



SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

PREMIER® H. PYLORI

EIA for the Detection and Verification of IgG Antibody to *Helicobacter pylori* in Human Serum and Plasma

REF 606096

IVD In vitro diagnostic medical device

INTENDED USE

Premier *H. pylori* is an enzyme immunoassay (EIA) for the *in vitro* qualitative detection of IgG antibodies to *Helicobacter pylori* in human serum and plasma. Test results are intended to aid in the diagnosis of *H. pylori* infection.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The importance of *Helicobacter pylori* in gastro-intestinal diseases has increased greatly since Marshall and Warren described the presence of campylobacter-like organisms in the antral mucosa of patients with histological evidence of antrum gastritis and peptic ulcers especially duodenal ulcers.^{3,15} Though a causative relationship has not yet been fully established, the strong correlation between the presence of *H. pylori* and histologically confirmed gastritis, peptic ulcer disease and gastric carcinoma can no longer be debated.^{3,11,20}

The ecological niche in humans appears to be restricted to the stomach and duodenum. Patients who harbor the organism are divided into two basic groups. The first are those who are said to be "colonized". These patients have the organism, yet have no signs of gastrointestinal disease. Those with symptoms and *H. pylori* are considered to be infected. The process by which a colonized individual becomes infected remains unclear. The process by which patients become colonized is also still under investigation.^{3,7,11,13,14}

The diagnostic strategies for the determination of *H. pylori* have been developed along two lines: 1) direct detection of the organism, and 2) detection of antibodies made against *H. pylori*.^{8,9,22}

Direct detection by invasive methods requires that a biopsy be taken from the upper gastrointestinal tract. The presence of *H. pylori* is then confirmed by direct microscopic examination, rapid urease testing or culturing of the organism from the biopsy material. This strategy has the advantage of being able to detect active infections while being highly specific with a very high positive predictive value. The difficulties associated with this approach are risk and discomfort to the patient. In addition, *H. pylori* tends to colonize in patches and may be missed totally by the biopsy. Culturing of *H. pylori* from biopsy material tends to be difficult and time consuming. These technical difficulties may lead to false negative results.^{1,2,3,19}

The urea breath test (using ¹⁴C or ¹³C -urea) is a noninvasive method that detects *H. pylori* by exploiting its highly active urease.^{3,9,10} Though highly sensitive and specific, the test has limitations. It is expensive, time consuming, and requires ingestion of isotopically labeled urea as well as specialized instrumentation for the detection of ¹⁴C or ¹³C. The most common noninvasive approach to the detection of *H. pylori* is the serological identification of specific antibodies in infected patients. Though an indirect approach, the correlation between histological gastritis, the presence of *H. pylori* and seropositivity is strong. The disadvantages of these tests are that many have a lower specificity due to cross reactions from other organisms, or antibody may be present as a "serological" scar after eradication of the organism. Their major advantage is that they are rapid and offer a high sensitivity.^{5,18,21}

Premier *H. pylori* is a microwell-based enzyme immunoassay that detects IgG antibody by using a sonicated bacterial cell lysate as the capture antigen. No calculations are required and the visual color change makes the interpretation of results objective and simple.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

Premier *H. pylori* utilizes a sonicated *H. pylori* bacterial cell lysate adsorbed to plastic microwells. Diluted patient serum is incubated in the wells at 19-27 C. After washing, a peroxidase conjugated monoclonal antibody to human IgG is added and the plate reincubated. The unbound conjugate is washed away and Premier Substrate II added. Color develops in the presence of bound enzyme. Premier Stop Solution II is added and the results are interpreted visually or spectrophotometrically.

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of test obtained from this test kit is listed on the outer box.

1. **Antigen Coated Microwells** - Breakaway plastic wells coated with *H. pylori* antigen.
2. **Positive Control** - Human serum containing IgG antibodies to *H. pylori* in a buffer (pH 7.3) with 0.09% sodium azide.
3. **Negative Control** - Nonreactive human serum in a buffer (pH 7.3) with 0.09% sodium azide.
4. **Sample Diluent** - Protein solution with a preservative (0.1% sodium azide).
5. **Premier 20X Wash Buffer I** - Concentrated wash buffer with a preservative (0.2% thimerosal).
6. **Enzyme Conjugate** - Monoclonal anti-human IgG labeled with peroxidase in a buffer with preservative (0.02% thimerosal).
7. **Premier Substrate II** - Buffered solution containing urea peroxidase.
8. **Premier Stop Solution II** - 2N Sulfuric Acid. **CAUTION:** Avoid skin contact. Flush with water if contact occurs.
9. **Microwell strip holder**
10. **Microwell strip sealer**

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Test tubes (12 x 75 mm)
2. Distilled or deionized water
3. Precision pipettes to deliver 10, 100, and 500 µL
4. Squirt bottle or automatic EIA plate washer
5. Timer
6. Graduated cylinder
7. **OPTIONAL:** EIA plate reader capable of reading absorbance of 450 nm or 450/630 nm

PRECAUTIONS

1. All reagents are for *in vitro* diagnostic use only.
2. Patient specimens may contain infectious agents and should be handled and disposed of as potential biohazards. Wear disposable gloves while handling specimens and performing the test procedure.
3. **CAUTION:** Source material from which the controls were derived was negative for **HBsAg/anti-HCV and HIV** nonreactive. However, no test method can offer complete assurance that human blood will not transmit **HIV**, hepatitis or other potentially infectious agents. These reagents should be handled at Biosafety Level 2 as recommended in the CDC/NIH manual Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories, 2007.
4. All reagents should be mixed gently before use.
5. Reproducible results depend on careful pipetting, correct incubation periods, and temperature, as well as washing the test strips and thorough mixing of all prepared solutions.
6. All reagents except the Premier 20X Wash Buffer I and Controls are provided already diluted to the proper concentration.
7. Do not scratch coated well during washing and aspiration. Wash and fill all microwells without interruption. While washing, check that microwells are filled evenly with washing solution, and that there are no residues in the microwells. Don't allow wells to dry out. **Inadequate washing may cause elevated background.**
8. Instructions for using appropriate photometers are to be observed; check adjustment of proper wave length (450 nm) and reference wave length (630 nm) respectively.
9. If comparisons with other methods are required, always perform both tests simultaneously.
10. Premier Stop Solution II should be handled carefully because it can cause burns or irritation to the skin.
11. All reagents must be stored at 2-8 C and warmed to 19-27 C prior to running the assay.

12. Replace colored caps on correct vials.
13. Use only plastic disposable tips to pipet reagents.
14. Store the unused microwell strips in the original pouch at 2-8 C. It is important to protect strips from moisture.
15. Do not mix reagents from other kit lots, or use kit components beyond labeled expiration date.
16. Use separate pipette tips for each sample, control and reagent. Cross contamination of samples could cause false results.
17. Do not reuse microwells.
18. Dispose of all used test materials in appropriate container. Treat as potential biohazard.
19. Hold reagent vials vertically to insure proper drop size and delivery.

HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS

Refer to the SDS, available at www.meridianbioscience.com for Hazards and Precautionary Statements.

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date is indicated on the kit label. The test kit should be stored at 2-8 C and returned to the refrigerator after each use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

1. Serum or plasma can be used in this assay. Sodium citrate and EDTA are acceptable anticoagulants. The performance of Premier *H. pylori* from plasma obtained using other anticoagulants is unknown. Specimens must be collected using established laboratory procedures.
2. Serum and plasma can be stored in the refrigerator at 2-8 C for up to five days. If testing is to be performed at a later date, the specimen should be frozen. Avoid repeated freezing and thawing. A cloudy serum/plasma specimen or one containing particulate matter, may be centrifuged prior to testing.

REAGENT PREPARATION

1. Bring entire kit, including microwell pouch, to 19-27 C before use.
2. Prepare 1X Wash Buffer as needed. For example; 4.0 mL of Premier 20X Wash Buffer I + 76.0 mL of distilled or deionized water is sufficient to wash one strip. Place in a clean squirt bottle. The 1X Wash Buffer can be stored at room temperature for up to three months.
3. The Controls (Negative and Positive) must be diluted in Sample Diluent prior to use in assay.

