

"DIAQUICK" H.pylori Stool Cassette

A rapid test for the qualitative detection of *Helicobacter pylori* antigen in human stool samples.

Cat.No.	Content
Z08090CE	- 20 tests individually packed (20 x Ref. No: Z08090B) - 20 buffer tubes - 1 package insert
Z08091CE	- 5 tests individually packed (5 x Ref. No: Z08090B) - 5 buffer tubes - 1 package insert
Z08090B	- 1 test individually packed - 1 buffer tube - 1 package insert

For professional in vitro diagnostic use only

GENERAL INFORMATION

Method	sandwich type immunochromatographic assay
Shelf life	18 months from date of production
Storage	2-30°C
Sample	human stool samples
Results	after 10 minutes

SUMMARY

The "DIAQUICK" H.pylori Stool Cassette is an immunochromatographic screening assay for the qualitative detection of *Helicobacter pylori* antigen in stool samples.

Helicobacter pylori (also formerly known as *Campylobacter pylori*) is a spiral-shaped, Gram-negative bacterium with typical flagella. It is capable of infecting the gastric mucosa. It causes several gastro-enteric diseases such as non-ulcerous dyspepsia, gastric and duodenal ulcer, and active gastritis and might even increase the risk of stomach adenocarcinoma, so that it has been classified as carcinogenic agent type I.

Various *H.pylori* strains have been isolated that differ in their virulence. Strains exhibiting a high virulence are generally characterized by the possession of the vacuolating cytotoxin (Vac A) and the so called cytotoxin associated genes cag pathogenicity island. These factors seem to be necessary for an effective infiltration of the gastric mucosa and seem to be associated with the persistence of the infection. They also contribute to sudden inflammatory responses, ulceration (gastric and duodenal ulcer), allergic episodes, and decrease of therapy efficacy.

Especially the CagA protein that is strongly immunogenic and is secreted into the gastric cells by a special mechanism is of special clinical importance. It has been widely reported in many literature articles that infected patients showing antibodies against the CagA gene product have a five times increased risk of developing gastric cancer if compared to a reference group infected with a CagA negative bacterial strain.

At present several invasive and non-invasive approaches are available to detect the infection state.

Invasive methodologies require endoscopy of the gastric mucosa with a histological, cultural and urease investigation, which are expensive and require a long time to come to a correct final diagnosis.

Alternatively, non-invasive methods are available such as Breath Tests with isotope labelled urea, which are complicated and cost-intensive, or classical ELISA or immunoblotting assays.

The "DIAQUICK" H.pylori Stool Cassette is an immunological rapid assay that takes advantage of a highly specific antibody/antigen reaction to detect *H.pylori* antigen in stool samples.

TEST PRINCIPLE

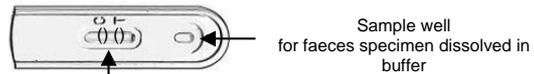
The "DIAQUICK" H.pylori Stool Cassette is a non-invasive lateral flow assay. It is precise, easy to perform and rapid, generating the test result within several minutes.

The test makes use of specific antibodies against *H.pylori* antigen. One of the antibodies has been adsorbed onto the membrane as a line. The second antibody has been conjugated with colloidal gold particles to provide a reddish colour label. If *H.pylori* antigen is present in the stool sample it forms a complex with the colour labelled antibody. When the liquid passes the membrane this complex will be captured by the antibody fixed onto the membrane. A red line appears. Therefore a red line in the T-region indicates a positive test result.

In addition the test contains an internal procedural control represented by a control line that appears in the C-region of the assay. In contrast to the test result line in the T-region, the control line is formed independent of the presence of *H.pylori* antigen. The formation of the control line shows that the test procedure has been correct and membrane wicking has occurred. The control line must show in every valid assay.

SET-UP OF THE TEST DEVICE

The plastic case of the test cassette encloses the test strip. At the right site of the picture you can see the round sample well into which the specimen is dropped. The test result window is in the middle of the cassette. You can see the white membrane where the line(s) will appear after the addition of the sample that show if the analyte is present in the sample or not. In the picture the test result line region T and the control line region C are marked with ellipses.



Test result window with the test result line region (T-region) and the control line region (C-region) marked with ellipses

MATERIAL PROVIDED

- individually wrapped test cassettes
- sample collection tubes with 1 mL buffer
- Instructions for use

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Absorbent tissue paper to prevent solution from splashing.
- stool specimen collection units
- Timer

STORAGE AND STABILITY

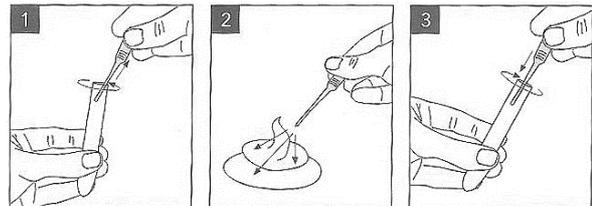
The test kit (test cassettes and collection tubes with buffer) should be stored refrigerated (2-8°C) or at room temperature (up to 30°C). The test cassette must remain in the sealed pouch until used because they are susceptible to humidity. Under these storage conditions the test is stable for the duration of the shelf-life.

