

RIDASCREEN[®] Helicobacter

REF C2302



1. Zweckbestimmung

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDASCREEN® Helicobacter ist ein Enzymimmunoassay zum qualitativen Nachweis von *Helicobacter pylori*-spezifischem Antigen in humanen Stuhlproben.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Marshall und Warren konnten 1984 bei Patienten mit histologisch nachgewiesener Gastritis und peptischen Ulcera des Duodenum die Anwesenheit eines *Campylobacter*-ähnlichen Organismus in der Mucosa des Antrums und des Corpus nachweisen. Heute ist die ursächliche Beteiligung von *Helicobacter pylori* an der Entstehung gastrointestinaler Erkrankungen anerkannt. Infektionen mit *H. pylori* führen zu Entzündungen, die in einem ursächlichen Zusammenhang mit chronischer Gastritis, Magen- und Dünndarmgeschwüren und Magenkarzinomen stehen. Dies wird durch die meist erfolgreiche Heilung von Gastritis und Ulcus nach einer Eradikationstherapie bestätigt. *H. pylori* hat verschiedene Schutzmechanismen entwickelt, um im sauren, bakteriziden Milieu des Magens zu überleben. Das Enzym Urease spaltet Harnstoff in Ammoniak und Kohlenstoffdioxid und neutralisiert so die Magensäure. Die Produktion von Katalase und Superoxiddismutase schützt *H. pylori* gegen Angriffe von Neutrophilen. Viele *H. pylori*-positive Patienten entwickeln eine Gastritis, ca. 10 % der Patienten Ulcera. 90 % der Patienten mit Dünndarm- bzw. Magengeschwüren, gleich welchen Alters, sind *H. pylori*-positiv. Es gibt zwei grundsätzliche Ansätze für die Diagnostik von *H. pylori* Infektionen: den direkten Nachweis des Organismus und die indirekte Bestimmung durch den Nachweis von Antikörpern, die vom Patienten gegen *H. pylori* gebildet wurden. Zu den direkten, aber invasiven Nachweismethoden einer Infektion zählt der Urease-Schnelltest, die Histologie, die PCR oder die Kultivierung des Organismus aus Biopsie-Material. Die Kultur von *H. pylori* aus Biopsie-Material ist schwierig und zeitaufwändig. Die technischen Schwierigkeiten können zu falsch negativen Ergebnissen, d.h. einer geringen Sensitivität, führen. Außerdem neigt *H. pylori* dazu, die Magenschleimhaut inselförmig zu besiedeln, weshalb mit steigender Anzahl der entnommenen Biopsien die Sensitivität der Histologie steigt. Eine weitere direkte Nachweismethode von *H. pylori* ist der Harnstoff-Atemtest. Hierbei wird das durch die bakterielle Urease gebildete Kohlenstoffdioxid nachgewiesen. Der Atemtest besitzt eine hohe Sensitivität und Spezifität, erfordert jedoch spezielle Messgeräte und die Einnahme von isotonenmarkiertem Harnstoff durch den Patienten. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass die Testgenauigkeit der Urease-abhängigen Tests (Urease-Schnelltest und Harnstoff-Atemtest) stark durch die Anwesenheit von störenden Faktoren beeinflusst wird. Ein häufig durchgeführter Nachweis ist die serologische Bestimmung von *H. pylori*-spezifischen Antikörpern. Dies ist eine indirekte Nachweismethode, bei der die vom Patienten gebildeten Antikörper gegen *H. pylori* detektiert werden. Darüber hinaus gelingt die Erfolgskontrolle einer

Eradikationstherapie mit serologischen Methoden nur unzureichend, da der Antikörper-Titer über Monate hinweg nur langsam abfällt.

RIDASCREEN® *Helicobacter* ist ein Enzymimmunoassay im Mikrotiterplattenformat zum direkten, nicht-invasiven Nachweis von *H. pylori*-Antigen in Humanstuhl. Der Test basiert auf monoklonalen Antikörpern, wodurch Schwankungen zwischen den einzelnen Chargen vermieden werden. Durch den direkten Nachweis von Antigenen ist es möglich, sowohl die Stellung einer Erstdiagnose zu unterstützen als auch den Therapieerfolg 4 bis 6 Wochen nach Beendigung der Eradikationstherapie zu überprüfen oder das Wiederauftreten einer Infektion nachzuweisen.