TEST PROCEDURE

1. Use 1 microwell for each sample and control to be tested:
 - a. Negative Control microwell.
 - b. Positive Control microwell.
 - c. Patient serum microwells.
2. Record location of each microwell in the holder.
3. Prepare 1:50 dilution of each patient specimen, Positive Control and Negative Control in Sample Diluent. Prepare dilution by mixing 10 µL of specimen, Positive or Negative Control with 0.5 mL Sample Diluent.
4. Pipet 100 µL of each diluted Control (Negative and Positive) to the appropriate microwell. Pipet 100 µL of diluted patient specimen into corresponding microwells. (Load time should not exceed 5 minutes).
5. Incubate at 19-27 C for 20 minutes. Protect plate from drafts and dust which may cause evaporation and contamination.
6. Remove solution from each microwell by inverting the microwells and tapping on an absorbent pad, firmly compressing the holder to prevent wells from falling out. Fill each microwell with 1X Wash Buffer (approximately 350 µL). Invert the microwells and firmly tap on an absorbent pad. Repeat this procedure 2 times for a total of 3 washes.
7. Add 2 drops of Conjugate to all wells.
8. Incubate at 19-27 C for 20 minutes.
9. Wash the microwells 3 times with 350 µL 1X Wash Buffer per well as in Step #6.
10. Add 2 drops of Premier Substrate Solution II to all wells. Agitate plate gently to mix.
11. Incubate at 19-27 C for 10 minutes.
12. Add 2 drops of Premier Stop Solution II to each well. Agitate plate gently for 30 seconds to mix. **Note:** Initial color of positive reaction is blue, which changes to yellow upon addition of Premier Stop Solution II.
13. Observe Reactions:
 - a. Visual Determination - Read within 10 minutes after adding Premier Stop Solution II.
 - b. Spectrophotometric Determination - Zero EIA reader on air. Wipe underside of wells with a lint free tissue. Read absorbance at 450 nm or 450/630 nm within 10 minutes of adding Premier Stop Solution II.

INTERPRETATION OF RESULTS

1. **Visual Reading**
Negative = colorless
Positive = definite yellow color
2. **Spectrophotometric Single Wavelength (450 nm)**
Negative = OD₄₅₀ < 0.120
Positive = OD₄₅₀ ≥ 0.120
3. **Spectrophotometric Dual Wavelength (450/630 nm)**
Negative = OD_{450/630} < 0.070
Positive = OD_{450/630} ≥ 0.070

A positive test result indicates the presence of IgG antibody to *H. pylori*. A negative test result indicates the absence of IgG antibody to *H. pylori* or that the IgG level is below that which can be detected by this test.

Extremely strong positive reactions may yield a purple precipitate within a few minutes of stopping the reaction.

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

The Positive and Negative Controls must be used with each batch of specimens to provide quality assurance of the reagents.

The Negative Control should read < 0.120 at 450 nm and < 0.070 at 450/630 nm but greater than 0.00. If the Negative Control is < 0.00, re-blank the plate reader to air and re-read the plate. The Negative Control should be colorless when read visually. The Positive Control must read ≥ 0.400 at both 450 nm and 450/630 nm.

Any positive well without visible color should be repositioned, wiped on the underside of the well and reread.

At the time of each use, kit components should be visually examined for obvious signs of microbial contamination, freezing, or leakage.

Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. **If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.**

EXPECTED VALUES

Studies on the epidemiology of *H. pylori* have shown that this organism is present worldwide.^{12,16} Gastritis caused by *H. pylori* has been shown to correlate with age, ethnic background, family size and socioeconomic class.^{6,10} While the epidemiological studies on *H. pylori* infection or colonization are ever expanding, the route by which individuals acquire this organism is, at present, unknown.^{3,7,11,13,14}

Studies indicate that the incidence of infection in the United States may increase 1-2% annually.¹⁰ It is not uncommon to see positivity rates of 50% in those who are 60 years or older. The frequency of *H. pylori* infection in patients diagnosed with duodenal ulcers however, has been shown for patients in every age group to be approximately 80%.¹² The positivity rates seen with *H. pylori* clearly depend on the sample population and how that population is defined.

The Premier *H. pylori* test detects the presence of IgG antibodies to *H. pylori* in serum and plasma. Expected values for a given population should be determined for each laboratory. The rate of positivity may vary depending on geographic location, method of specimen collection, handling and transportation, test employed and general health environment of patient population under study.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- The test should be used only for individuals with symptoms suggestive of gastrointestinal disease. **Premier H. pylori** is not intended for use with asymptomatic patients.
- The test is qualitative and no quantitative interpretation should be made with respect to the values.
- Samples obtained too early during infection may not contain detectable antibodies. If *H. pylori* infection is suspected and a negative result is found, a second sample should be obtained 2 to 7 weeks later and tested in parallel with the first sample.
- A positive test result (i.e., presence of antibody to *H. pylori* in symptomatic individuals can only infer active infection and, whenever possible, should be confirmed by bacterial isolation or other diagnostic testing. The test cannot distinguish between active and inactive infection.
- Test results should be used in conjunction with information available from the patient clinical evaluation and other diagnostic procedures.
- Premier H. pylori** is a qualitative test that only indicates the presence of IgG antibody to *H. pylori*. This test does not indicate that gastrointestinal disease is present.
- A negative test result indicates the absence of IgG antibody to *H. pylori* or that the IgG level is below that which can be detected by this test.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The **Premier H. pylori** test was evaluated at three hospitals. A total of 462 serum specimens were obtained from patients with gastrointestinal complaints. All patients underwent endoscopy. The **Premier H. pylori** test was compared to results obtained from the biopsied material using rapid biopsy urease tests. Discrepant results were resolved by using stained tissue sections and/or clinical diagnosis.⁴

	Biopsy Urease Test		Resolved by Tissue and Diagnosis	
	Positive	Negative	Positive	Negative
Premier H. pylori Positive	166	102	259	9
Premier H. pylori Negative	3	191	3	191

n = 462

Relative Sensitivity = 98.2% (99.4-94.9)*(166/169) 98.8% (99.6-96.7) (259/262)
Relative Specificity = 65.2% (70.4-59.6) (191/293) 95.5% (97.6-91.7) (191/200)
Relative Agreement = 77.3% (80.8-73.2) (357/462) 97.4% (98.5-95.5) (450/462)
*95% confidence intervals calculated by the normal method are indicated in parenthesis.

Ninety-three biopsy urease test negative/**Premier H. pylori** positive specimens were positive by either tissue or clinical diagnosis. Nine biopsy urease test negative/**Premier H. pylori** positive specimens had no indication of *H. pylori* by either resolving method. The three biopsy urease positive/**Premier H. pylori** negative samples were not considered for resolution. **Premier H. pylori** was compared to the HM-CAP microwell based EIA also for the detection of IgG antibody to *H. pylori*. Discrepant data was resolved by the biopsy urease test and/or the determination for the presence of *H. pylori* by histological staining methods.

	Competitor EIA			Resolved by Biopsy Urease Test and/or Histology	
	Positive	Negative	Ind.	Positive	Negative
Premier H. pylori Positive	256	8	4	260	8
Premier H. pylori Negative	17	172	5	2	192

n=462

Relative Sensitivity = 93.8% (96.1-90.2)*(256/273) 99.2% (99.8-97.2) (260/262)
Relative Specificity = 95.5% (97.7-91.5) (172/180) 96.0% (98.0-92.3) (192/200)
Relative Agreement = 94.5% (96.2-92.0) (428/453) 97.8% (98.8-96.1) (452/462)

Fifteen EIA positive/**Premier H. pylori** negative and all five EIA indeterminate/**Premier H. pylori** negative were negative by both histology and biopsy urease tests. Two EIA positive/**Premier H. pylori** negative were either biopsy urease positive or histology positive. Three *H. pylori* positive/EIA negative were positive by the biopsy tests. One EIA indeterminate/**Premier H. pylori** positive was biopsy urease test positive. Five EIA negative/**Premier H. pylori** positive and three EIA indeterminate/**Premier H. pylori** positive were negative by both histology and biopsy urease tests.

