

Willi Fox

***Helicobacter pylori* AG**

Stuhltest

Testanleitung (IFU)

Schnelltest zum Nachweis von *H.pylori* Antigenen im Stuhl

1. Anwendungsbereich

Der **Willi Fox**– *Helicobacter pylori* Stuhltest ist ein visueller Immunoassay für den qualitativen Nachweis von *H.pylori* Antigenen in Stuhlproben.

Helicobacter pylori (früher auch bekannt als *Campylobacter pylori*) ist ein spiralg gekrümmtes Bakterium mit typischen Geißeln. Es ist gramnegativ und führt zu Entzündungen der Magenschleimhaut. Es verursacht verschiedene Magenkrankheiten, wie zum Beispiel Dyspepsie, Geschwüre im Magen und Zwölffingerdarm, oder Gastritis. *H.pylori* kann das Risiko der Bildung von Magenadenokarzinomen 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 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 dem 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 teure und zeitaufwändige Endoskopie der Magenschleimhaut mit einer histologischen Untersuchung, bakteriellem Nachweis und Ureasetest, um zu einer korrekten Diagnose zu kommen.

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

Der **Willi Fox**– *Helicobacter pylori* Stuhltest ist ein immunologischer Schnelltest, mit dem über eine spezifische Antikörperreaktion *H.pylori* Antigen in Stuhlproben nachgewiesen werden kann.

2. Testprinzips

Der **Willi Fox**– *Helicobacter pylori* Stuhltest ist ein nicht-invasiver Membrantest. Er ist präzise, leicht zu handhaben und innerhalb weniger Minuten durchführbar.

Dieser Test basiert auf zwei spezifischen monoklonalen Antikörpern gegen *H.pylori*. Einer der Antikörper ist linienförmig auf der Membran adsorbiert. Der zweite Antikörper ist zur Farbmarkierung mit Goldpartikeln konjugiert. Wenn *H.pylori* Antigen 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* Antigen ausgebildet. Sie zeigt an, dass die Testdurchführung und die Benetzung der Membran korrekt abgelaufen sind und muss in jedem gültigen Test nach Proben-auftrag sichtbar werden.

3. Inhalt der Testpackung

- Testkassetten, einzeln in Folienbeutel Jeweils mit einem Trockenmittel – *Das Trockenmittel ist kein Testbestandteil, bitte in den Abfall geben!*
- Probensammelröhrchen mit Puffer
- Stuhlfänger
- Testanleitung Gebrauchsanweisung

4. Zusätzlich benötigtes Material (nicht mitgeliefert)

- Saugfähiges Papier, um Verspritzen der Lösungen zu vermeiden
- Einweghandschuhe
- (Stopp)uhr

5. Lagerung und Haltbarkeit

- Die **Willi Fox** – *H. pylori* Stuhltests können im verschlossenen Beutel bei Raumtemperatur (2-30 °C) bis zum angegebenen Verfallsdatum aufbewahrt werden.
- Nicht einfrieren!
- Bitte achten Sie sorgsam darauf, dass Sie beim Verwenden die einzelnen Testkomponenten nicht kontaminieren. Die biologische Kontaminierung von den einzelnen Komponenten wie Kapillarpipetten oder Reagenzien kann zu falschen Ergebnissen führen!

6. Wichtige Hinweise

- *Nur zur Anwendung als in vitro Diagnostikum durch Fachpersonal.*
- *Test nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr verwenden.*
- *Test nicht verwenden, wenn Folienverpackung beschädigt ist.*
- *Nur zum Einmalgebrauch.*
- *Lesen Sie vor Ausführung des Tests die Testanleitung genau durch.*
- *Die Tests enthalten tierische Produkte. Auch wenn die Tiere und Ihr Gesundheitszustand zertifiziert werden, kann nie das Vorhandensein eines übertragbaren Erregers völlig ausgeschlossen werden. Deshalb empfehlen wir das Produkt als potentiell infektiös zu behandeln. Standardrichtlinien zum Umgang mit infektiösen Material und chemischen Reagenzien sind bei allen Handhabungen zu beachten.*
- *Alle kontaminierten Abfälle wie Testkassetten und Extrakte sind ordnungsgemäss zu entsorgen.*
- *Der Puffer enthält Natriumazid, das mit Blei oder Kupfer eventuell explosive Metallazide bilden kann. Spülen Sie bei der Entsorgung von Puffer über den Abfluss immer mit reichlich Wasser nach, um eine Azidbildung zu verhindern.*
- *Besteht der Verdacht, eine Probe könnte falsch gekennzeichnet, kontaminiert oder verdorben sein, sollte eine neue Probe genommen werden.*
- *Test umgehend (innerhalb höchstens einer Stunde) nach Öffnung der Folienverpackung verwenden.*
- *Bitte beachten Sie die angegebenen Auswertungszeiten.*
- *Luftfeuchtigkeit und die Umgebungstemperatur kann das Testergebnis beeinflussen.*
- *Patienten sollten genau der Anleitung zum Probensammeln folgen.*

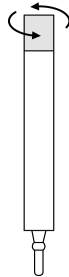
7. Probegewinnung und Vorbehandlung

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

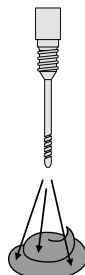
- Sammeln Sie eine zufällige Stuhlprobe mit Hilfe des mitgelieferten Stuhlfängers.



