

RIDASCREEN® Helicobacter

REF C2302



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. RIDASCREEN® Helicobacter est un test immunoenzymatique pour la détection qualitative de l'antigène spécifique à *Helicobacter pylori* dans des échantillons de selles humaines.

2. Résumé et explication du test

En 1984, Marshall et Warren ont réussi à détecter la présence d'un organisme semblable à *Campylobacter* dans la muqueuse du corps de l'estomac et de l'antrum pylorique chez des patients présentant une gastrite confirmée par analyse histologique et des ulcères peptiques du duodénum. Il est aujourd'hui admis que *Helicobacter pylori* joue un rôle dans le développement des maladies gastro-intestinales. Les infections par *H. pylori* entraînent des inflammations présentant un lien de causalité avec la gastrite chronique, les ulcères gastriques, les ulcères de l'intestin grêle et les cancers gastriques. Ce postulat est confirmé par la guérison de la gastrite et des ulcères généralement constatée après un traitement d'éradication. *H. pylori* a développé divers mécanismes de défense pour survivre dans l'environnement acide et bactéricide de l'estomac. L'enzyme uréase convertit l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone, neutralisant ainsi l'acide gastrique. La production de catalase et de superoxyde dismutase protège *H. pylori* contre les attaques des neutrophiles. Parmi les patients infectés par *H. pylori*, nombreux sont ceux qui développent une gastrite et environ 10 % d'entre eux développent des ulcères. Parmi les patients présentant des ulcères de l'intestin grêle ou de l'estomac, 90 % sont positifs à *H. pylori*, quel que soit leur âge. Il existe deux approches de base pour diagnostiquer les infections à *H. pylori* : la détection directe de l'organisme et la détermination indirecte par la détection des anticorps produits par les patients en réponse à *H. pylori*. Bien qu'invasives, les méthodes de détection directes d'une infection incluent le test rapide à l'uréase, l'histologie, la PCR et la culture de l'organisme à partir d'échantillons obtenus par biopsie. La culture de *H. pylori* à partir d'échantillons obtenus par biopsie est un processus difficile et fastidieux. Les difficultés techniques qu'elle présente peuvent entraîner des résultats faussement négatifs, ce qui implique une faible sensibilité. De plus, *H. pylori* a tendance à coloniser la muqueuse gastrique sous forme d'îlots, ce pourquoi la sensibilité de l'histologie est améliorée avec un plus grand nombre de biopsies. Le test respiratoire à l'urée est une autre méthode de détection directe de *H. pylori*. Ce test permet de détecter le dioxyde de carbone produit par l'uréase bactérienne. Il offre une sensibilité et une spécificité élevées, mais nécessite des dispositifs de test spéciaux et l'ingestion par les patients d'urée marquée par un isotope. Cependant, avec ces méthodes, la précision des tests dépendant de l'uréase (test rapide à l'uréase et test respiratoire à l'urée) est fortement influencée par la présence de facteurs interférents. La détermination sérologique des anticorps spécifiques à *H. pylori* est un outil de détection couramment utilisé. Il s'agit d'une méthode de détection indirecte permettant de détecter les anticorps produits par le patient en réponse à *H. pylori*. Le

test permettant de surveiller la réussite du traitement d'éradication par des méthodes sérologiques s'avère tout simplement insuffisant puisque le taux d'anticorps ne diminue que lentement sur plusieurs mois.

RIDASCREEN[®] Helicobacter est un test immunoenzymatique sous forme de plaque de microtitrage pour la détection directe et non invasive des antigènes de *H. pylori* dans les selles humaines. Reposant sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux, ce test évite les fluctuations d'un lot à l'autre. La détection directe des antigènes peut être utilisée pour appuyer le diagnostic initialement posé et pour vérifier la réussite du traitement quatre à six semaines après la fin de la thérapie d'éradication ou pour détecter la réapparition d'une infection.

3. Principe du test

Le test RIDASCREEN[®] Helicobacter utilise des anticorps monoclonaux en appliquant une méthode de type sandwich. La surface des puits de la plaque de microtitrage est revêtue d'anticorps monoclonaux ciblant les antigènes spécifiques à *H. pylori*. Une suspension de l'échantillon de selles à examiner ainsi que des contrôles sont pipetés ensemble avec des anticorps anti-*Helicobacter* biotinylés (conjugué 1) dans le puits de la plaque de microtitrage, puis sont mis à incuber à température ambiante (20 -25 °C). Après une étape de lavage, le conjugué polyperoxydase-streptavidine (conjugué 2) est ajouté et de nouveau mis à incuber à température ambiante (20 - 25 °C). En présence des antigènes spécifiques à *H. pylori* dans l'échantillon, il se forme un complexe en sandwich composé à partir des anticorps immobilisés, des antigènes et des anticorps conjugués. Une autre étape de lavage élimine le conjugué polyperoxydase streptavidine non lié. Dans les échantillons positifs, l'ajout d'un substrat modifie l'enzyme liée dans la solution incolore qui vire au bleu. L'ajout d'un réactif d'arrêt fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction est proportionnelle à la concentration d'antigènes spécifiques à *H. pylori* présents dans l'échantillon.