PRECAUTIONS

- For in-vitro diagnostic use only
- For professional use only
- Use each test device only once.
- Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens or kits are handled.
- Do not use test if pouch is damaged.
- Do not use test kit after expiration date.
- Do not mix Sample Collection Tubes from different lots.
- Do not open the protective pouch until ready to perform the assay.
- Do not spill solution into the reaction zone
- Do not touch the result window of the cassette to avoid contaminations.
- Avoid cross-contamination of samples by using a new specimen collection containers/stool specimen collection units and sample collection tubes for each sample.
- All patient samples and positive controls should be treated as if capable of transmitting disease. Observe established precautions against microbiological hazards throughout testing and follow standard procedures for proper disposal of specimens.
- Do not use more than the required amount of liquid.
- Bring all reagents to room temperature (15-30°C) before use.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being tested.
- Store and transport the test device always at 2-30°C
- Humidity and high temperature can adversely affect results.
- Patients should closely follow the specimen collection procedures.
- Dispose all used materials in appropriate containers. Treat as potential biohazard.

SPECIMEN COLLECTION, PREPARATION AND STORAGE

Please ensure that patients will pay attention to the following instructions for the collection of the stool samples.



- 1) Collect a random sample of faeces by using a stool specimen collection unit.
- 2) Unscrew and remove the collection tube applicator stick. Be careful not to spill or spatter solution from container.
- 3) Collect random sample by using the applicator stick (5-6 mm in diameter, approx. 100-200 mg). Take sample from various surfaces of the feces specimen.
- 4) Re-insert the applicator stick into the tube and screw the cap tightly. Be careful not to break the tip of the Sample Collection Tube.
- 5) The specimen is now ready to be tested, stored, or transported. The specimen should be tested as soon possible, but may be held up to 3 days at 2-8°C prior to testing if necessary. The sample should be kept in an airtight container e.g. a plastic bag. It is recommended to store it at 2-8°C (refrigerator) until tested. Short time exposure to temperatures up to 30°C e.g. during transportation do normally not affect the specimen. However, exposure times to high temperatures should be kept as short as possible. For long-term storage of specimens, -20°C or colder is recommended. Repeated freezing and thawing of specimens is not recommended and may cause erroneous results. Do not store specimens in self-defrosting freezers.

Please note:

If a patient is feeling unsure with the dilution of the stool sample into the collection tube it is also possible that the patient gives an untreated stool sample to the doctor's office. The transfer of the sample to the buffer of the tube can also be done as described above by the personal of the doctor's office or the laboratory.

Watery or diarrhoea specimens are inappropriate for testing.

Stool specimens should be collected in containers that do not contain media, preservatives, animal serum or detergents as any of these additives may interfere with the test.

ASSAY PROCEDURE

- 1) The sealed test cassette and the patient's sample dissolved in the buffer should be brought to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open refrigerated test cassettes to prevent the condensation of moisture on the test membrane.
- 2) Remove the test device from its pouch when ready to perform the test. Label the device with patient or control identification.
- 3) Shake the collection tube thoroughly to ensure proper mixing of the faecal sample with the extraction solution.
- 4) Using a piece of tissue paper, break the tip of the collection tube using a twisting motion. Hold the collection tube vertically and dispense 3 drops (app. 120 µL) of solution into the sample well of the test device. Start the timer.
- 5) Read the result after 10 minutes. Strong positive results may be read sooner. The test result should not be read later than 15 minutes after the addition of the sample.

READING OF TEST RESULTS

Quality Control/ Internal Procedural Control

An internal procedural control is included in the test. A reddish control line appearing in the Control region (C-region) of the membrane indicates proper performance of the test and reactivity of the reagents.

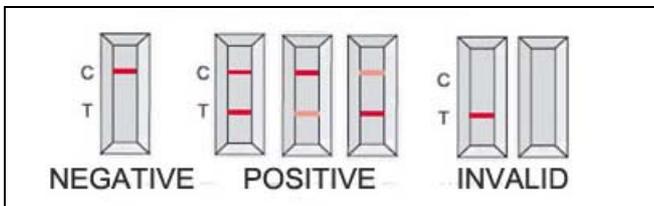
Good Laboratory Practice recommends the daily use of control materials to validate the reliability of the device. Control material, which is not provided with this test kit, may be commercially available.