3. Testprinzip

Im RIDASCREEN® *Helicobacter*-Test werden monoklonale Antikörper in einem Sandwich-Verfahren eingesetzt. An der Oberfläche der Vertiefung der Mikrotiterplatte sind monoklonale Antikörper gegen *H. pylori*-spezifisches Antigen gebunden. Eine Suspension der zu untersuchenden Stuhlprobe sowie die Kontrollen werden zusammen mit biotinylierten Anti-*Helicobacter*-Antikörpern (Konjugat 1) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) zur Inkubation in die Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach einem Waschschrift wird Streptavidin-Poly-Peroxidase Konjugat (Konjugat 2) dazu gegeben und erneut bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert. Bei Anwesenheit von *H. pylori*-spezifischem Antigen in der Probe bildet sich ein Sandwich-Komplex aus immobilisierten Antikörpern, Antigen und konjugierten Antikörpern. Nicht gebundenes Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugat wird in einem weiteren Waschschrift entfernt. Nach der Zugabe von Substrat wandelt gebundenes Enzym bei positiven Proben die farblose Lösung in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte in eine blaue Lösung um. Durch Zugabe von Stopp-Reagenz erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Extinktion ist proportional zur Konzentration des in der Probe vorhandenen *H. pylori*-spezifischen Antigens.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 96 Bestimmungen

Plate	96 Best.	Mikrotiterplatte, 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit monoklonalen Antikörpern (Maus) gegen <i>H. pylori</i> -spezifisches Antigen
Diluent 1	100 ml	Probenverdünnungspuffer 1, Protein-gepufferte NaCl-Lösung; gebrauchsfertig; blau gefärbt
Wash buffer	100 ml	Waschpuffer, Phosphat-gepufferte NaCl-Lösung (10x konz.); enthält 0,1 % Thimerosal
Control +	2 ml	Positivkontrolle; inaktiviertes <i>H. pylori</i> Antigen; gebrauchsfertig; rot-rosa gefärbt
Control -	2 ml	Negativkontrolle; negative Kontrolle (Probenverdünnungspuffer 1); gebrauchsfertig
Conjugate 1	13 ml	Biotin-konjugierte Antikörper (Maus) gegen <i>H. pylori</i> -spezifisches Antigen; gebrauchsfertig; grün gefärbt
Conjugate 2	13 ml	Streptavidin-Poly-Peroxidase Konjugat in stabilisierter Proteinlösung gebrauchsfertig; orange gefärbt
Substrate	13 ml	Wasserstoffperoxid/TMB; gebrauchsfertig
Stop	12 ml	Stopp-Reagenz; 1 N Schwefelsäure; gebrauchsfertig

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf www.r-biopharm.com.

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Alle Reagenzien sind bei 2 - 8 °C zu lagern und bis zu dem auf den Etiketten aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 - 8 °C 4 Wochen haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Der Alu-Beutel ist mit einer Schere so zu öffnen, sodass der Klippverschluss nicht abgetrennt wird. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sind im verschlossenen Alu-Beutel sofort wieder bei 2 - 8 °C zu lagern.

Eine direkte Lichteinwirkung auf das farblose Substrat ist zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Blaufärbung durch Autooxidation vorzubeugen. Bei aufgetretener Blaufärbung kann das Substrat nicht mehr verwendet werden.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

6.1 Benötigte Reagenzien

Folgende Reagenzien werden für die Durchführung des RIDASCREEN® Helicobacter Tests benötigt:

Reagenzien
Destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2 Benötigtes Laborzubehör

Folgendes Zubehör wird für die Durchführung des RIDASCREEN® Helicobacter Tests benötigt:

Zubehör
Probenröhrchen
Einwegpipetten (Art. Nr.:Z0001)
Vortex Mixer (optional, siehe 9.3.)
Mikropipette für 50 - 100 µl und 1 ml Volumina
Messzylinder
Stoppuhr
Waschgerät für Mikrotiterplatten (Art. Nr. Z50TS8V oder Z800TS) oder Mehrkanalpipette (300 µl)
Photometer für Mikrotiterplatten (450 nm, Referenzfilter 620 - 650 nm)
Filterpapier (Labortücher)
Abfallbehälter mit einer 0,5 %-igen Hypochloritlösung

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

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 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.