REPRODUCIBILITY

Each of three individual serum specimens were tested independently 10 times during one day. This process was repeated for a total of three days. All assays were performed at a clinical trial site using a negative, borderline positive and a high positive serum sample. The statistical analysis is found in the following tables.⁴

Within Run Assay Variance			
SERUM TYPE	GRAND MEAN	SD	CV
Negative	0.013	0.003	23.1%
Borderline Positive	0.201	0.024	11.9%
High Positive	2.518	0.146	5.8%

Between Run Assay Variance			
SERUM TYPE	GRAND MEAN	SD	CV
Negative	0.013	0.002	23.1%
Borderline Positive	0.201	0.014	15.9%
High Positive	2.518	0.302	12.0%

Total Run Assay Variance			
SERUM TYPE	GRAND MEAN	SD	CV
Negative	0.013	0.004	31.0%
Borderline Positive	0.201	0.039	19.4%
High Positive	2.518	0.332	13.2%

ASSAY SPECIFICITY

A. Bacterial Studies

The specificity of **Premier H. pylori** was tested by performing adsorption studies with the following clinical isolates (CI) or ATCC strains. A seropositive or seronegative serum was reacted with 3×10^9 organisms and the adsorbed serum tested by **Premier H. pylori**. The seropositive serum remained positive after adsorption with every organism except the *H. pylori* strain. Additionally, all other organisms when reacted with a seronegative serum did not cause false positive reactions.⁴

Campylobacter coli CI
Campylobacter fetus CI
Campylobacter hyointestinalis ATCC 35217
Campylobacter jejuni ATCC 33292
Campylobacter lari CI
Candida albicans ATCC 10231
Citrobacter freundii ATCC 8090
Enterobacter aerogenes ATCC 13048
Enterobacter cloacae ATCC 13407
Escherichia coli ATCC 8739
Helicobacter cinaedi ATCC 35683

Klebsiella pneumoniae ATCC 13883
Proteus vulgaris ATCC 8427
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027
Pseudomonas fluorescence CI
Salmonella sp CI
Serratia liquefaciens ATCC 35551
Shigella flexneri CI
Shigella sonnei CI
Staphylococcus aureus (Cowan I) ATCC 12598
Streptococcus faecalis CI
Yersinia enterocolitica CI

B. Serum Studies

Sera from patients who were culture positive or had serologic evidence of the following diseases did not react when tested in **Premier H. pylori**.⁴

Anti-Nuclear Antibody (10)	Rotavirus (4)	Rheumatoid Factor (4)	Cytomegalovirus (3)
Lupus Erythematosus (3)	Rubella (5)	Influenza A (4)	Coccidioides (3)
Histoplasma (1)	Mononucleosis (16)	Herpes Simplex Virus (4)	Cryptococcus (1)

ITALIANO

PREMIER® H. PYLORI

Test immunoenzimatico per la ricerca di IgG anti-*Helicobacter pylori* nel siero e plasma umani

REF 606096

IVD Dispositivo medico-diagnostico in vitro

FINALITÀ D'USO

Premier H. pylori è un test immunoenzimatico (EIA) per la ricerca qualitativa di IgG anti-*Helicobacter pylori* nel siero e nel plasma. Il test è da utilizzarsi come supporto nella diagnosi di infezione da *H. pylori*.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

L'importanza del ruolo sostenuto da *Helicobacter pylori* nella patologia gastrointestinale è stata riconosciuta con sempre maggiore frequenza da quando Marshall e Warren hanno descritto la presenza di un microrganismo simile a *Campylobacter* a livello della mucosa antrale di pazienti con evidenza istologica di gastrite antrale e di ulcera peptica, soprattutto in caso di ulcera duodenale.^{3,15} Sebbene non ne sia stato ancora completamente dimostrato: il ruolo eziologico, la stretta correlazione tra la presenza di *H. pylori* e quadri istologicamente confermati di gastrite, ulcera peptica e carcinoma gastrico non viene più messa in discussione.^{3,11,20}

La nicchia ecologica nell'organismo umano sembra essere limitata allo stomaco ed al duodeno. I pazienti vengono divisi in due gruppi: quelli "colonizzati", cioè quelli che pur avendo il microrganismo non presentano sintomi di malattia, e quelli "infettati", cioè quelli che presentano la sintomatologia. Non si conosce ancora il meccanismo del passaggio di un paziente dallo stadio di colonizzato a quello di infettato.^{3,7,11,13,14}

I test diagnostici per la determinazione della presenza di *H. pylori* seguono due direzioni. La prima richiede la dimostrazione della presenza del microrganismo ed è tuttora una procedura invasiva. La seconda via implica la dimostrazione della presenza di anticorpi anti-*H. pylori* oppure dell'enzima ureasi prodotto dal microrganismo: entrambi questi test non sono invasivi.^{8,9,22}

Le procedure invasive richiedono il prelievo di due campioni biotici: la presenza di *H. pylori* viene quindi confermata mediante esame istologico oppure mediante esame culturale. In questo modo si possono diagnosticare le infezioni acute con un'elevata specificità ed un notevole valore predittivo positivo. Le difficoltà nascono dal fatto che il prelievo biotico viene eseguito in corso di endoscopia, che rappresenta un esame non piacevole per il paziente. Inoltre, *H. pylori* non colonizza l'intera mucosa, bensì alcune zone, pertanto il campione biotico potrebbe anche essere prelevato da zone non colonizzate. L'esame culturale per l'isolamento di *H. pylori* dal materiale biotico si presenta di difficile esecuzione e richiede tempi abbastanza lunghi: tali difficoltà tecniche possono portare a risultati falsi negativi.^{1,2,3,19}

Il test chiamato "urea breath" (che utilizza urea marcata con ¹⁴C o ¹³C, cioè isotopi radioattivi) è un metodo non invasivo che rileva la presenza di *H. pylori* attraverso l'attività dell'enzima ureasi prodotto da tale microrganismo.^{3,8,10} Sebbene assai sensibile e specifico, il test presenta alcune limitazioni derivanti dall'elevato costo, dalla lunghezza della metodica e dalla necessità di utilizzare sofisticate apparecchiature in grado di rilevare la presenza di ¹⁴C o ¹³C. L'approccio non invasivo più comunemente usato per la diagnosi dell'infezione causata da *H. pylori* è rappresentato dai test sierologici per la ricerca di anticorpi specifici nei pazienti infetti. Attraverso questo metodo indiretto è stato possibile dimostrare una stretta correlazione tra evidenza istologica di gastrite, presenza di *H. pylori* e positività sierologica. Lo svantaggio di queste tecniche è dato dal fatto che l'interpretazione dei risultati non è immediata e la maggior parte di essi non è molto specifica a causa di reazioni crociate con altri microrganismi. Il maggior vantaggio è rappresentato dalla rapidità e dall'alta sensibilità.^{5,16,21}

Il test **Premier H. pylori** è basato su una tecnica immunoenzimatica su pozzetto microtiter che consente la rilevazione della presenza di IgG mediante l'uso di un antigene ottenuto mediante sonicazione di una cultura batterica. Non è necessario alcun calcolo per l'interpretazione dei risultati e lo sviluppo di colore visivamente apprezzabile rende semplice ed oggettiva la lettura dei risultati.

PRINCIPI BIOLOGICI

Il test **Premier H. pylori** utilizza un metodo immunoenzimatico per la ricerca di anticorpi anti-*H. pylori*. I sieri in esame vengono diluiti e successivamente distribuiti nei pozzetti adsorbiti con l'antigene specifico di *H. pylori* ed incubati a temperatura ambiente (19-27°C). Dopo lavaggio, si aggiunge il coniugato monoclonale anti-IgG umane marcato con perossidasi. Dopo un ulteriore lavaggio per eliminare l'eccesso di coniugato, si aggiunge il substrato II (**Premier Substrato II**). In presenza di coniugato legato alle IgG presenti nel siero si avrà sviluppo di colore. A questo punto si aggiunge la soluzione di arresto II (**Premier Stop Solution II**) ed i risultati vengono letti visivamente oppure mediante spettrofotometro.