Note

When testing control material dissolved in buffer the background of the assay is usually clear within 5 minutes. However, when faecal samples are tested, the background may appear slightly yellowish due to the original colour of the faecal samples. This is acceptable as long as it does not interfere with the interpretation of test result. The test is invalid if the background fails to clear and obscures the reading of the result.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

For the interpretation of the test result the line(s) that has(ve) appeared in the test result window are visually interpreted.



Positive Test Result

Two red coloured lines appear in the test result window. In addition to the red control line in the C-region a distinct red test result line appears at the T-region. The colour intensities of the lines might vary. This result shows that *H.pylori* antigen is present in the stool sample.

Negative test Result

A single red control line appears in the C-region of the test result window. No line is visible in the T-region. This indicates that no *H.pylori* antigen has been detected in the sample.

Invalid Test Result

If no control line appears in the C-region the test is not conclusive and must be interpreted as invalid. The absence of the control line might indicate an error in the test procedure or that the ingredients of the assay have deteriorated. Please repeat the test with a new test cassette paying special attention to the instructions. If the problem persists contact your manufacturer.

LIMITATIONS

- The test is for qualitative detection of *H.pylori* antigen in stool sample and does not indicate the quantity of the antigens.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
- Antibiotics, proton pump inhibitors and bismuth preparations inhibit *H.pylori*. Negative test results obtained during or shortly after a therapy might be false negative. In this case it is useful to repeat the *H.pylori* test 2 weeks after the end of the therapy.

EXPECTED VALUES

Helicobacter pylori infects more than half the people in the world.⁵ The prevalence of the infection varies among countries and among different groups within the same country.⁶ The prevalence rate in the United States suggests an incidence of infection of 2%. The lifetime prevalence of peptic ulcer disease is about 12% in men and 9% in women.⁷ Studies have found that more than 90% of patients with duodenal ulcer and 80% of patients with gastric ulcer are infected with *H.pylori*.^{8, 9} The DIAQUICK *H.pylori* Stool Cassette detects the presence of *H.pylori* antigens in stool specimens. Expected values for any given population should be determined for each laboratory. The positivity rate of any given

laboratory may vary depending on geographic location, ethnic group, and living environment.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity of the DIAQUICK *H.pylori* Stool Cassette is 36 CFU/mL or 5 ng/mL *H.pylori* antigen.

Diagnostic Sensitivity and Specificity

The DIAQUICK *H.pylori* Stool Cassette was evaluated on 170 adults. The test results were compared to diagnosis of *H.pylori* infection by reference tests, urease breath test and histology tests. Patients were considered positive if both rapid urease and histology tests were positive. Patients with both negative urease breath test and histology tests were considered negative. Among fifty (50) positive samples and one hundred and twenty (120) negative samples, the DIAQUICK *H.pylori* Stool Cassette showed 94.0% clinical sensitivity and 96.7% specificity. The accuracy is 95.9%.

DIAQUICK <i>H.pylori</i> Stool Cassette	Reference Test		
		Positive	Negative
	Positive	47	4
Negative	3	116	

Sensitivity = 94.0% (47/50)

Specificity = 96.7% (116/120)

Positive Predictive Value = 92.2% (47/51)

Negative Predictive Value = 97.5% (116/119)

Accuracy = 95.9% (163/170)

Reproducibility

Reproducibility of the DIAQUICK *H.pylori* Stool Cassette was determined using negative, low positive, and high positive samples along with negative and positive controls. These samples were tested in replicates of 8 in a blind study by 5 operators working independently in the same laboratory. The agreement of the expected result was 100%.

Assay Specificity

Following bacterial and viral strains were used to test the specificity of the DIAQUICK *H.pylori* Stool Cassette. Positive and negative stools were spiked with $>1 \times 10^8$ organism/ml and tested by the DIAQUICK *H.pylori* Stool Cassette. *H.pylori* positive stool remained positive with the spiked organisms. Negative stool remained negative with the spiked organisms.