Gefahrstoffangaben gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf www.r-biopharm.com.

Die im Kit befindliche Positivkontrolle enthält rekombinant hergestelltes *H. pylori*-spezifisches Antigen. Sie sollte, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös gemäß den nationalen Sicherheitsbestimmungen behandelt werden.

Der Waschpuffer enthält als Konservierungsmittel 0,1 % Thimerosal. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen genau wie diese mit geeigneten Desinfektionsmitteln (z.B. Natrium-Hypochlorit) behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

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

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Das Untersuchungsmaterial ist bis zur Verarbeitung bei 2 - 8 °C zu lagern. Kann das Material nicht innerhalb von 3 Tagen im Test eingesetzt werden, wird eine Lagerung bei - 20 °C oder kälter empfohlen. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden. Eine im Probenverdünnungspuffer 1:11 verdünnte Stuhlprobe ist bei 4 °C bis zu 3 Tagen haltbar (Tab. 1).

Stuhlproben oder Rektalabstriche sollten nicht in Transportbehältern gesammelt werden, die Transportmedien mit Konservierungsstoffen, tierischen Seren, Metall-Ionen, oxidierenden Agenzien oder Detergenzien enthalten, da Interferenzen mit dem RIDASCREEN® Helicobacter - Test auftreten können. Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 100 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

Tab. 1: Probenlagerung

Unverdünnte Stuhlprobe		Verdünnte Stuhlprobe
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	4 °C
≤ 3 Tage	> 3 Tage	≤ 3 Tage

9. Testdurchführung

9.1 Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien und die Mikrotiterplatte Plate auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Die Mikrotiterstreifen sind erst nach Erreichen der Raumtemperatur dem Alu-Beutel zu entnehmen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch sind die

Mikrotiterstreifen (im verschlossenen Beutel) und die Reagenzien wieder bei 2 - 8 °C zu lagern.

Einmal benutzte Mikrotiterstreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Reagenzien und Mikrotiterstreifen dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

Ein direkter Kontakt von Proben mit den Kitkomponenten ist zur Vermeidung von Kreuzkontamination zu vermeiden.

Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung sollte vermieden werden. Es wird empfohlen, die Mikrotiterplatte zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten abzudecken oder abzukleben.

9.2 Herstellung des Waschpuffers

1 Teil des Waschpuffer-Konzentrates **Wash buffer** wird mit 9 Teilen destilliertem Wasser gemischt. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle sind vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) zu lösen.

9.3 Vorbereitung der Proben

In ein gekennzeichnetes Teströhrchen wird 1 ml RIDASCREEN® Probenverdünnungspuffer **Diluent | 1** vorgelegt. Mit einem Spatel oder einer Einweg-Impföse werden ca. 50 - 100 mg Stuhlprobe entnommen und im vorgelegten Verdünnungspuffer suspendiert.

Im Falle einer flüssigen Stuhlprobe werden ca. 100 µl in eine Einwegpipette (Art. Nr. Z0001) bis kurz oberhalb der zweiten Verdickung aufgesaugt und im vorgelegten Puffer suspendiert.

Das Homogenisieren der Stuhlsuspension erfolgt entweder durch Aufsaugen und Ausstoßen mit der Einwegpipette oder alternativ durch Mischen auf einem Vortexmixer. Nach kurzem Stehenlassen (10 min) zur Sedimentation grober Stuhlpartikel kann der auf diese Weise geklärte Überstand der Stuhlsuspension direkt im Test eingesetzt werden. Erfolgt die Testdurchführung in einem ELISA-Automaten **muss** dieser Überstand partikelfrei sein. In diesem Fall empfiehlt sich eine Zentrifugation bei 2500 x g für 5 Minuten.

Hinweis :

Die im **Diluent | 1** verdünnten Stuhlproben können auch in allen anderen RIDASCREEN® ELISA eingesetzt werden die ebenfalls das **Diluent | 1** verwenden.