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

- Pozzetti microtiter adsorbiti con antigene di H. pylori** - Strisce di micropozzetti, frazionabili singolarmente, adsorbiti con antigene di *H. pylori*.
- Controllo Positivo** - Siero umano contenente IgG anti-*H. pylori*, diluito in soluzione tampone (pH 7,3) contenente sodio azide allo 0,09%.
- Controllo Negativo** - Siero umano normale, diluito in soluzione tampone (pH 7,3) contenente sodio azide allo 0,09%.
- Diluente per i campioni** - Soluzione proteica contenente conservante (0,1% sodio azide).
- Premier Soluzione di lavaggio I (20X)** - Soluzione tampone 20X volte concentrata, contenente conservante (0,2% thimerosal).
- Coniugato enzimatico** - Anticorpi monoclonali anti-IgG umane, marcati con perossidasi di rafano, in soluzione tampone contenente conservante (0,02% thimerosal).
- Premier Substrato II** - Soluzione tampone contenente perossido di urea e tetrametilbenzidina.
- Premier Soluzione di arresto II** - Acido solforico 2N. **ATTENZIONE:** evitare il contatto con la pelle. Risciacquare con acqua se si verifica contatto.
- Supporto per pozzetti microtiter**
- Fogli di pellicola adesiva per sigillare i pozzetti**

MATERIALI NON FORNITI

- Provette (12x75 mm) per preparare le diluizioni dei campioni
- Acqua distillata o deionizzata
- Pipettatrici in grado di erogare 10, 100 e 500 µL
- Spruzzetta per i lavaggi oppure apparecchio automatico per il lavaggio delle piastre EIA
- Timer
- Cilindro graduato per preparare la soluzione di lavaggio diluita (1X)
- OPZIONALE:** Lettore EIA per micropiastre dotato di filtri per la lettura a 450 nm oppure a 450/630 nm

PRECAUZIONI

- Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
- I campioni di oozioni ososono contenere aenti infettivi e devono pertanto essere maneggiati ed eliminati come materiali potenzialmente pericolosi. Indossare guanti monouso durante il trattamento dei campioni e l'esecuzione del test.
- ATTENZIONE:** I sieri utilizzati per la preparazione dei controlli sono risultati negativi ai test per la ricerca di **HBSAg**, nonché di anticorpi **anti-HCV** ed **anti-HIV**. Tuttavia nessun metodo attualmente in uso è in grado di escludere con assoluta sicurezza che campioni di sangue umano (o emoderivati) siano in grado di trasmettere il virus HIV, quello dell'epatite o altri agenti potenzialmente infettivi. Pertanto tutti questi reagenti devono essere maneggiati in base al Biosafety Level 2, come raccomandato dal Manuale CDC/NIH "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories".
- Tutti i reagenti dovrebbero essere delicatamente mescolati.
- La riproducibilità dei risultati dipende dall'accuratezza delle operazioni di pipettamento, dal rispetto dei tempi e della temperatura di incubazione, come pure dalla corretta esecuzione delle operazioni di lavaggio e mescolamento delle soluzioni preparate.
- Tutti i reagenti, ad eccezione della Premier Soluzione di lavaggio I (20X) volte concentrata e dei Controlli, vengono forniti già pronti all'uso.
- Evitare di graffiare la superficie dei pozzetti durante le operazioni di lavaggio. Lavare e riempire i pozzetti senza interruzioni e controllare sia che i pozzetti ricevano una dose uniforme di soluzione di lavaggio sia che non rimangano residui. Evitare che i pozzetti si asciugino durante le varie fasi del test. **Un lavaggio inadeguato può causare un elevato numero di interferenze aspecifiche.**
- Seguire scrupolosamente le istruzioni per l'utilizzo degli spettrofotometri; controllare accuratamente la calibrazione rispettivamente della lunghezza d'onda di lettura (450 nm) e di quella di riferimento (630 nm).
- In caso di studi comparativi con altri metodi, si raccomanda di eseguire i test contemporaneamente.
- Evitare il contatto della Premier Soluzione di arresto II (acido solforico 2N) con la pelle: risciacquare immediatamente con acqua se tale contatto dovesse verificarsi.
- Tutti i reagenti devono essere conservati a 2-8 C e portati a temperatura ambiente (19-27 C) prima dell'uso.
- Richiudere ciascun flaconcino con il tappo colorato corrispondente.
- Utilizzare unicamente puntali monouso per pipettare i reagenti.
- I micropozzetti non utilizzati devono essere riposti nella busta fornita che deve essere richiusa e conservata a 2-8 C. E' molto importante proteggere le strisce dall'umidità.**
- Non scambiare reagenti appartenenti a lotti differenti né utilizzare reagenti scaduti.
- Utilizzare un puntale per ogni campione, controllo o reagente. Eventuali contaminazioni crociate possono invalidare il risultato del test.
- Non riutilizzare i pozzetti.
- Eliminare tutti i materiali usati durante il test in appositi contenitori e trattarli come potenzialmente infettivi.
- Tenere i flaconcini in posizione verticale per assicurare l'erogazione dell'esatta quantità dei reagenti.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

Fare riferimento alla SDS, disponibile sul sito www.meridianbioscience.com (US version) / www.meridianbioscience.eu (EU version) per i rischi e i consigli di prudenza.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La data di scadenza è indicata sull'etichetta esterna. Conservare il kit a 2-8 C e rimetterlo in frigorifero immediatamente dopo l'utilizzo.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Si possono utilizzare campioni di siero o di plasma: in quest'ultimo caso il sangue deve essere prelevato usando citrato di sodio oppure EDTA come anticoagulante. Le prestazioni del kit **Premier H. pylori** con campioni di plasma prelevati utilizzando altri tipi di anticoagulante non sono state valutate. Prelevare il campione di sangue secondo le metodiche standard in uso.
- I sieri possono essere testati immediatamente, conservati in frigorifero a 2-8 C fino a cinque giorni oppure congelati. Non conservare i campioni in un congelatore a sbrinamento automatico. Evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento. Non utilizzare sieri lipemici, emolizzati o contaminati.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

- Lasciare che tutti i componenti del kit, busta dei micropozzetti inclusa, raggiungano temperatura ambiente (19-27 C) prima di iniziare il test.
- Preparare abbastanza soluzione di lavaggio 1X diluendo 1 parte di Premier Soluzione di lavaggio I (20X) in 19 parti di acqua distillata o deionizzata: ad esempio, 4,0 mL di soluzione 20X + 76 mL di acqua distillata o deionizzata sono sufficienti per lavare una striscia di pozzetti. Il tampone diluito può essere conservato a temperatura ambiente per un periodo massimo di tre mesi.
- I Controlli (Positivo e Negativo) devono essere diluiti con il Diluente per i campioni prima di essere utilizzati.

PROCEDURA DEL TEST

- Preparare un quantitativo di pozzetti sufficiente per i campioni e per due controlli.
 - Pozzetto del Controllo Negativo
 - Pozzetto del Controllo Positivo
 - Pozzetti con Siero dei Pazienti
- Registrare la posizione di ciascun pozzetto sul supporto, in modo da evitare confusioni.
- Preparare una diluizione 1:50 di ciascun campione e dei Controlli (Positivo e Negativo) utilizzando il Diluente per i campioni: mescolare 10 µL di siero o di Controllo con 0,5 mL di Diluente.
- Distribuire 100 µL di ciascun campione e Controllo diluito nei pozzetti corrispondenti (il tempo necessario all'esecuzione di questa operazione non deve superare i 5 minuti).
- Incubare a temperatura ambiente (19-27 C) per 20 minuti. Sigillare i pozzetti con i fogli adesivi, per proteggere le piastre dalle correnti d'aria e dalla polvere che possono causare evaporazione e contaminazioni.
- Eliminare i campioni da ciascun pozzetto mediante aspirazione oppure capovolgendo i pozzetti e scuotendoli su carta assorbente. Riempire i pozzetti con soluzione di lavaggio diluita 1X (circa 350 µL). Capovolgere i pozzetti e scuoterli su carta assorbente. Ripetere questa operazione di lavaggio 2 volte, per un totale di 3 lavaggi.
- Distribuire 2 gocce di Coniugato enzimatico in ciascun pozzetto.
- Incubare a temperatura ambiente (19-27 C) per 20 minuti.
- Lavare i pozzetti 3 volte con 350 µL di soluzione di lavaggio diluita 1X per pozzetto come descritto al punto 6.
- Distribuire 2 gocce di Premier Substrato II in ciascun pozzetto. Mescolare agitando delicatamente.
- Incubare a temperatura ambiente (19-27 C) per 10 minuti.
- Aggiungere 2 gocce di Premier Soluzione di arresto II a ciascun pozzetto. Mescolare agitando delicatamente e leggere il risultato dopo 30 secondi. **NOTA:** inizialmente si ha sviluppo di colore blu, che vira al giallo dopo l'aggiunta della Premier Soluzione di arresto II.
- Osservare la reazione:
 - Lettura visiva - Leggere il risultato entro 10 minuti dall'aggiunta della Premier Soluzione di arresto II.
 - Lettura spettrofotometrica - Azzerare il lettore EIA contro aria. Pulire il fondo esterno dei pozzetti con un tovagliolo di carta. Leggere l'assorbanza a 450 nm oppure a 450/630 nm entro 10 minuti dall'aggiunta della Premier Soluzione di arresto II.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