4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

Plate	96 déterminations	Plaque de microtitrage, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur support ; revêtue d'anticorps monoclonaux (souris) ciblant les antigènes spécifiques à <i>H. pylori</i> .
Diluent 1	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon 1, solution de NaCl tamponnée à la protéine, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Wash buffer	100 ml	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérosal
Control +	2 ml	Contrôle positif ; antigène inactivé de <i>H. pylori</i> ; prêt à l'emploi ; couleur rose-rouge
Control -	2 ml	Contrôle négatif ; contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon 1), prêt à l'emploi
Conjugate 1	13 ml	Anticorps (souris) conjugués à la biotine ciblant les antigènes spécifiques à <i>H. pylori</i> ; prêts à l'emploi ; couleur verte
Conjugate 2	13 ml	Conjugué polyperoxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée, prêt à l'emploi, de couleur orange
Substrate	13 ml	Peroxyde d'hydrogène/TMB, prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Réactif d'arrêt, acide sulfurique 1 N, prêt à l'emploi

Les substances dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation des réactifs

Tous les réactifs doivent être entreposés entre 2 et 8 °C et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Le tampon de lavage dilué peut-être conservé pendant 4 semaines maximum s'il est conservé entre 2 et 8 °C.

La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium doit être ouvert à l'aide de ciseaux sans déchirer le joint d'étanchéité. Les barrettes de microtitrage qui ne sont pas nécessaires doivent être immédiatement remises dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C. Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1 Réactifs nécessaires

Les réactifs suivants sont nécessaires pour exécuter le test RIDASCREEN® Helicobacter :

Réactifs
Eau distillée ou déionisée

6.2 Matériel de laboratoire nécessaire

Le matériel suivant est nécessaire pour exécuter le test RIDASCREEN® Helicobacter :

Matériel
Flacons d'échantillons
Pipettes à usage unique (réf. : Z0001)
Agitateur-mélangeur vortex (facultatif, voir rubrique 9.3.)
Micropipette pour volumes de 50 - 100 µl et 1 ml
Éprouvette graduée
Chronomètre
Appareil de lavage pour plaques de microtitrage (réf. Z50TS8V ou Z800TS) ou pipettes multicanaux (300 µl).
Photomètre pour plaques de microtitrage (450 nm, filtre de référence à 620 - 650 nm)
Papier filtre (serviettes de laboratoire)
Conteneur de déchets contenant 0,5 % de solution d'hypochlorite

7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec les plaies et les membranes muqueuses. Lors de la manipulation des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Les substances dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

La trousse comprend un contrôle positif qui contient un antigène recombinant spécifique à *H. pylori*. Ce contrôle doit être traité comme du matériel potentiellement infectieux et manipulé conformément aux règlements de sécurité nationaux, de la même manière que les échantillons du patient.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Tous les réactifs et matériaux entrant en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être traités avec des désinfectants adaptés (p. ex. hypochlorite de sodium) ou passés en autoclave à 121 °C pendant au moins une heure.

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Avant utilisation, entreposer le matériel de test entre 2 et 8 °C. S'il n'est pas possible d'effectuer le test en l'espace de trois jours, il est préconisé de conserver le matériel à une température inférieure ou égale à -20 °C. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois. Après dilution d'un échantillon de selles dans un tampon de dilution d'échantillon à 1:11, l'échantillon peut être conservé à 4 °C pour être utilisé dans les trois jours qui suivent (tableau 1).

Les échantillons de selles et les frottis rectaux ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® Helicobacter. Lorsque des frottis rectaux sont utilisés, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 100 mg).

Tableau 1 : Conservation des échantillons

Échantillon de selles non dilué		Échantillon de selles dilué
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	4 °C
≤ 3 jours	> 3 jours	≤ 3 jours

9. Réalisation du test

9.1. Informations générales

Tous les réactifs et la **Plate** de microtitrage doivent être ramenés à température ambiante (20 - 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante. Les réactifs doivent être bien mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après utilisation, les barrettes à micropuits (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être de nouveau conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes à micropuits ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient.

Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse.

Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil.

Nous recommandons de couvrir la plaque de microtitrage ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

9.2. Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage **Wash buffer** avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissouts au préalable, en les réchauffant dans un bain d'eau à 37 °C.

9.3 Préparation des échantillons

Remplir un tube à essai marqué avec 1 ml de tampon de dilution des échantillons **Diluent 1** de RIDASCREEN®. Prélever environ 50 - 100 mg d'échantillon de selles à l'aide d'une spatule ou d'une anse de prélèvement à usage unique et le mettre en suspension dans le diluant.

Si l'échantillon de selles est liquide, utiliser une pipette à usage unique (réf. : Z0001) pour aspirer environ 100 µl de l'échantillon jusqu'à dépasser à peine le deuxième repère et le mettre en suspension dans le tampon.

Homogénéiser la suspension de selles par aspiration, puis éjection de la pipette à usage unique ou par mélange dans un agitateur-mélangeur vortex. Laisser la suspension reposer pendant une courte période (10 minutes) pour laisser aux particules grossières de selles le temps de se déposer ; utiliser ce liquide clair surnageant la suspension de selles directement pour le test. Si la procédure de test

est effectuée dans un automate ELISA, ce liquide surnageant **doit** être dépourvu de particules. Dans ce cas, une centrifugation à 2500 x g pendant 5 minutes est recommandée.

Remarque :

Les échantillons de selles dilués dans le **Diluent | 1** peuvent être utilisés par tout autre test RIDASCREEN® ELISA, à condition que celui-ci utilise aussi le **Diluent | 1**.

9.4. Première incubation

Après avoir rempli une quantité suffisante de puits dans le support, ajouter 100 µl du contrôle positif **Control | +**, du contrôle négatif **Control | -**, et de la suspension de l'échantillon de selles dans les puits. Ajouter ensuite 100 µl de l'anticorps conjugué à la biotine **Conjugate | 1**, et mélanger (en tapotant légèrement le bord de la plaque), puis incuber pendant 60 minutes à température ambiante (20 - 25 °C).

9.5. Lavage

Il est important de réaliser le lavage soigneusement pour obtenir des résultats corrects et donc, de respecter les instructions à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être déversée dans un conteneur de déchets et mise au rebut conformément aux réglementations officielles. Retourner ensuite la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité résiduelle. Laver ensuite la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé après chaque lavage.

En cas d'utilisation d'un laveur de microplaques ou d'un système ELISA entièrement automatisé, veiller à ce que l'appareil soit correctement réglé ou demander, au besoin, au fabricant de vous en fournir les réglages. Les appareils fournis par R-Biopharm sont déjà programmés avec des réglages et des protocoles de travail validés. Pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage, il convient de n'utiliser que des suspensions de selles dépourvues de particules (voir paragraphe 9.3, Préparation des échantillons). S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque phase de lavage.

9.6. Seconde incubation

À l'aide d'une pipette, ajouter 100 µl de conjugué polyperoxydase-streptavidine **Conjugate | 2** dans les puits, puis incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20 - 25 °C).

9.7. Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

9.8. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **Substrate** dans tous les puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (20 - 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Remplir ensuite tous les puits avec 50 µl de réactif **Stop** afin d'arrêter la réaction. Après un mélange soigneux en tapotant légèrement le côté de la plaque, mesurer l'extinction à 450 nm (en variante : à 450/620 nm). L'ajustement de la valeur du blanc est effectué à l'air libre, c'est-à-dire sans la plaque de microtitrage.

Remarque :

des échantillons de patients fortement positifs peuvent entraîner des précipités noirâtres du substrat.

10. Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

À des fins de contrôle qualité, chaque fois qu'un test est effectué, il est nécessaire d'utiliser des contrôles positif et négatif, pour vérifier la stabilité des réactifs et la réalisation correcte du test. Le test a été correctement exécuté si la valeur d'extinction (DO) du contrôle négatif est inférieure à 0,200 à 450 nm (inférieure à 0,160 à 450/620 nm) et la valeur mesurée du contrôle positif est supérieure à 0,800 à 450 nm ou à 450/620 nm. Une valeur du contrôle négatif supérieure à 0,200 (0,160) pourrait indiquer que le lavage n'a pas été suffisant. Tout écart par rapport aux valeurs requises, par exemple la présence de turbidité ou d'une coloration bleue du substrat incolore avant le remplissage des puits, pourrait indiquer une dénaturation des réactifs.