9.4 Erste Inkubation

Nach dem Einstecken einer ausreichenden Zahl von Kavitäten in den Halterahmen erfolgt die Zugabe von 100 µl der Positiv-Kontrolle **Control | +**, der Negativkontrolle **Control | -**, und der Stuhlprobensuspension in die Vertiefungen. Anschließend werden 100 µl des Biotin-konjugierten Antikörpers **Conjugate | 1** zugegeben und nach Durchmischung (leichtes Tippen an den Plattenrand) für 60 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert.

9.5 Waschen

Sorgfältiges Waschen ist wichtig zur Erzielung korrekter Ergebnisse und sollte daher strikt nach Anleitung erfolgen. Das Inkubat in den Kavitäten sollte zunächst in einen Abfallbehälter entleert und gemäß den behördlichen Vorschriften entsorgt werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wird 5mal mit jeweils 300 µl Waschpuffer gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

Bei der Verwendung von Waschautomaten oder ELISA-Vollautomaten ist die korrekte Einstellung des Gerätes zu beachten bzw. beim Hersteller zu erfragen. Geräte, die R-Biopharm liefert, sind bereits mit validierten Einstellungen und Arbeitsprotokollen programmiert. Um Verstopfungen von Waschnadeln zu vermeiden, sollten gemäß der Probenvorbereitung (Pkt. 9.3.) nur partikelfreie Stuhlsuspension eingesetzt werden. Bei den Waschschrritten muss auf ein komplettes Absaugen der Flüssigkeit geachtet werden.

9.6 Zweite Inkubation

100 µl des Streptavidin-Poly-Peroxidase Konjugates Conjugate | 2 werden in die Kavitäten pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert.

9.7 Waschen

Waschen gemäß Punkt 9.5.

9.8 Dritte Inkubation

Zugabe von 100 µl Substrat Substrate in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 15 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) im Dunkeln inkubiert. Danach wird durch Zugabe von 50 µl Stopp-Reagenz Stop in alle Vertiefungen die Reaktion gestoppt. Nach vorsichtigem Mischen (leichtes Tippen an den Plattenrand) wird die Extinktion bei 450 nm (optional: 450/620 nm) gemessen. Der Abgleich des Nullwertes sollte gegen Luft - also ohne Mikrotiterplatte - erfolgen.

Hinweis:

Hoch positive Patientenproben können schwärzliche Präzipitate des Substrates verursachen.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Für die Qualitätskontrolle sind bei jeder Testdurchführung Positiv- und Negativkontrolle mitzuführen, um Reagenzien-Stabilität und korrekte Testdurchführung sicherzustellen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn der Extinktionswert (O.D.) der Negativkontrolle bei 450 nm kleiner 0,200 (kleiner 0,160

bei 450/620 nm) und der gemessene Wert der Positivkontrolle bei 450 nm oder bei 450/620 nm größer 0,800 ist. Ist der Wert der Negativkontrolle größer 0,200 (0,160) kann dies ein Zeichen für ungenügendes Waschen sein. Eine Abweichung von den geforderten Werten kann ebenso wie eine Trübung oder Blaufärbung des farblosen Substrates vor Zugabe in die Kavitäten ein Hinweis auf einen Reagenzienverfall sein. Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläulich verfärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

Sind bei Wiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributor.

11. Auswertung und Interpretation

11.1 Berechnung des Grenzwertes

Zur Festlegung des Grenzwertes werden zu der gemessenen Extinktion der Negativkontrolle 0,150 Extinktionseinheiten hinzuaddiert.

$$\text{Cut-off} = \text{Extinktionswert der Negativkontrolle} + 0,150$$

11.2 Testergebnis

Als **positiv** werden solche Proben beurteilt, deren Extinktionswert mehr als 10 % über dem errechneten Grenzwert liegt.

Als **grenzwertig** und zu wiederholen werden solche Proben bezeichnet, deren Extinktionswert im Bereich von 10 % oberhalb und unterhalb des Grenzwertes liegt. Fällt eine Wiederholungsuntersuchung mit einer frischen Stuhlprobe wieder in den Graubereich, so ist die Probe als negativ zu beurteilen.

Proben, die mehr als 10 % unter dem errechneten Grenzwert liegen, sind als **negativ** zu bewerten.

Bei Verwendung einer bichromatischen Messmethode (450/620 nm) können negative OD-Werte auftreten.