Microorganism and virus tested:

<i>Adenovirus type II</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter fetus</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Campylobacter lari</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Helicobacter cinaedi</i>
<i>Helicobacter mustelae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Providencia stuartii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Pseudom. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Rotavirus</i>
<i>Salmonella (Group B)</i>	<i>Salmonella Dublin</i>	<i>Salm. Hivversum (Group N)</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella Minnesota</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus (Cowan)</i>
<i>Staphylococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus galactiae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i>		

LITERATURE

1. Graham, David Y. (Editor), (2007) Journal compilation© 2007 Blackwell Publishing Ltd., *Helicobacter* 12 (Suppl.1): 1-56.
2. Kist, M.; Glocker, E.; Suerbaum S. (2005): Pathogenese, Diagnostik und Therapie der *Helicobacter pylori*-Infektion, Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2005, 48: 669-678, Springer Verlag 2005.
3. Meurer, Linda N.; Meurer, M.D., M.P.H., Bower, Douglas J., M.D. (2002): Management of *Helicobacter pylori* infection, *American Family Physician* Vol.65, No.7, 1. April 2002.
4. Weiss, Judith; Mecca, James; da Silva, Elvira; Gassner, Dieter (1994): Comparison of PCR and other Diagnostic Techniques for Detection of *Helicobacter Pylori* Infection in Dyspeptic Patients, *Journal of Clinical Microbiology* Vol.32, No.7, p.1663-1668, (1994).
5. Marshall BJ. *JAMA*. 1995;274:1064-1066
6. Breuer T, Malaty HM, Graham DY. The epidemiology of *H.pylori*-associated gastroduodenal diseases. In: Ernst PB, Michetti P, Smith PD, eds. *The Immunobiology of H.pylori: From Pathogenesis to Prevention*. Philadelphia. Lippincott-Raven, 1997:1-14.
7. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans, Jr. DJ, Klein PD, and Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in a asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology*, 1991;100:1495-1501.
8. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Low point prevalence of peptic ulcer in normal individual with *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol*. 1996;91:1112-1115.
9. Tytgat GNJ, Noach LA, Rauws EAJ. *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 1993;22:27-139.



"DIAQUICK" H.pylori Stuhl Cassette

Ein Schnelltest für den qualitativen Nachweis von *Helicobacter pylori* Antigenen in humanen Stuhlproben.

Cat.No.	Inhalt
Z08090CE	- 20 Tests einzeln verpackt (20 x Ref. No: Z08090B) - 20 Pufferfläschchen - 1 Packungsbeilage
Z08091CE	- 5 Tests einzeln verpackt (5 x Ref. No: Z08090B) - 5 Pufferfläschchen - 1 Packungsbeilage
Z08090B	- 1 Test einzeln verpackt - 1 Pufferfläschchen - 1 Packungsbeilage

Nur für den professionellen in-vitro-diagnostischen Gebrauch.

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode	Sandwich Typ immunochromatographischer Assay
Haltbarkeit	18 Monate ab Produktionsdatum
Lagerung	2-30°C
Probe	humane Stuhlproben
Ergebnis	nach 10 Minuten

ZUSAMMENFASSUNG

Die „DIAQUICK“ H.pylori Stuhl Cassette ist ein visueller Immunoassay für den qualitativen Nachweis von *H.pylori* Antigenen in Stuhlproben.

Helicobacter pylori (früher auch bekannt als *Campylobacter pylori*) ist ein spiralförmiges Bakterium mit typischen Geißeln. Es ist gramnegativ und führt zu Entzündungen der Magenschleimhaut. Es verursacht verschiedene Magenkrankheiten, wie z.B. Dyspepsie, Geschwüre im Magen und Zwölffingerdarm oder Gastritis und kann das Risiko der Bildung von Magen-Adenokarzinomen erhöhen, sodass es als krebserregendes Mittel des Typs I eingruppiert wurde.

Es wurden verschiedene *Helicobacter*-Stämme isoliert, die sich in ihrer Virulenz unterscheiden. Die virulenteren Stämme sind vor allem durch das Vorhandensein des vakuolisierenden Zytotoxins (VacA) und der sogenannten zytotoxin-assoziierte-Gene (engl.: cytotoxin associated genes) cag Pathogenitätsinsel charakterisiert. Diese an der Infiltration der der Magenschleimhaut beteiligten Faktoren sind häufig mit der Persistenz der Infektion assoziiert und werden als klinisch wichtige Mitauslöser für plötzliche Entzündungen, die Geschwürbildung (Magen- und Zwölffingerdarmgeschwür), allergische Verläufe und eine Verminderung der Wirksamkeit von Therapien gesehen.

Insbesondere das CagA Protein, das stark immunogen wirkt und über einen besonderen Mechanismus in die Magenzellen sezerniert wird, kommt eine besondere Bedeutung zu. In diverser Fachliteratur wurde beschrieben, dass infizierte Patienten, die Antikörper gegen das CagA Genprodukt besitzen, ein fünfmal höheres Risiko der Erkrankung an Magenkrebs aufweisen, als eine Referenzgruppe, die mit einem CagA-negativen Bakterienstamm infiziert ist.

Im Moment sind verschiedene invasive und nicht-invasive Vorgehensweisen vorhanden, um den Infektionsstatus zu bestimmen.