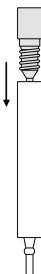
- Schrauben Sie das Probensammelröhrchen auf und nehmen Sie den Applikator heraus. Achten Sie darauf, dass Sie keine Flüssigkeit aus dem Röhrchen verschütten oder verspritzen.



- Stechen Sie den Applikator an mindestens 3 verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe.



- Stecken Sie den Applikator zurück in das Röhrchen, schrauben Sie die Kappe fest zu und schütteln Sie kurz. Achten Sie darauf, die Spitze des Probensammelröhrchens nicht abzubrechen.



- 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 bis zu 2 Tage gelagert werden. Die Probe sollte hierfür in einem luftdichten Behältnis (z.B. Plastikbeutel) aufbewahrt werden. Die Lagertemperatur sollte zwischen 2°C bis 8°C (Kühlschrank) liegen. Eine kurze Erwärmung, wie sie zum Beispiel während des Transports vorkommen kann, führt in der Regel zu keiner Beeinträchtigung des Probenmaterials. Sie sollte jedoch so kurz wie möglich gehalten werden.

8. Testdurchführung und Auswertung

Alle Tests, Proben, Puffer und/ oder Kontrollflüssigkeiten müssen vor Durchführung des Tests auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gebracht werden.

Bitte keine gekühlten Tests öffnen, um eine Kondensation von Luftfeuchtigkeit auf der Testmembran zu vermeiden.

1. Beschriften Sie die Testkassette

Nehmen Sie die Testkassette aus dem Folienbeutel, versehen Sie sie mit der Kennzeichnung für den Patienten (oder der Kontrolle) und dem Datum und legen Sie sie auf eine waagerechte, saubere Unterlage.

Um beste Ergebnisse zu erzielen, sollten Sie den Test innerhalb einer Stunde nach dem Öffnen durchführen.

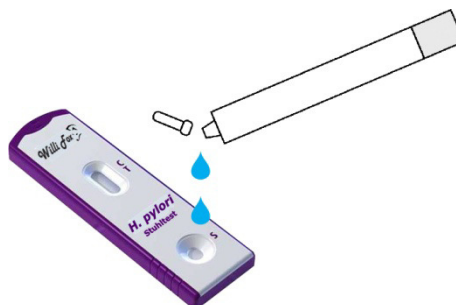
2. Schütteln Sie das Probensammelröhrchen gründlich

Dadurch wird eine einwandfreie Durchmischung der Stuhlprobe mit der Extraktionslösung sicher gestellt.



3. Schrauben Sie das Probensammelröhrchen an dem anderen Ende (weisse Kappe) auf

Brechen Sie die Spitze des Probensammelröhrchens mit Hilfe eines saugfähigen Papiers durch eine Drehbewegung ab. Geben Sie **2 Tropfen** der Lösung (ca. 80 µl) in die Probenöffnung der Testkassette. Starten Sie die Zeitmessung.



4. Lesen Sie das Ergebnis nach 10 Minuten ab

Stark positive Ergebnisse können auch früher abgelesen werden.

Warten Sie nicht länger als 20 Minuten mit dem Ablesen!

Warten Sie nicht länger als 20 Minuten mit dem Ablesen des Ergebnisses!

Auswertung



Positives Testergebnis:

Zwei rote Linien erscheinen im Sichtfenster:

Eine Testlinie (T), welche das Testergebnis anzeigt und eine Kontrolllinie (C), die den korrekten Ablauf des Tests bestätigt.

Achtung: Die Farbintensität der Testlinie (T) ist proportional zur Konzentration der *H. pylori* Antigenen in der Probe. Die Testlinie kann daher auch eine schwächere Färbung als die Kontrolllinie aufweisen und deshalb zwischen rosa und rot variieren. D.h. jede Verfärbung innerhalb der Auswertungszeit muss als positiv interpretiert werden.



Negatives Testergebnis:

Eine rote Linie erscheint in der Kontrollregion (C):

Das **Fehlen einer roten Linie** in der Testregion (T) bedeutet ein negatives Ergebnis.



Ungültiges Testergebnis:

Keine rote Linie erscheint in der Kontrollregion (C). Der Test ist **ungültig** und sollte wiederholt werden.

Die häufigsten Gründe für ein ungültiges Testergebnis sind zu geringes Probevolumen, unkorrekte Durchführung des Tests oder Ablauf der Haltbarkeit des Tests.

Bei wiederholtem Nichterscheinen der Kontrolllinie sollte das Testkit nicht weiter benutzt werden. Kontaktieren Sie bitte den Hersteller **Willi Fox**.

9. Qualitätskontrolle

Interne Kontrolle des Testvorgangs: Die im Test integrierte Kontrolllinie (C) zeigt an, dass der Test korrekt durchgeführt wurde, genügend Probeflüssigkeit vorhanden war und der Testvorgang wie vorgesehen abgelaufen ist.