12. Grenzen der Methode

Der RIDASCREEN® Helicobacter Test weist *H. pylori*-spezifisches Antigen in humanen Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe eines ermittelten Extinktionswertes und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden.

Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem klinischen Bild zu interpretieren.

Ein **positives** Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger nicht aus.

Ein **negatives** Ergebnis schließt eine mögliche Infektion mit *H. pylori* nicht aus. Es kann durch intermittierende Ausscheidung von Erreger-Antigen oder durch eine zu geringe Antigenmenge in der Probe verursacht sein. Besteht anamnestisch der begründete Verdacht auf eine Infektion mit *H. pylori*, sollte eine weitere Stuhlprobe des Patienten untersucht werden.

Ein **grenzwertiges** Ergebnis kann durch eine inhomogene Verteilung des Antigens in der Stuhlprobe verursacht werden. Deshalb sollte in einem solchen Fall eine zweite Suspension aus der gleichen Probe untersucht werden oder eine weitere Stuhlprobe des Patienten zur Untersuchung angefordert werden.

13. Leistungsmerkmale

13.1 Testqualität

Die diagnostische Leistungsfähigkeit des RIDASCREEN® Helicobacter wurde in einem Routinelabor mit 266 Stuhlproben getestet. Die Proben stammten von Patienten mit Verdacht auf eine Infektion mit *Helicobacter pylori*. Als Referenz wurde die im Labor verwendete Routinediagnostik (CLIA) durchgeführt. Die Ergebnisse der Studie sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tab.2: Vergleich des RIDASCREEN® Helicobacter ELISA mit dem EIA (CLIA) der Routinediagnostik des Studienzentrums

		Mitbewerber-EIA (CLIA)	
		pos	neg
RIDASCREEN® Helicobacter	pos	43	3
	neg	6	209

Fünf Proben waren in der Routinediagnostik grenzwertig und wurden ausgeschlossen.

Positive Übereinstimmung: 90,5 %

Negative Übereinstimmung: 97,9 %

13.2 Kreuzreaktivität

Verschiedene pathogene Keime des Intestinaltraktes wurden mit dem RIDASCREEN® Helicobacter ELISA untersucht und zeigten keine Kreuzreaktivität. Durchgeführt wurden die Untersuchungen mit Bakteriensuspensionen, die eine Konzentration von 10^6 bis 10^9 Organismen pro ml aufwiesen. Viruskulturüberstände sowie Stuhlproben sind entsprechend deklariert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tab. 3: Kreuzreaktionen mit pathogenen Mikroorganismen

Testkeim	Herkunft	MW [OD450/620]
<i>Adenovirus</i>	Zellkulturüberstand	-0,005
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Kultur	0,005
<i>Arcobacter butzlerii</i>	Kultur	0,002
<i>Astrovirus</i>	Zellkulturüberstand	0,004
<i>Bacillus cereus</i>	Kultur	0,000
<i>Bacteroides fragilis</i>	Kultur	0,000
<i>Campylobacter coli</i>	Kultur	0,004
<i>Campylobacter fetus</i>	Kultur	0,028
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kultur	-0,003
<i>Campylobacter lari</i>	Kultur	-0,001
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Kultur	-0,005
<i>Candida albicans</i>	Kultur	-0,002
<i>Citrobacter freundii</i>	Kultur	-0,007
<i>Clostridium difficile</i>	Kultur	-0,003
<i>Clostridium sordellii</i>	Kultur	-0,005
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kultur	-0,004
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	Kultur	-0,010
<i>Escherichia coli</i> (O26:H-)	Kultur	-0,007
<i>Escherichia coli</i> (O6)	Kultur	-0,007
<i>Escherichia coli</i>	Kultur	-0,002
<i>Entamoeba histolytica</i>	Stuhl	-0,009
<i>Enterobacter cloacae</i>	Kultur	-0,001
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kultur	-0,004
<i>Giardia lamblia</i>	Stuhl	0,003
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Kultur	-0,008
<i>Helicobacter heilmannii</i>	Kultur	-0,008