Invasive Methoden erfordern eine Endoskopie der Magenschleimhaut mit einer histologischen Untersuchung, bakteriellem Nachweis und Ureasetest, die teuer ist und einige Zeit braucht, um zu einer korrekten Diagnose zu kommen.

Alternativ gibt es nicht-invasive Methoden wie z.B. der Atemtest mit isotopenmarkiertem Harnstoff, der sehr kompliziert und kostenintensiv ist, oder den klassischen ELISA oder Immunoblots.

Die „DIAQUICK“ H.pylori Stuhl Cassette ist ein immunologischer Schnelltest, mit dem über eine spezifische Antikörperreaktion *H.pylori* Antigenen in Stuhlproben nachgewiesen werden kann.

TESTPRINZIP

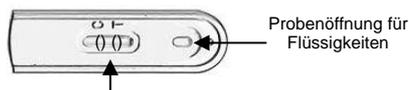
Die „DIAQUICK“ H.pylori Stuhl Cassette ist ein nicht-invasiver Membrantest. Er ist präzise, leicht handzuhaben und innerhalb weniger Minuten durchführbar.

Dieser Test basiert auf zwei spezifischen Antikörpern gegen *H.pylori*. Einer der Antikörper ist linienförmig auf der Membran adsorbiert. Der zweite Antikörper ist zur Farbmarkierung mit Gold-Partikeln konjugiert. Wenn *H.pylori* Antigenen in der Stuhlprobe vorhanden ist, bildet es mit dem farbmarkierten Antikörper einen Komplex. Läuft die Flüssigkeit über die Membran, wird dieser Komplex von dem dort fixierten Antikörper abgefangen und eine rote Linie entsteht. Eine rote Linie in der T-Region ist also mit einem positiven Testergebnis gleichzusetzen.

Der Test beinhaltet weiterhin eine interne Funktionskontrolle in Form einer Kontrolllinie, die in der C-Region entsteht. Im Gegensatz zur Testergebnislinie wird die Kontrolllinie unabhängig von der Anwesenheit von *H.pylori* Antigenen ausgebildet. Sie zeigt an, dass Testdurchführung und Benetzung der Membran korrekt abgelaufen sind und muss in jedem gültigen Test nach Probenauftrag sichtbar werden.

AUFBAU DER TESTCASSETTE

Das Plastikgehäuse der Testcassette enthält einen Teststreifen, an dessen rechtem Ende sich die Öffnung für die Probe befindet. Links liegt die Öffnung der Reaktionszone. In der Reaktionszone finden Sie die Testregion (T) und Kontrollregion (C). Das Ergebnis in der Reaktionszone zeigt nach Testdurchführung an, ob der Analyt in der Probe vorhanden ist oder nicht.



Reaktionszone mit Test- Region (T) und Kontroll- Region (C) (markiert mit Ellipsen)

MITGELIEFERTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- einzeln verpackte Tests
- Probensammelröhrchen mit 1 ml Puffer
- 1 Gebrauchsanweisung

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

- Saugfähiges Papier, um Verspritzen der Lösungen zu vermeiden
- Stuhlfänger
- Stoppuhr oder Timer

LAGERUNG UND STABILITÄT

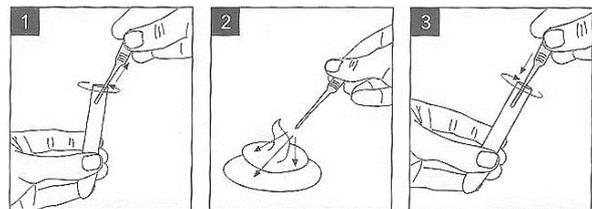
Der Test (Kassetten und Puffer) kann gekühlt (2-8°C) oder bei Raumtemperatur (bis maximal 30°C) gelagert werden. Die Testkassetten müssen bis zur Anwendung in dem versiegelten Schutzbeutel verbleiben, da sie empfindlich gegen Luftfeuchtigkeit sind. Unter diesen Lagerbedingungen ist der Test bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil.