Externe Kontrolle des Tests: Externe Kontrollen werden nicht mitgeliefert. Nach den Richtlinien für gute Laborpraxis (GLP) wird empfohlen, Positiv- und Negativkontrollen durchzuführen, um eine korrekte Testqualität sicherzustellen.

10. Einsatzbereich und Grenzen

- Der **Willi Fox – *H. pylori*** Tests ist für den professionellen in vitro Gebrauch bestimmt und sollte nur zum qualitativen Nachweis von *H. pylori* Antigenen verwendet werden. Aus der Intensität der Farblinie sollte keine Interpretation abgeleitet werden.
- Der Test sollte bei symptomatischen Patienten mit gastrointestinalen Krankheiten angewandt werden. Die Diagnose von Gastritis, beziehungsweise von Magengeschwüren muss immer in Zusammenhang mit anderen diagnostischen Verfahren gestellt und niemals auf einen positiven *H. pylori* Testergebnis alleine gestützt werden.
- Antibiotika, Protonenpumpen-Inhibitoren und Wismuthpräparate wirken inhibierend auf *H.pylori*. Negative Testergebnisse, die während oder kurz nach einer Therapie erhoben werden, können fälschlicherweise negativ sein. In diesen Fällen ist es sinnvoll, zwei Wochen nach Beendigung der Therapie einen weiteren Test zur Bestätigung durchzuführen.
- Wenn das Testergebnis negativ ist, aber die klinischen Symptome weiterbestehen, werden zusätzliche Tests mit anderen diagnostischen Methoden empfohlen. Ein negatives Testergebnis schließt eine Infektion mit *H. pylori* nicht aus, da während oder nach einer Infektion die Konzentration von Antikörpern gegen *Helicobacter pylori* unter der Nachweisgrenze des Tests liegen kann.

11. Weitere Informationen

Epidemiologische Untersuchungen zeigen, dass Infektionen mit *H.pylori* weltweit verbreitet sind. Der genaue Infektionsweg ist zur Zeit unbekannt. Studien zeigen, dass die Inzidenz der Infektion mit jedem Lebensjahr um ca. 1% bis 2% ansteigt. Positivraten von 50% bei 60jährigen oder älteren Personen sind nicht ungewöhnlich. Ein hoher Anteil der mit *H.pylori* kolonisierten Personen entwickelt keine klinische Symptomatik.

12. Testeigenschaften

A. Analytische Sensivität und Spezifität

Die Sensitivität des Assays liegt bei 50-70 ng/ml H.pylori Protein.

In einer klinischen Studie wurde der *Willi Fox – H. pylori* Stuhltest mit einer Endoskop-basierten Methode verglichen. Dabei wurden Stuhlproben von symptomatischen und asymptomatischen Probanden getestet. Dabei ergaben sich die folgenden Leistungsmerkmale:

Methode	Ergebnis	Endoskop basiert		Total Ergebnisse
		Positiv	Negativ	
<i>Willi Fox – H. pylori Antigen</i> Stuhltest	Positiv	78	2	80
	Negativ	0	101	101
	Total Ergebnisse:	78	103	181

- **Diagnostische Sensitivität:** >99,9 %
- **Diagnostische Spezifität:** 98,1 %
- **Totale Übereinstimmung:** 98,9 %

B. Hook Effekt

Bis zu einer Konzentration von 2,5 mg/ml wurde kein High Dose Hook (Prozonen-) Effekt beobachtet.

C. Kreuzreaktivität









Die Kreuzreaktivität von folgenden Organismen wurde bei einer Konzentration von 1.0E9 Organismen/ml mit dem *Willi Fox – H. pylori* Stuhltest getestet und führten dabei zu einem negativen Ergebnis:

Acinetobacter spp	Acinetobacter calcoaceticus	Branhamella catarrhalis
Candida albicans	Chlamydia trachomatis	E.coli
Enterococcus faecalis	Enterococcus faecium	Gardnerella vaginalis
Group A Streptococcus	Group B Streptococcus	Group C Streptococcus
Hemophilus influenza	Klebsiella pneumonia	Neisseria gonorrhoea
Neisseria meningitidis	Proteus mirabilis	Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa	Rotavirus	Salmonella choleraesuis

13. 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. Simon JB. Occult Blood Screening for Colorectal Carcinoma: A Critical Review, Gastroenterology, 1985; 88: 820.
6. Blebea J, Mcpherson RA. False-Positive Guaiac Testing With Iodine, Arch Pathol

14. Symbolerläuterungen

	Produktnummer		nur zum Einmalgebrauch
	Chargennummer		Verfalldatum
	Lagertemperatur		Inhalt
	nur für in vitro-diagnostische Zwecke		Gebrauchsanweisung



Alle *Willi Fox – H. pylori* Stuhltests werden in der Schweiz hergestellt und vertrieben durch:

Willi Fox GmbH
CH - 4001 Basel
Tel. +41 (0)61 534 74 65
Fax +41 (0)61 535 14 80
willifox@willifox.com

www.willifox.com