- Lettura visiva**
Negativo = Incolore
Positivo = Giallo ben definito
- Lettura spettrofotometrica a singola lunghezza d'onda (450 nm)**
Negativo = OD₄₅₀ < 0,120
Positivo = OD₄₅₀ ≥ 0,120
- Lettura spettrofotometrica a doppia lunghezza d'onda (450/630 nm)**
Negativo = OD_{450/630} < 0,070
Positivo = OD_{450/630} ≥ 0,070

Un risultato positivo indica la presenza di IgG anti-*H. pylori*. Un risultato negativo indica l'assenza di IgG anti-*H. pylori* oppure la presenza di anticorpi a livelli inferiori rispetto al limite di sensibilità del test.

Reazioni molto forti possono dare un precipitato color porpora entro pochi minuti dall'aggiunta della Premier Soluzione di arresto II.

CONTROLLO QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

Il Controllo Positivo e quello Negativo devono essere inclusi ogni volta che si esegue il test per controllare il corretto funzionamento dei reagenti.

Il valore di assorbanza del Controllo Negativo deve essere < 0,120 a 450 nm e < 0,070 a 450/630 nm, ma superiore a 0,00. Se il valore di assorbanza è < 0,00, riazzerare il lettore contro aria, pulire il fondo esterno dei pozzetti, controllare l'allineamento dei pozzetti nel supporto e quello del supporto stesso e ripetere la lettura. Il Controllo Negativo deve apparire incolore se letto visivamente. Il valore di assorbanza del Controllo Positivo deve essere ≥ 0,400 sia a 450 nm che a 450/630 nm.

Se i valori di assorbanza non corrispondono ad uno sviluppo di colore, riazzerare il lettore contro aria, pulire il fondo esterno dei pozzetti, controllare l'allineamento dei pozzetti nel supporto e quello del supporto stesso e ripetere la lettura.

Ogni volta che si usa il kit bisognerebbe esaminare ciascun flacone di reagenti per verificare che non presenti segni evidenti di contaminazione microbiologica, di congelamento o di perdite.

Per determinare la causa principale del malfunzionamento sarà necessario innanzitutto o ripetere le analisi di controllo. **Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale, (Italia +390331433636).**

VALORI ATTESI

Gli studi epidemiologici su *H. pylori* hanno dimostrato che questo microorganismo ha una diffusione mondiale.^{12, 16} L'incidenza della gastrite causata da *H. pylori* è correlata ad età, razza, numero di componenti e condizione socio-economica della famiglia.^{5, 10} La via di infezione attraverso la quale un soggetto acquisisce l'infezione da *H. pylori* non è ancora nota, anche se gli studi epidemiologici sull'infezione e/o colonizzazione sono in costante aumento.^{3, 7, 11, 13, 14}

Tali studi indicano che l'incidenza di infezione negli Stati Uniti può aumentare annualmente dell'1-2%.¹⁰ Non è raro trovare percentuali di positività pari anche al 50% in soggetti con più di 60 anni. La prevalenza di infezione causata da *H. pylori* in pazienti a cui è stata diagnosticata un'ulcera duodenale sale fino all'80%, indipendentemente dall'età del soggetto.¹² Chiaramente il tasso di positività per *H. pylori* dipende dal tipo di popolazione studiata e dai criteri che hanno determinato la scelta di tale popolazione.

Il test Premier *H. pylori* rileva la presenza di anticorpi della classe IgG anti-*H. pylori* nel siero o nel plasma. I risultati attesi in un determinato campione di popolazione variano da un Laboratorio all'altro e possono dipendere dalla localizzazione geografica, dal metodo utilizzato per il prelievo, il trattamento ed il trasporto del campione, dal tipo di test utilizzato, nonché dalle condizioni generali di salute della popolazione esaminata.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Il test deve essere eseguito solo su pazienti con sintomatologia riferibili a disturbi gastrointestinali. Il kit Premier *H. pylori* non è stato messo a punto per un uso su campioni di pazienti asintomatici.
- Il risultato del test è qualitativo ed i valori di assorbanza non devono in alcun modo essere interpretati in senso quantitativo.
- Campioni prelevati in fasi molto precoci della malattia possono contenere livelli di anticorpi non rilevabili con questa metodica. Se permane il sospetto di un'infezione da *H. pylori* ed il risultato del primo test è negativo, si consiglia di prelevare un secondo campione a distanza di 2-7 settimane e di ripetere il test contemporaneamente sul primo e sul secondo campione.
- Un risultato positivo (cioè la presenza di anticorpi anti-*H. pylori*) in pazienti sintomatici è verosimilmente indicativo di infezione in atto, ma dovrebbe essere confermato, laddove possibile, dall'isolamento culturale o da altri test diagnostici. La sierologia non è in grado di discriminare tra infezione acuta e pregressa.
- Il dato ottenuto con questo test deve essere valutato alla luce dei risultati ottenuti con gli altri esami eseguiti e del quadro clinico del paziente.
- Il kit Premier *H. pylori* fornisce unicamente un'indicazione qualitativa della presenza di IgG anti-*H. pylori*; esso non indica la presenza di malattia gastrointestinale in atto.
- Un risultato negativo indica l'assenza di IgG anti-*H. pylori* oppure la presenza di anticorpi a livelli inferiori rispetto al limite di sensibilità del test.

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Il kit Premier *H. pylori* è stato valutato presso tre Ospedali, su un totale di 462 campioni di siero di pazienti con problemi gastrointestinali. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a gastroscopia. I risultati ottenuti con il test Premier *H. pylori* sono stati paragonati a quelli ottenuti con il test dell'ureasi eseguito sui campioni biotici prelevati durante l'endoscopia. I risultati discrepanti sono stati risolti mediante esame istologico e/o in base al quadro clinico.⁴

	Test dell'ureasi su biopsia		Risultati risolti mediante es. Istologico o diagn. clinica	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Premier <i>H. pylori</i>				
Positivo	166	102	259	9
Negativo	3	191	3	191

n = 462

Sensibilità relativa = 98,2% (99,4-94,9)* (166/169) 98,8% (99,6-96,7) (259/262)

Specificità relativa = 65,2% (70,4-59,6) (191/293) 95,5% (97,6-91,7) (191/200)

Concordanza relativa = 77,3% (80,8-73,2) (357/462) 97,4% (98,5-95,5) (450/462)

*Tra parentesi sono indicati gli intervalli di confidenza dei 95% calcolati con metodi standard.

Novantatré campioni ureasi negativi/Premier *H. pylori* positivi sono stati confermati come positivi dall'esame istologico o dalla diagnosi clinica. Nove campioni ureasi negativi/Premier *H. pylori* positivi non mostravano alcun indizio che potesse consentire di risolvere la discrepanza. I tre campioni ureasi positivi/Premier *H. pylori* negativi non sono stati ulteriormente esaminati. I risultati ottenuti con il kit Premier *H. pylori* sono stati inoltre confrontati con quelli ottenuti con il kit HM-CAP, anch'esso per la ricerca di IgG anti-*H. pylori*. I risultati discrepanti sono stati risolti mediante test dell'ureasi sul campione biotico o mediante esame istologico.