BITTE BEACHTEN

- Nur für den IN VITRO Gebrauch
- Nur für den professionellen Einsatz
- Nur zum Einmal-Gebrauch
- Nicht in der Umgebung der Testdurchführung Rauchen, Essen oder Trinken.
- Test nicht verwenden, wenn Folienverpackung beschädigt ist
- Nicht nach Ablauf der Haltbarkeit verwenden
- Mischen Sie keine Probensammelröhrchen verschiedener Chargen.
- Öffnen Sie die Folienverpackung der Testcassette erst, wenn Sie den Test durchführen wollen.
- Spritzen Sie keine Lösung in die Reaktionszone.
- Das Reaktionsfeld nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Vermeiden Sie Kreuzkontamination der Proben, indem Sie für jede Probe einen neuen Probenbehälter und ein neues Probensammelröhrchen verwenden.
- Alle Patientenproben und Positivkontrollen wie infektiöses Material behandeln. Standardrichtlinien zum Umgang mit infektiösem Material und chemischen Reagenzien sind bei allen Handhabungen zu beachten.
- Verwenden Sie nicht mehr als die geforderte Flüssigkeitsmenge.
- Bringen Sie alle Reagenzien vor Gebrauch auf Zimmertemperatur (15-30°C).
- Tragen Sie Schutzkleidung wie Laborkittel, Einweghandschuhe und Schutzbrillen während der Testdurchführung.
- Lagern und transportieren Sie den Test bei 2-30°C.
- Feuchtigkeit und hohe Temperaturen können das Testergebnis beeinflussen.
- Patienten sollten genau der Anleitung zum Proben sammeln folgen.
- Achten Sie auf eine ordnungsgemäße Entsorgung. Verwendetes Material als potentiell infektiös behandeln.

PROBENNAHME, AUFBEREITUNG UND LAGERUNG

Bitte achten Sie darauf, dass der Patient die folgenden Informationen zum Sammeln der Stuhlprobe beachtet.



- 1) Sammeln Sie eine zufällige Stuhlprobe mit Hilfe eines Stuhlfängers.
- 2) Schrauben Sie das Probensammelröhrchen auf und nehmen Sie den Applikator heraus. Achten Sie darauf, dass Sie keine Flüssigkeit aus dem Röhrchen verschütten oder verspritzen.
- 3) Stechen Sie den Applikator an verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe (5-6 mm Durchmesser, ca. 100-200 mg).
- 4) Stecken Sie den Applikator zurück in das Röhrchen und schrauben Sie die Kappe fest zu. Achten Sie darauf, die Spitze des Probensammelröhrchens nicht abzubringen.
- 5) Die Probe ist nun bereit, um untersucht, aufbewahrt oder transportiert zu werden. Die Probe sollte so schnell wie möglich untersucht werden, kann aber bei Bedarf gekühlt (2-8°C) bis zu 3 Tage gelagert werden. Die Probe sollte hierfür in einem luftdichten Behältnis (z.B. Plastikbeutel) aufbewahrt werden. Die Lagertemperatur sollte zwischen 2-8°C (Kühlschrank) liegen. Eine kurze Erwärmung (bis 30°C), wie sie z.B. während des Transports vorkommen kann, führt in der Regel zu keiner Beeinträchtigung des Probenmaterials. Sie sollte jedoch so kurz wie möglich gehalten werden. Für eine Langzeitlagerung sollten die Proben bei -20°C oder weniger gelagert werden. Wiederholten Einfrieren und Auftauen der Proben wird nicht empfohlen und kann zu falschen Ergebnissen führen.

Hinweis:

Wenn sich der Patient bei der Verdünnung der Stuhlprobe in das Probenahmeröhrchen unsicher fühlt, kann er auch eine unbehandelte Stuhlprobe in der Arztpraxis abgeben. Der Transfer der Probe in den Puffer des Röhrchens kann dann wie oben beschrieben vom Personal der Arztpraxis oder des Labors durchgeführt werden.

Wässrige oder durchfallartige Proben sind für die Testung nicht geeignet.

Stuhlproben sollten in Behältern gesammelt werden, die keine Medien, Konservierungsmittel, tierischen Seren oder Detergenzien enthalten, da diese Zusatzstoffe den Test beeinträchtigen können.

DURCHFÜHRUNG DES TESTS

- 1) Die versiegelte Testkassette und die Patientenprobe sind vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur zu bringen (15-30°C). Bitte keine gekühlten Tests öffnen, um eine Kondensation von Luftfeuchtigkeit auf der Testmembran zu vermeiden.
- 2) Öffnen Sie die Verpackung, wenn Sie alles vorbereitet haben, um den Test durchzuführen. Kennzeichnen Sie den Test für Identifikationszwecke mit einer Patienten- oder Kontrollnummer.
- 3) Schütteln Sie das Probensammelröhrchen gründlich, um eine einwandfreie Durchmischung der Stuhlprobe mit der Extraktionslösung sicherzustellen.
- 4) Brechen Sie die Spitze des Probensammelröhrchens mit Hilfe eines saugfähigen Papiers durch eine Drehbewegung ab. Geben Sie 3 Tropfen der Lösung (ca. 120 µl) in die Probenöffnung der Testkassette. Starten Sie die Zeitmessung.
- 5) Lesen Sie das Ergebnis nach 10 Minuten ab. Stark positive Ergebnisse können auch früher abgelesen werden. Der Test sollte nicht später als 15 Minuten nach Probenzugabe abgelesen werden.