<i>Klebsiella oxytoca</i>	Kultur	-0,004
<i>Norovirus</i>	Posko	-0,006
<i>Proteus vulgaris</i>	Kultur	0,001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kultur	-0,003
<i>Rotavirus</i>	Zellkulturüberstand	-0,011
<i>Salmonella enteritidis</i>	Kultur	-0,006
<i>Salmonella typhimurium</i>	Kultur	-0,011
<i>Shigella flexneri</i>	Kultur	-0,004
<i>Shigella sonnei</i>	Kultur	-0,009
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultur	-0,004
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultur	-0,006
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Kultur	-0,005
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Kultur	-0,010

13.3 Präzision

Die Reproduzierbarkeit des RIDASCREEN® Helicobacter ELISA wurde mit sechs Referenzen, die den gesamten Messbereich von negativ bis hoch positiv abdecken, durchgeführt. Zur Bestimmung der Intra-Assay Reproduzierbarkeit wurden 40 Replikate dieser Referenzen gemessen. Die Mittelwerte und die Variationskoeffizienten (VK) wurden für 3 Lots ermittelt. Für die Inter-Assay Reproduzierbarkeit wurden die Referenzen an 10 verschiedenen Arbeitstagen mit 2 Läufen am Tag in Duplikaten gemessen. Die Messungen wurden mit 3 Lots und von 4 Technikern durchgeführt. Die Inter-Lot Reproduzierbarkeit wurde über alle 3 Lots ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tab. 4: Ergebnisse der Reproduzierbarkeit/Präzision des RIDASCREEN®
Helicobacter ELISA

Referenz Mittelwert / VK	Intra-Assay			Inter-Assay			Inter- Lot	
	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3	
1	MW	3,193	3,225	3,034	3,327	3,206	3,109	3,214
	VK (%)	3,57 %	1,85 %	3,76 %	2,14 %	4,71 %	5,40 %	5,37 %
2	MW	2,530	2,443	2,123	2,884	2,646	2,590	2,707
	VK (%)	5,36 %	3,04 %	4,37 %	5,66 %	8,18 %	10,19 %	9,78 %
3	MW	1,452	1,430	1,337	1,776	1,570	1,567	1,638
	VK (%)	9,68 %	5,19 %	8,76 %	7,48 %	11,93 %	12,96 %	12,86 %
4	MW	0,826	0,712	0,722	0,971	0,853	0,833	0,886
	VK (%)	12,30 %	4,30 %	8,55 %	8,67 %	11,44 %	13,15 %	13,70 %
5	MW	0,423	0,443	0,398	0,616	0,516	0,527	0,553
	VK (%)	12,00 %	4,47 %	11,22 %	9,73 %	11,02 %	13,82 %	15,02 %
6	MW	-0,005	-0,008	-0,007	0,014	-0,003	-0,004	0,002
	VK (%)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

13.4 Analytische Sensitivität:

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des RIDASCREEN® Helicobacter ELISA wurden LoB (Limit of Blank) mit 90 Messungen von negativen Proben bestimmt. Der LoD (Limit of Detection) wurde anschließend mit 30 Messungen einer rekombinanten *Helicobacter* Antigen-Präparation analysiert. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tab. 5: Ergebnisse der analytischen Sensitivität des RIDASCREEN® Helicobacter ELISA

	MW [OD 450/620]	ng/ml
LoB	0,077	-
LoD	-	0,4

13.5 Interferierende Substanzen

Die nachfolgend aufgeführten Substanzen zeigten keinen Effekt auf die Testergebnisse, wenn sie in *Helicobacter*-positive und *Helicobacter*-negative Stuhlproben in den angegebenen Konzentrationen eingemischt wurden:

Mucin	5,0 % w/w	Diclofenac	0,1 % v/w
Humanblut	5,0 % v/w	Cyclamat/Saccharin Mix	1,3 % v/w
Bariumsulfat	18,5 % w/w	Iberogast	0,09 % v/w
Loperamid	0,02 % w/w	Quadruple Therapie	
Pepto-Bismol	6,3 % v/w	Clarithromycin	1,50 % w/w
Stearinsäure/ Palmitinsäure	40 % w/w (1:1)	+ Metronidazol	+ 1,20 % w/w
		+ Amoxicillin	+ 3,00 % w/w
		+ Lansoprazol	+ 0,09 % w/w










Lediglich bei stark fettigen Stühlen kann es zu leicht erhöhten OD-Werten kommen.