	EIA concorrente			Risultati risolti mediante test ureasi o es. istologico	
	Positivo	Negativo	Ind.	Positivo	Negativo
Premier <i>H. pylori</i>					
Positivo	256	8	4	260	8
Negativo	17	172	5	2	192

n=462

Sensibilità relativa = 93,8% (96,1-90,2)* (256/273) 99,2% (99,8-97,2) (260/262)

Specificità relativa = 95,5% (97,7-91,5) (172/180) 96,0% (98,0-92,3) (192/200)

Concordanza relativa = 94,5% (96,2-92,0) (428/453) 97,8% (98,8-96,1) (452/462)

Quindici campioni EIA positivi/Premier *H. pylori* negativi ed i cinque campioni EIA indeterminati/Premier *H. pylori* negativi sono stati confermati come negativi sia dall'esame istologico sia dal test dell'ureasi. Due campioni EIA positivi/Premier *H. pylori* negativi si sono successivamente dimostrati positivi ai test dell'ureasi oppure all'esame istologico. Tre campioni Premier *H. pylori* positivi/EIA negativi sono risultati positivi all'esame istologico. Un paziente EIA indeterminato/Premier *H. pylori* positivo è risultato positivo al test dell'ureasi. Cinque campioni EIA negativi/Premier *H. pylori* positivi e tre campioni EIA indeterminati/Premier *H. pylori* positivi si sono dimostrati negativi ai test dell'ureasi ed all'esame istologico.

RIPRODUCIBILITÀ

Tre sieri sono stati testati dieci volte ciascuno nell'arco di una giornata. Tutto ciò è stato ripetuto per tre giorni. Tutti i test sono stati eseguiti presso un Laboratorio ospedaliero usando un campione negativo, un positivo "borderline" ed un alto positivo. I dati statistici derivanti da questo studio sono raccolti nelle seguenti tabelle.⁴

Variabilità intra-esame

SIERO	ASSORB. MEDIA	DS	CV
Negativo	0,013	0,003	23,1%
Positivo "borderline"	0,201	0,024	11,9%
Alto positivo	2,518	0,146	5,8%

Variabilità inter-esame

SIERO	ASSORB. MEDIA	DS	CV
Negativo	0,013	0,002	23,1%
Positivo "borderline"	0,201	0,014	15,9%
Alto positivo	2,518	0,302	12,0%

Variabilità totale

SIERO	ASSORB. MEDIA	DS	CV
Negativo	0,013	0,004	31,0%
Positivo "borderline"	0,201	0,039	19,4%
Alto positivo	2,518	0,332	13,2%

SPECIFICITÀ DEL TEST

A. Sospensioni batteriche

La specificità del test **Premier H. pylori** è stata valutata mediante prove di adsorbimento con colture di ceppi clinici (CI) o di collezione (ATCC). Un siero positivo ed uno negativo sono stati fatti reagire con una sospensione batterica contenente 3×10^8 UFC/mL e successivamente testati con il kit **Premier H. pylori**. Il siero positivo si è confermato positivo dopo l'adsorbimento con tutti i ceppi testati, tranne che il ceppo di *H. pylori*. Inoltre, tutti gli altri microrganismi non hanno causato alcuna falsa positività quando messi a contatto con il siero negativo.⁴

Campylobacter coli CI
Campylobacter fetus CI
Campylobacter jejuni ATCC 35217
Campylobacter jejuni ATCC 33292
Campylobacter lari CI
Candida albicans ATCC 10231
Citrobacter freundii ATCC 8090
Enterobacter aerogenes ATCC 13048
Enterobacter cloacae ATCC 13407
Escherichia coli ATCC 8739
Helicobacter cinaedi ATCC 35683

Klebsiella pneumoniae ATCC 13883
Proteus vulgaris ATCC 8427
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027
Pseudomonas fluorescens CI
Salmonella sp CI
Serratia liquefaciens ATCC 35551
Shigella flexneri CI
Shigella sonnei CI
Staphylococcus aureus (Cowen I) ATCC 12598
Streptococcus faecalis CI
Yersinia enterocolitica CI

B. Studi di sierologia

I sieri di pazienti con coltura o sierologia positiva per una delle seguenti patologie non hanno dimostrato alcuna falsa positività quando esaminati con il kit **Premier H. Pylori**.⁴

Anticorpi anti-nucleo (10)	Rotavirus (4)	Fattore reumatoide (4)	Cytomegalovirus (3)
Lupus Eritematoso Sistemico (3)	Rosolia (5)	Influenza di tipo A (4)	Coccidioides (3)
Istplasmosi (1)	Mononucleosi infettiva (16)	Virus Herpes Simplex (4)	Cryptococcus (1)

FRANÇAIS

PREMIER® H. PYLORI

Test immuno-enzymatique pour la détection des anticorps IgG dirigés contre *Helicobacter pylori* dans le sérum et le plasma humains

REF 606096

IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro

BUT DE LA METHODE

Le test **Premier H. pylori** est un test ELISA pour la détection qualitative des anticorps IgG dirigés contre *Helicobacter pylori* dans le sérum et le plasma humains. Les résultats du test sont destinés à fournir une aide au diagnostic des infections à *H. pylori*.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

L'importance d'*Helicobacter pylori* dans les atteintes gastro-intestinales a fortement augmenté depuis que Marshall et Warren ont décrit la présence d'organismes de type *Campylobacter* dans la muqueuse stomacale de patients présentant des signes histologiques de gastrite et d'ulcère, en particulier d'ulcère du duodénum.^{3, 15} Bien qu'un lien de causalité n'ait pas été encore pleinement établi, la forte corrélation entre la présence de *H. pylori* et les gastrites confirmées de façon histologique, les ulcères et les carcinomes gastriques ne peut plus être mise en question.^{3, 11, 20}

Les niches écologiques chez l'être humain semblent être limitées à l'estomac et au duodénum. Les patients porteurs de cette bactérie se divisent principalement en deux groupes. Le premier se compose de sujet dits «colonisés». Ces patients sont porteurs de cet organisme, sans cependant manifester de signes d'infection gastro-intestinale. Les patients porteurs de *H. pylori* et présentant des symptômes d'infection gastro-intestinale sont considérés comme infectés. Le processus selon lequel un individu colonisé devient infecté reste mal connu. Le processus par lequel un patient est colonisé fait également toujours l'objet de recherches.^{9, 7, 11, 15, 14}

Il existe deux types de techniques de diagnostic de la présence de *H. pylori*. La première se fait par détection directe de l'organisme et, jusqu'à présent, est une technique invasive. La deuxième approche, non invasive, implique la détection des anticorps produits en réaction à la présence de *H. pylori*.^{8, 9, 22}

La méthode invasive nécessite une biopsie de la partie supérieure de l'appareil gastro-intestinal. La présence de *H. pylori* est alors confirmée par un examen direct au microscope ou par la culture de l'organisme à partir des tissus prélevés. Cette technique a l'avantage de permettre la détection des infections actives tout en conservant un caractère hautement précis et une très forte valeur quant à la prédiction d'un résultat positif. Les difficultés propres à cette approche sont les risques encourus par le patient et l'inconfort. De plus, *H. pylori* tend à former des colonies en plaques et peut ainsi complètement échapper à la biopsie. La culture de *H. pylori* à partir des tissus prélevés est difficile et longue. Ces difficultés techniques peuvent aboutir à des résultats faussement négatifs.^{1, 2, 3, 19}

Le test de détection respiratoire à l'urée marquée (en utilisant de l'urée marquée au ¹³C ou ¹⁴C) (UBT) est une méthode non invasive qui permet de détecter *H. pylori* en s'appuyant sur sa haute activité uréase.^{3, 8, 10} Bien qu'il s'agisse d'une méthode très sensible et très précise, elle a ses limites. Elle est coûteuse, longue et nécessite un matériel spécialisé pour la détection de ¹³C. L'approche non invasive la plus courante pour la détection de *H. pylori* est l'identification sérologique des anticorps spécifiques chez les patients infectés. L'approche indirecte révèle la très forte corrélation entre la gastrite histologique, la présence de *H. pylori* et la séropositivité. Les inconvénients de ce test sont qu'ils nécessitent pour la plupart des instructions permettant de les interpréter et que bon nombre d'entre eux sont moins précis étant donné les interférences dans les réactions dues à d'autres organismes. Leur principal avantage est leur rapidité et leur grande sensibilité.^{5, 18, 21}

Le **Premier H. pylori** est un test ELISA en microplaque qui permet la détection des anticorps IgG. Ce test utilise un lysat cellulaire de bactéries soniquées comme antigène de capture. Aucun calcul n'est requis et la visibilité du changement de couleur rend l'interprétation des résultats simple et objective.