TESTAUSWERTUNG

Qualitätssicherung/ Interne Kontrolle

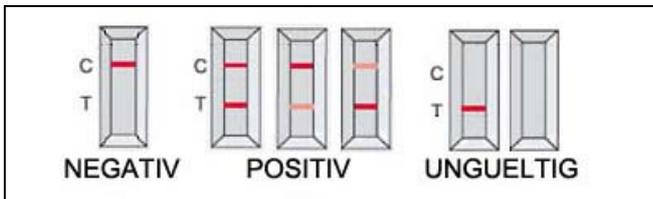
Der Test beinhaltet eine Verfahrenskontrolle. Eine farbige Linie, die in der Kontrollregion (C) erscheint zeigt an, dass der Test richtig durchgeführt wurde.

Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt die tägliche Verwendung von Kontrollmaterial, um die Verlässlichkeit des Tests zu überprüfen. Kontrollmaterial ist in diesem Testkit nicht inkludiert, kann aber bei anderen erworben werden.

Achtung: Beim Testen von Kontrollmaterial in Puffer entfärbt sich der Hintergrund des Tests in der Regel innerhalb von 5 Minuten. Wenn aber Stuhlproben getestet werden, wird der Hintergrund leicht gelblich, aufgrund der Eigenfärbung der Stuhlprobe. Das ist akzeptabel, solange es das Ablesen des Testergebnisses nicht beeinträchtigt. Der Test ist ungültig, wenn der Hintergrund nicht klar wird und die Testlinien verdeckt.

ERGEBNISINTERPRETATION

Für die Interpretation des Testergebnisses werden die im Reaktionsfeld entstandenen Linien/Linie visuell ausgewertet.



Positives Testergebnis

Zusätzlich zur rot gefärbten Linie in der Kontrollregion (C) erscheint eine rot gefärbte Linie in der Testregion (T). Hierbei können die Linien unterschiedlich stark gefärbt sein. Dieses Ergebnis zeigt, dass *H.pylori* Antigen in der Probe vorhanden ist.

Negatives Testergebnis

Eine rot gefärbte Linie erscheint in der Kontrollregion (C). In der Testregion (T) ist keine rot gefärbte Linie sichtbar. Dieses Ergebnis zeigt, dass kein *H.pylori* Antigen in der Probe nachgewiesen wurde.

Ungültiges Testergebnis

Erscheint in der Kontrollregion keine Linie ist das Testergebnis nicht schlüssig und muss als ungültig bewertet werden. Dies könnte ein Hinweis auf einen Fehler in der Testdurchführung sein oder dass Testmaterialien nicht mehr in Ordnung sind. Wiederholen sie die Untersuchung mit einem neuen Test. Folgen Sie dabei genau den Anweisungen. Falls das Problem bestehen bleibt, kontaktieren Sie bitte den Hersteller.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Der Test ist gedacht für den qualitativen Nachweis von *H.pylori* Antigen in Stuhlproben und gibt keinen Hinweis auf die Menge des Antigens. Eine Quantifizierung der Probe ist mit diesem Test nicht möglich.
- Wie mit allen diagnostischen Tests sollte eine definitive klinische Diagnose nicht nur auf einem einzelnen Testergebnis basieren, sondern durch einen Arzt vorgenommen werden, nachdem alle klinischen und Laborbefunde ausgewertet wurden.
- Antibiotika, Protonenpumpen-Inhibitoren und Wismuthpräparate wirken inhibierend auf *H.pylori*. Negative Testergebnisse, die während oder kurz nach einer Therapie erhoben werden, können falsch negativ sein. In diesen Fällen ist es sinnvoll, zwei Wochen nach Beendigung der Therapie einen weiteren Test zur Bestätigung durchzuführen.

ERWARTETE WERTE

Mehr als die Hälfte aller Menschen weltweit werden durch *Helicobacter pylori* infiziert⁵. Die Häufigkeit der Infektionen variiert von Land zu Land und auch innerhalb verschiedener Gruppen eines Landes⁶. Die Verbreitungsrate zB in den USA deutet auf eine Infektionsquote von 2% hin. Die Verbreitung von Magengeschwüren liegt bei Männern bei 12% und bei Frauen bei 7%⁷. Studien haben gezeigt, dass mehr als 90% aller Patienten mit Zwölffingerdarmgeschwüren und 80% aller Patienten mit Magengeschwüren mit *H.pylori* infiziert sind^{8, 9}. Die DIAQUICK *H.pylori* Stuhl Cassette weist *H.pylori* Antigen in Stuhlproben nach. Erwartete Werte einer Population sollten für jedes

Labor separate ermittelt werden. Die Positivrate eines Labors kann abhängig von geographischer Lage, ethnische Gruppe oder Lebensumständen variieren.