En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (p. ex. étalonnage)
- Réalisation du test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; toute solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

11.1. Calcul de la valeur seuil

Pour déterminer la valeur seuil, on ajoute 0,150 unité d'extinction à l'extinction mesurée du contrôle négatif.

$$\text{Valeur seuil} = \text{valeur d'extinction du contrôle négatif} + 0,150$$

11.2. Résultats du test

Un échantillon est considéré comme **positif** si sa valeur d'extinction est supérieure de plus de 10 % à la valeur seuil calculée.

Un échantillon est considéré comme **limite** si sa valeur d'extinction se situe dans une plage de -10 % à +10 % de la valeur seuil. Dans ce cas, le test doit être renouvelé. Si un nouvel examen utilisant un nouvel échantillon de selles obtient une valeur comprise dans cette même plage d'ombre, l'échantillon doit être considéré comme étant négatif.

Des échantillons ayant des valeurs inférieures à 10 % de la valeur seuil calculée doivent être considérés comme étant **négatifs**.

Des valeurs DO négatives peuvent se produire si des méthodes de mesure bichromatiques (450/620 nm) sont utilisées.

12. Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN[®] Helicobacter détecte des antigènes spécifiques à *H. pylori* dans des échantillons de selles humaines. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre le niveau d'une valeur d'extinction déterminée et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques.

Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.

Un résultat **positif** n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux.

Un résultat **négatif** n'exclut pas l'éventualité d'une infection par *H. pylori*. Un tel résultat peut être dû à l'élimination temporaire de l'antigène spécifique à l'agent pathogène ou à une quantité insuffisante d'antigène dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection par *H. pylori*, un autre échantillon de selles du patient doit être examiné.

Un résultat **limite** peut être causé par une répartition non homogène des antigènes dans l'échantillon de selles. Dans un tel cas, l'examen doit être répété avec une deuxième suspension provenant du même échantillon ou il convient de demander au patient un autre échantillon de selles à examiner.

13. Performances

13.1. Qualité du test

La performance diagnostique du test RIDASCREEN® Helicobacter a été éprouvée dans un laboratoire de routine sur 266 échantillons de selles. Les échantillons avaient été prélevés sur des patients suspectés d'infection par *Helicobacter pylori*. L'examen diagnostique de routine utilisé par le laboratoire (certifié CLIA) a été effectué à titre de référence. Cinq échantillons situés à la limite des tests de diagnostic courants ont été exclus. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 2.

Tableau 2 : Comparaison entre le test RIDASCREEN® Helicobacter ELISA et le test de diagnostic courant EIA (CLIA) effectué au centre d'études

		Concurrent EIA (CLIA)	
		pos.	nég.
RIDASCREEN® Helicobacter	pos.	43	3
	nég.	6	209

Corrélation positive : 90,5 %

Corrélation négative : 97,9 %

13.2. Réactivité croisée

Différents micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés à l'aide du test RIDASCREEN® Helicobacter ELISA et n'ont montré aucune réactivité croisée. Ces études ont été réalisées avec des suspensions de bactéries dont les concentrations étaient de 10^6 à 10^9 organismes par ml. Les surnageants de la culture de virus et les échantillons de selles sont également indiqués. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3 : Réactivité croisée avec des micro-organismes pathogènes

Organisme	Origine	VM [DO 450/620]
<i>Adénovirus</i>	Surnageant de culture cellulaire	-0,005
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Culture	0,005
<i>Arcobacter butzlerii</i>	Culture	0,002
<i>Astrovirus</i>	Surnageant de culture cellulaire	0,004
<i>Bacillus cereus</i>	Culture	0,000

<i>Bacteroides fragilis</i>	Culture	0,000
<i>Campylobacter coli</i>	Culture	0,004
<i>Campylobacter fetus</i>	Culture	0,028
<i>Campylobacter jejuni</i>	Culture	-0,003
<i>Campylobacter lari</i>	Culture	-0,001
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Culture	-0,005
<i>Candida albicans</i>	Culture	-0,002
<i>Citrobacter freundii</i>	Culture	-0,007
<i>Clostridium difficile</i>	Culture	-0,003
<i>Clostridium sordellii</i>	Culture	-0,005
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Culture	-0,004
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	Culture	-0,010
<i>Escherichia coli</i> (O26:H-)	Culture	-0,007
<i>Escherichia coli</i> (O6)	Culture	-0,007
<i>Escherichia coli</i>	Culture	-0,002
<i>Entamoeba histolytica</i>	Selles	-0,009
<i>Enterobacter cloacae</i>	Culture	-0,001
<i>Enterococcus faecalis</i>	Culture	-0,004
<i>Giardia lamblia</i>	Selles	0,003
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Culture	-0,008
<i>Helicobacter heilmannii</i>	Culture	-0,008
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Culture	-0,004
<i>Norovirus</i>	Posko	-0,006
<i>Proteus vulgaris</i>	Culture	0,001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Culture	-0,003
<i>Rotavirus</i>	Surnageant de culture cellulaire	-0,011
<i>Salmonella enteritidis</i>	Culture	-0,006
<i>Salmonella typhimurium</i>	Culture	-0,011
<i>Shigella flexneri</i>	Culture	-0,004
<i>Shigella sonnei</i>	Culture	-0,009
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	-0,004
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Culture	-0,006
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Culture	-0,005
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Culture	-0,010