PRINCIPE DU TEST

Le **Premier H. pylori** utilise un lysat de cellules bactériennes d'*H. pylori*, adsorbées dans les puits en plastique de la microplaque. Le sérum dilué du patient est incubé dans les puits de la microplaque à 19-27 °C. Après lavage, un conjugué peroxydase couplé à un anticorps monoclonal anti-IgG humaines est ajouté, et la plaque est incubée à nouveau. Le conjugué non lié est éliminé par lavage et le substrat (**Premier Substrat II**) est ajouté. Une réaction colorée se développe en présence de l'enzyme liée. La solution d'arrêt (**Premier Stop Solution II**) est ajoutée et les résultats sont interprétés par une lecture visuelle ou au spectrophotomètre.

MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

1. **Micropuits recouverts d'antigènes H. pylori** - puits sécables en plastique recouverts d'antigènes *H. pylori*.
2. **Contrôle positif** - Sérum humain contenant des anticorps IgG dirigés contre *H. pylori*, dans un tampon (pH 7,3) avec 0,09% d'azide de sodium.
3. **Contrôle négatif** - Sérum humain non réactif dans un tampon (pH 7,3) avec 0,09% d'azide de sodium.
4. **Diluant pour échantillons** - Solution protéinique contenant un conservateur (0,1% d'azide de sodium).
5. **Tampon de lavage (Premier 20X Wash Buffer I)** - Tampon de lavage concentré contenant un conservateur (0,2% thimerosal).
6. **Conjugué enzymatique** - Anticorps monoclonaux anti-IgG humaines couplés à la peroxydase dans un tampon contenant un conservateur (0,02% thimerosal).
7. **Substrat (Premier Substrate II)** - Solution tamponnée contenant du peroxyde d'urée.
8. **Solution d'arrêt (Premier Stop Solution II)** - Acide sulfurique 2N. **ATTENTION:** Éviter le contact avec la peau. Rincer abondamment à l'eau en cas de contact.
9. **Support de barrettes de micropuits**
10. **Film adhésif**

MATERIEL NON FOURNI

1. Tubes à essai (12 x 75 mm)
2. Eau distillée ou déionisée
3. Pipettes de précision pour délivrer des volumes de 10, 100 et 500 µL
4. Pissette ou laveur automatique de plaques ELISA
5. Minuteur
6. Eprouvette graduée
7. Lecteur de plaques ELISA (en option) avec un filtre à 450 nm ou 450/630 nm

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Les échantillons de patient peuvent contenir des agents infectieux et doivent être manipulés comme étant potentiellement infectieux. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons et la procédure de test.
3. **ATTENTION:** Le matériel d'origine dont les contrôles sont dérivés ont été trouvés négatifs pour l'antigène HBsAg et pour les anticorps anti-VHC, anti-VIH-1 et anti-VIH-2. Cependant, aucune méthode de test ne peut apporter l'assurance totale que le sang humain ne transmettra pas le VIH, l'hépatite ou d'autres agents potentiellement infectieux. Ces réactifs doivent donc être manipulés avec un niveau 2 de sécurité comme il est recommandé dans le CDC/NIH manual Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories.
4. Tous les composants du coffret doivent être mélangés doucement avant utilisation.
5. Des résultats reproductibles dépendent d'un pipetage précis, de temps et de température d'incubation corrects, ainsi que d'un protocole de lavage correct et d'une agitation minutieuse de toutes les solutions préparées.
6. Tous les réactifs, à l'exception du tampon de lavage 20X concentré (**Premier 20X Wash Buffer I**) et des contrôles, sont fournis déjà dilués à la concentration adéquate.
7. Ne pas érafler les puits durant les étapes de lavage et d'aspiration. Laver et remplir tous les puits sans interruption. Pendant le lavage, vérifier que les micropuits soient remplis de façon égale ainsi que l'absence de résidus dans les micropuits. Ne pas laisser les puits s'assécher. Une procédure de lavage inadéquate peut causer un bruit de fond élevé.
8. Les instructions d'usage des spectrophotomètres doivent être respectées; vérifier l'ajustement à la bonne longueur d'onde (450 nm) ainsi que la longueur d'onde de référence (630 nm).
9. Si des comparaisons avec d'autres méthodes sont requises, effectuer les tests en parallèle.
10. La solution d'arrêt (**Premier Stop Solution II**) doit être manipulée précautionneusement car elle peut provoquer des brûlures ou des irritations de la peau.
11. Tous les réactifs doivent être conservés à 2-8 °C et ramenés à 19-27 °C avant de commencer le test.
12. Remplacer les bouchons colorés sur le flacon correspondant après usage.
13. Utiliser seulement des embouts en plastique jetables pour pipeter les réactifs.
14. Conserver les barrettes de micropuits non utilisées dans le sachet d'origine, à 2-8 °C. Il est important de protéger les barrettes de l'humidité.
15. Ne pas mélanger les réactifs provenant de coffrets de lots différents. Utiliser les composants du coffret avant la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
16. Utiliser des embouts différents pour chaque échantillon, contrôle et réactif. Des contaminations croisées d'échantillons peuvent provoquer des résultats erronés.
17. Ne pas réutiliser les micropuits.
18. Eliminer les déchets dans des conteneurs appropriés au matériel potentiellement infectieux.
19. Tenir les réactifs verticalement pour assurer un dépôt correct.

DANGER ET MISES EN GARDE

Pour les dangers et les précautions à prendre, se référer à la fiche de sécurité, disponible sur le site web de Meridian Bioscience. [(www.meridianbioscience.com (US version)) / (www.meridianbioscience.eu (EU version))]

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date de péremption est indiquée sur les étiquettes du coffret. Le coffret doit être conservé à 2-8 °C et remis au réfrigérateur après chaque usage.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

1. Des échantillons de sérum ou de plasma peuvent être utilisés avec ce test. Le citrate de sodium et l'EDTA sont acceptables en tant qu'anticoagulant. Les performances du test **Premier H. pylori** à partir d'échantillons de plasma obtenus en utilisant d'autres anticoagulants ne sont pas connues. Les échantillons doivent être recueillis selon les procédures habituelles de laboratoire.
2. Les échantillons de sérum et de plasma peuvent être conservés jusqu'à cinq jours au réfrigérateur à 2-8 °C. Si le test doit être effectué à une date plus lointaine, les échantillons doivent être congelés. Éviter les congélations et les décongélations répétées. Les échantillons de plasma/sérum troubles ou contenant des particules doivent être centrifugés avant d'effectuer le test.

PREPARATION DES REACTIFS

1. Avant utilisation, ramener tous les éléments du coffret, y compris la pochette contenant les micropuits, à une température de 19-27 °C.
2. Préparer le volume nécessaire de tampon de lavage 1X. Par exemple, pour une barrette, préparer 80 mL de tampon de lavage en mélangeant 4 mL de tampon de lavage concentré (**Premier 20X Wash Buffer I**) + 76 mL d'eau distillée ou déionisée. Le tampon de lavage 1X ainsi obtenu peut être conservé à température ambiante pendant plus de trois mois.
3. Les contrôles (négatif et positif) doivent être dilués dans le diluant pour échantillons avant utilisation dans le test.

