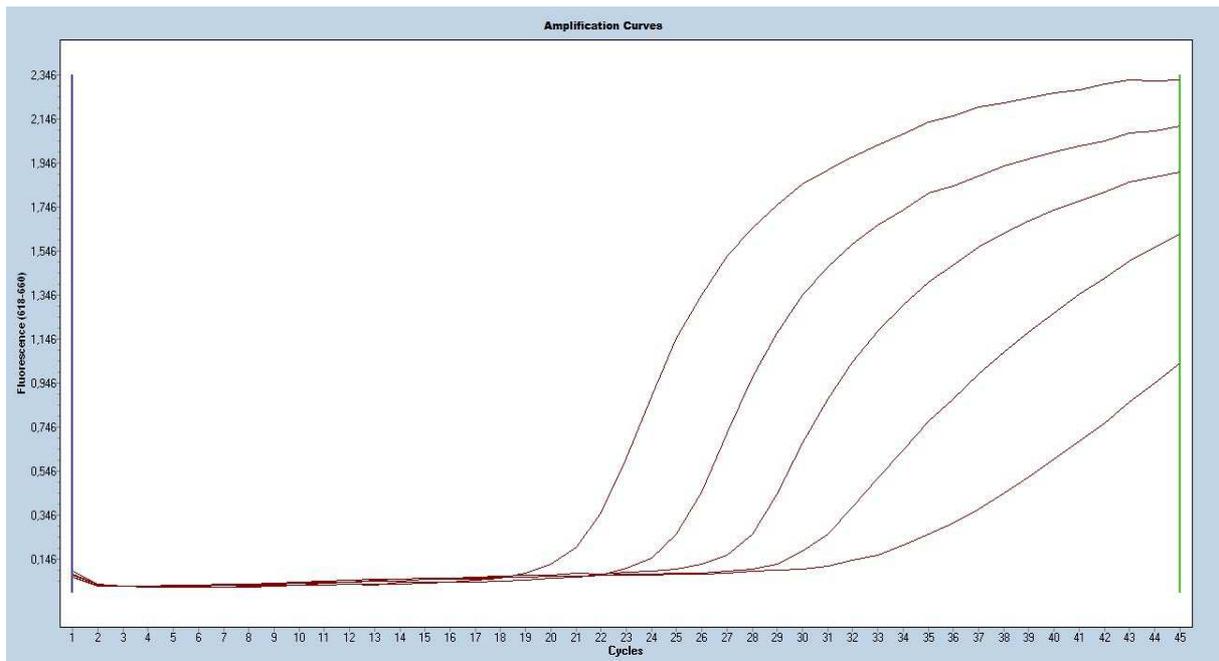


Abb. 4: Verdünnungsreihe Clarithromycin-Resistenz ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien/ μ l) auf dem LightCycler® 480II

Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens ist abhängig von der Probenmatrix, der DNA-Extraktion und dem DNA-Gehalt.

13.3 Analytische Spezifität

Die RIDA® GENE *Helicobacter pylori* multiplex real-time PCR ist spezifisch für *Helicobacter pylori* aus humanem Biopsat. Es wurden keine Kreuzreaktivitäten zu den folgenden Spezies festgestellt (s. Tab. 13):

Tab. 13: Kreuzreaktivitätstestung

Adenovirus 40, human, strain Dugan	-	<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Adenovirus 41, human, strain Tak	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	Rotavirus	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland 1	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium difficile</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB Clone C6	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
Astrovirus	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Clostridium sordellii</i>	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	Norovirus GGI	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	Norovirus GGII	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-				

14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2018-11-12	Generelle Überarbeitung 4. Packungsinhalt 5. Reagenzien und ihre Lagerung 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör 8. Sammlung und Lagerung der Proben 9. Testdurchführung 10. Qualitätskontrolle 11. Interpretation der Ergebnisse 12. Grenzen der Methode 13. Leistungsmerkmale 14. Versionsübersicht 15. Symbolerklärung

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Testspezifische Symbole

Nicht zutreffend

16. Literatur

1. Rimbara E. PCR Detection of *Helicobacter pylori* in clinical samples. *Methods Mol. Biol.* 2013, 943: 279-287
2. Glocker E, *et al.* Quinolone resistance in *Helicobacter pylori* isolates in Germany. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007, 51(1): 346-349
3. O'Connor A. Treatment of *Helicobacter pylori* infection in 2010. *Helicobacter* ISSN 1523-5378, *Helicobacter* 15 (Suppl. 1): 46-52