14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2018-06-07	Freigabeversion

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

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

Testspezifische Symbole

Plate	Mikrotiterplatte
Diluent 1	Probenverdünnungspuffer 1
Wash buffer	Waschpuffer
Control +	Positivkontrolle
Control -	Negativkontrolle
Conjugate 1	Biotin-konjugierte Antikörper
Conjugate 2	Streptavidin-Poly-Peroxidase Konjugat
Substrate	Substrat
Stop	Stopp-Reagenz

16. Literatur

1. Marshall, B.J., Warren, J.R.. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1(8390): 1311-1314.
2. Dunn, B.E., Cohen, H., Blaser, M.J. 1997. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 10: 720-741.
3. D'Ellos, M.M., Andersen, L.P., Del Prete, G. 1998. Inflammation and host response. *Curr Opin in Gastroenterology*, 14 (suppl. 1): 15-19.
4. Delchier, J.-C., Ebert, M., Malfertheiner, P. 1998. *Helicobacter pylori* in gastric lymphoma and carcinoma. *Curr Opin in Gastroenterology*, 14 (suppl. 1): 41-45
5. Feldman, R.A., Eccersley, A.J.P., Hardie, J.M. 1997. Transmission of *Helicobacter pylori*. *Curr Op in Gastroenterology* 8: 8-12.
6. Graham, D.Y., Klein, P.D., Evans, Jr., D.J., Evans, D.G., Alpert, L.C., Opekun, A.R., Boutton, T.W. 1987. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1(8543): 1174-1177.
7. Graham, D.Y., Klein, P.D., Opekun, A.R., Boutton, T.W. 1988. Effect of age on the frequency of active *Campylobacter pylori* infection diagnosed by the [13C] Urea breath test in normal subjects and patients with peptic ulcer disease. *J Infect Dis* 157: 777-780.
8. Barthel, J.S., Everett, E.D. 1990. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: the "Gold Standard" and the alternatives. *Rev Infect Dis* 12 (suppl.1): S107-S114.
9. Kokkola A., Rautelin H., Puolakkainen P., Sipponen P., Farkkila M., Haapiainen R., Kosunen T.U. 2000. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: comparison of histology, ¹³C-urea breath test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 35(2): 138-141
10. Vaira, D., Holton, J., Menegatti, M., Ricci, C., Landi, F., Ali, A., Gatta, L., Acciardi, C., Farinelli, S., Crosatti, M., Berardi, S., Miglioli, M. 1999. New immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 45 (suppl. 1): I23-I27.
11. Vaira D., Miglioli M., Mule P., Holton J., Menegatti M., Vergura M., Biasco G., Conte R., Logan R.P., Barbara L. 1994. Prevalence of peptic ulcer in *Helicobacter pylori* positive blood donors. *Gut* 35: 309-312.
12. Graham D.Y., Malaty H.M., Evans D.G., Evans D.J. Jr., Klein P.D., Adam E. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 100: 1495-1501.

13. Makristathis A., Barousch W., Pasching E., Binder C., Kuderna C., Apfalter P., Rotter M.L., Hirschl A.M. 2000. Two enzyme immunoassays and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. *J Clin Microbiol* 38(10): 3710-3714
14. W. Fischbach, P. Malfertheiner, P. Lynen Jansen, W. Bolten, J. Bornschein, S. Buderus, E. Glocker, J. C. Hoffmann, S. Koletzko, J. Labenz, J. Mayerle, S. Miehlke, J. Mössner, U. Peitz, C. Prinz, M. Selgrad, S. Suerbaum, M. Venerito, M. Vieth, 2016. S2k-Leitlinie *Helicobacter pylori* und gastroduodenale Ulkuskrankheit. DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-102967> *Z Gastroenterol* 2016; 54:327–363 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, New York ISSN 0044-2771.
15. Diaconu S, Predescu A, Moldoveanu A, Pop CS, Fierbințeanu-Braticevici C, 2017. *Helicobacter pylori* infection: old and new. *Journal of Medicine and Life* Vol. 10, Issue 2, April-June 2017, pp.112-117
16. Ozbey G and Hanafiah A, 2017. Epidemiology, Diagnosis and Risk Factors of *Helicobacter pylori* Infection in Children. *Euroasian J Hepatogastroenterol*. 2017 Jan-Jun;7(1):34-39.