LEISTUNGSMERKMALE

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität der DIAQUICK *H.pylori* Stuhl Cassette beträgt 36 CFU/mL oder 5 ng/mL *H.pylori* Antigen.

Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die DIAQUICK *H.pylori* Stuhl Cassette wurde an 170 Erwachsenen evaluiert. Die Testergebnisse wurden mit Referenztests zur Diagnose von *H.pylori* Infektionen, Urea-Atemtest und histologischer Befund, verglichen. Patienten wurden als positiv betrachtet, wenn sowohl der Ureasetest also auch der histologische Befund positive waren. Patienten mit negativen Ergebnissen in diesen beiden Tests wurden als negativ betrachtet. Bei 50 Positivproben und 120 Negativproben zeigte die DIAQUICK *H.pylori* Stuhl Cassette eine klinische Sensitivität von 94,0% und eine Spezifität von 96,7%. Die Genauigkeit beträgt 95,9%.

DIAQUICK <i>H.pylori</i> Stuhl Cassette	Referenztest	
	Positiv	Negativ
Positiv	47	4
Negativ	3	116

Sensitivität = 94,0% (47/50)

Spezifität = 96,7% (116/120)

Positiver Vorhersagewert = 92,2% (47/51)

Negativer Vorhersagewert = 97,5% (116/119)

Genauigkeit = 95,9% (163/170)

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit der DIAQUICK *H.pylori* Stuhl Cassette wurde mit negativen, schwach und stark positive Proben unter Verwendung von Negativ- und Positivkontrollen bestimmt. Diese Proben wurden in einer Blindstudie in 8 Wiederholungen von 5 Anwendern im selben Labor unabhängig voneinander getestet. Die Übereinstimmung der erwarteten Ergebnisse war 100%.

Testspezifität

Die folgenden Bakterien- und Virenstämme wurden verwendet, um die Spezifität der DIAQUICK *H.pylori* Stuhl Cassette zu bestimmen. Positive und negative Stuhlproben wurden mit $>1 \times 10^8$ Organismen/ml versetzt und mit der DIAQUICK *H.pylori* Stuhl Cassette überprüft. *H.pylori* positive Stuhlproben blieben auch mit den zugesetzten Organismen positiv. *H.pylori* negative Stuhlproben blieben mit den zugesetzten Organismen negativ.

Getestete Mikroorganismen und Viren:

<i>Adenovirus type II</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter fetus</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Campylobacter lari</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Helicobacter cinaedi</i>
<i>Helicobacter mustelae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Providencia stuartii</i>	<i>Nocardia asteroidis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Pseudom. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Rotavirus
Salmonella (Group B)	<i>Salmonella Dublin</i>	<i>Salm. Hilversum (Group N)</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella Minnesota</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus (Cowan)</i>
<i>Staphylococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus galactiae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i>		

LITERATUR

1. Graham, David Y. (Editor), (2007) Journal compilation © 2007 Blackwell Publishing Ltd., *Helicobacter* 12 (Suppl.1): 1-56.
2. Kist, M.; Glocker, E.; Suerbaum S. (2005): Pathogenese, Diagnostik und Therapie der *Helicobacter pylori*-Infektion, Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2005, 48: 669-678, Springer Verlag 2005.
3. Meurer, Linda N.; Meurer, M.D., M.P.H., Bower, Douglas J., M.D. (2002): Management of *Helicobacter pylori* infection, *American Family Physician* Vol.65, No.7, 1. April 2002.
4. Weiss, Judith; Mecca, James; da Silva, Elvira; Gassner, Dieter (1994): Comparison of PCR and other Diagnostic Techniques for Detection of *Helicobacter Pylori* Infection in Dyspeptic Patients, *Journal of Clinical Microbiology* Vol.32, No.7, p.1663-1668, (1994).
5. Marshall BJ. *JAMA*. 1995;274:1064-1066
6. Breuer T, Malaty HM, Graham DY. The epidemiology of *H.pylori*-associated gastroduodenal diseases. In: Ernst PB, Michetti P, Smith PD, eds. *The Immunobiology of H.pylori: From Pathogenesis to Prevention*. Philadelphia. Lippincott-Raven, 1997:1-14.
7. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans, Jr. DJ, Klein PD, and Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in a asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology*, 1991;100:1495-1501.
8. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Low point prevalence of peptic ulcer in normal individual with *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol*. 1996;91:1112-1115.
9. Tytgat GNJ, Noach LA, Rauws EAJ. *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 1993;22:27-139.