13.3. Précision

La reproductibilité du test RIDASCREEN® Helicobacter ELISA a été étudiée avec six références qui couvrent l'ensemble de la plage de mesure des valeurs faiblement à fortement positives. Afin de déterminer la reproductibilité intra-test, 40 répétitions de ces références ont été mesurées. Les valeurs moyennes et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots. Pour ce qui est de la reproductibilité intra-test, les références de 10 jours de travail différents ont été mesurées en double, avec 2 passages par jour. Les mesures ont été effectuées en 3 lots par 4 techniciens. La reproductibilité inter-lots a été déterminée pour les 3 lots. Les résultats sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 4 : Résultats relatifs à la reproductibilité/précision du test RIDASCREEN® Helicobacter ELISA

Référence	Valeur moyenne/CV	Intra-test			Inter-tests			Inter-lots
		Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lots des trousses 1 à 3
1	VM	3,193	3,225	3,034	3,327	3,206	3,109	3,214
	CV (%)	3,57 %	1,85 %	3,76 %	2,14 %	4,71 %	5,40 %	5,37 %
2	VM	2,530	2,443	2,123	2,884	2,646	2,590	2,707
	CV (%)	5,36 %	3,04 %	4,37 %	5,66 %	8,18 %	10,19 %	9,78 %
3	VM	1,452	1,430	1,337	1,776	1,570	1,567	1,638
	CV (%)	9,68 %	5,19 %	8,76 %	7,48 %	11,93 %	12,96 %	12,86 %
4	VM	0,826	0,712	0,722	0,971	0,853	0,833	0,886
	CV (%)	12,30 %	4,30 %	8,55 %	8,67 %	11,44 %	13,15 %	13,70 %
5	VM	0,423	0,443	0,398	0,616	0,516	0,527	0,553
	CV (%)	12,00 %	4,47 %	11,22 %	9,73 %	11,02 %	13,82 %	15,02 %
6	VM	-0,005	-0,008	-0,007	0,014	-0,003	-0,004	0,002
	CV (%)	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o

13.4 Sensibilité analytique

Pour déterminer la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® *Helicobacter* ELISA, la limite du blanc (LB) a été déterminée avec 90 tests d'échantillons négatifs. La limite de détection (LDD) a ensuite été déterminée avec 30 tests d'une préparation d'antigène recombinant *Helicobacter*. Les résultats de ces mesures sont indiqués dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultats relatifs à la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® *Helicobacter* ELISA

	VM [DO 450/620]	ng/ml
LB	0,077	-
LD	-	0,4

13.5 Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont montré aucun effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans des échantillons de selles positifs et négatifs à *Helicobacter* dans les concentrations indiquées :

Mucine	5,0 % p/p	Diclofénac	0,1 % v/p
Sang humain	5,0 % v/p	Mélange de cyclamate/saccharine	1,3 % v/p
Sulfate de baryum	18,5 % p/p	Iberogast	0,09 % v/p
Lopéramide	0,02 % p/p	Quadrithérapie clarithromycine + métronidazole + amoxicilline + lansoprazole	1,50 % p/p + 1,20 % p/p + 3,00 % p/p + 0,09 % p/p
Pepto-bismol	6,3 % v/p		
Acide stéarique/ acide palmitique	40 % p/p (1:1)		










Seuls des échantillons de selles très gras peuvent produire des valeurs OD légèrement élevées.

14. Historique des versions



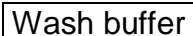


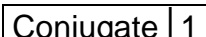
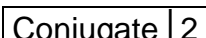
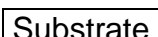

Numéro de version	Chapitre et désignation
2018-06-07	Version pour la publication

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in-vitro</i>
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

	Plaque de microtitrage
	Tampon de dilution d'échantillon 1
	Tampon de lavage
	Positive control
	Negative control
	Anticorps conjugués à de la biotine
	Conjugué polyperoxydase-streptavidine
	Substrate
	Réactif stop

16. Bibliographie

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'Elíos, 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. Miehke, 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.