PROCEDURE DE TEST

- Utiliser 1 puits pour chaque échantillon ou contrôle à tester :
 - Un puits pour le contrôle négatif
 - Un puits pour le contrôle positif
 - Un puits par échantillon
- Noter l'emplacement de chaque micropuits sur le support de plaque.
- Préparer une dilution au 1:50 de chaque échantillon de patient, du contrôle positif et du contrôle négatif, dans le diluant pour échantillons. Préparer les dilutions en mélangeant 10 µL d'échantillon/contrôles avec 0,5 mL de diluant pour échantillons.
- Pipeter 100 µL de chaque contrôle dilué (négatif et positif) dans les puits appropriés. Pipeter 100 µL de chacun des échantillons de patients dilués dans les puits correspondants (le temps de dépôt ne doit pas excéder 5 minutes).
- Incuber pendant 20 minutes à température ambiante (19-27 C). Protéger la plaque de façon à éviter l'évaporation ou la contamination.
- Éliminer la solution de chaque micropuits en retournant les micropuits et en tapant sur un papier absorbant. Maintenir fermement le support pour éviter que les puits ne tombent. Remplir chaque micropuits avec du tampon de lavage 1X (environ 350 µL). Retourner les micropuits et taper fermement sur un papier absorbant. Répéter la procédure 2 fois pour un total de 3 lavages.
- Ajouter 2 gouttes de conjugué à chaque puits.
- Incuber 20 minutes à température ambiante (19-27 C).
- Laver les micropuits 3 fois avec 350 µL de tampon de lavage 1X par puits comme à l'étape 6.
- Ajouter 2 gouttes de solution substrat (Premier Substrate II) à chaque puits. Agiter doucement la plaque pour homogénéiser.
- Incuber 10 minutes à température ambiante (19-27 C).
- Ajouter 2 gouttes de solution d'arrêt (Premier Stop Solution II) à chaque puits. Agiter doucement la plaque pendant 30 secondes. **Remarque:** une réaction positive est initialement colorée en bleu et vire au jaune après addition de la solution d'arrêt (Premier Stop Solution II).
- Lecture de la réaction :
 - Lecture visuelle : Lire dans les 10 minutes après addition de la solution d'arrêt (Premier Stop Solution II).
 - Lecture spectrophotométrique : faire le blanc du lecteur sur l'air. Nettoyer le dessous de la plaque à l'aide d'un papier absorbant. Lire l'absorbance à 450 nm ou 450/630 nm dans les 10 minutes après l'addition de la solution d'arrêt (Premier Stop Solution II).

INTERPRETATION DES RESULTATS

- Lecture visuelle**
Négatif = sans coloration
Positif = coloration jaune bien définie
- Lecture spectrophotométrique à 450 nm**
Négatif = $DO_{450} < 0,120$
Positif = $DO_{450} \geq 0,120$
- Lecture spectrophotométrique à 450/630 nm**
Négatif = $DO_{450/630} < 0,070$
Positif = $DO_{450/630} \geq 0,070$

Un résultat positif indique la présence d'anticorps IgG dirigés contre *H. pylori*. Un résultat négatif indique l'absence d'anticorps IgG ou que le niveau d'IgG est en dessous du seuil de détection du test.

Une réaction très positive peut provoquer un précipité violet dans les minutes qui suivent l'addition de la solution d'arrêt.

CONTROLE DE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.
Le contrôle positif et le contrôle négatif doivent être utilisés à chaque série afin de valider la technique et les réactifs.

La DO du contrôle négatif doit être $< 0,120$ à 450 nm et $< 0,070$ à 450/630 nm mais supérieure à 0,00. Si le contrôle négatif est $< 0,00$, refaire le blanc sur l'air du lecteur de plaque et lire la plaque à nouveau. Le contrôle négatif doit être incolore à la lecture visuelle. La DO du contrôle positif doit être $\geq 0,400$ à 450 nm et à 450/630 nm.

Si un puits apparaît positif au spectrophotomètre sans couleur visible, contrôler le puits, nettoyer le dessous de la plaque et effectuer une nouvelle lecture.

A chaque utilisation, les réactifs doivent être examinés visuellement pour contrôler l'absence de contamination microbienne, de congélation ou de fuites.

La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les test de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.

VALEURS ATTENDUES

Les études épidémiologiques sur *H. pylori* ont montré que cet organisme est répandu dans le monde entier.^{12, 16} Il a été montré que les gastrites causées par *H. pylori* sont en corrélation avec l'âge, le groupe ethnique, la taille et la classe socio-économique de la famille.^{6, 10} Bien que les études épidémiologiques sur l'infection et la colonisation par *H. pylori* soient en nombre croissant, le processus par lequel les individus acquièrent cet organisme est, à l'heure actuelle, inconnu.^{3, 7, 11, 13, 14}

Des études indiquent que l'incidence de l'infection aux Etats-Unis pourrait augmenter de 1 à 2% chaque année.¹⁰ Il n'est pas rare de trouver des taux de positivité de 50% chez les individus de 60 ans ou plus. Il a été montré que la fréquence des infections à *H. pylori* chez des individus où un ulcère du duodénum a été diagnostiqué, est approximativement de 80% dans tous les groupes d'âge.¹² Les taux de positivité trouvés avec *H. pylori* dépendent clairement de l'échantillon de population et de la délimitation de la population.

Le **Premier H. pylori** détecte la présence d'anticorps IgG dirigés contre *H. pylori* dans le sérum ou le plasma. Les valeurs attendues pour une population donnée doivent être déterminées par chaque laboratoire. Le taux de positivité peut varier en fonction de la localisation géographique, de la méthode de prélèvement des échantillons, des manipulations et du transport, du test utilisé et de l'environnement sanitaire général de la population de patients étudiée.

LIMITES DU TEST

- Le test doit être utilisé pour des patients présentant des symptômes marqués de troubles gastro-intestinaux. Le test **Premier H. pylori** n'est pas destiné à être utilisé sur des patients asymptomatiques.
- Le test est un test qualitatif et une interprétation quantitative ne peut pas être donnée en se rapportant aux valeurs.
- Les échantillons obtenus trop précocement au cours de l'infection peuvent ne pas contenir de taux détectables d'anticorps. Si la présence d'*H. pylori* est suspectée et qu'un résultat négatif est trouvé, un second échantillon doit être obtenu 2 à 7 semaines plus tard et testé en parallèle avec le premier échantillon.
- Un résultat positif (présence d'anticorps dirigés contre *H. pylori*) chez un individu symptomatique peut seulement indiquer une infection active et doit, si possible, être confirmé par une isolation bactérienne ou autres méthodes de diagnostic. Ce test ne permet pas de distinguer les infections actives des infections inactives.
- Les résultats du test doivent être utilisés en conjonction avec les informations disponibles concernant les données cliniques sur le patient et avec d'autres informations du diagnostic.
- Le **Premier H. pylori** est un test qualitatif qui indique seulement la présence d'anticorps IgG dirigés contre *H. pylori*. Ce test n'indique pas la présence d'une maladie gastro-intestinale.
- Un résultat négatif indique l'absence d'anticorps IgG ou que le niveau d'IgG est en dessous du seuil de détection du test.

PERFORMANCES DU TEST

Le **Premier H. pylori** a été évalué dans trois sites hospitaliers. Un total de 462 échantillons de sérum provenant de patients présentant des troubles gastro-intestinaux a été obtenu. Tous ces patients avaient subi une endoscopie. Le **Premier H. pylori** a été comparé aux résultats obtenus sur les biopsies par un test rapide à l'urée. Les résultats discordants ont été départagés par coloration de coupes de tissus ou à partir du diagnostic clinique.

	Test rapide à l'urée		Coloration de tissus et données cliniques	
	Positif	Négatif	Positif	Négatif
Premier H pylori				
Positif	166	102	259	9
Négatif	3	191	3	191

n = 462

Sensibilité relative = 98,2% (99,4-94,9)* (166/169)

98,8% (99,6-96,7) (259/262)

Spécificité relative = 65,2% (70,4-59,6) (191/293)

95,5% (97,6-91,7) (191/200)

Corrélation relative = 77,3% (80,8-73,2) (357/462)

97,4% (98,5-95,5) (450/462)

* les intervalles de confiance à 95% calculés par la méthode normale, sont indiqués entre parenthèses

Quatre vingt treize échantillons négatifs par le test rapide à l'urée sur biopsie et positifs avec le test **Premier H. pylori**, ont été trouvés positifs par coloration des tissus ou à partir des données cliniques. Neuf échantillons négatifs par le test rapide à l'urée sur biopsie et positifs avec le test **Premier H. pylori**, n'ont pas indiqué la présence d'*H. pylori* par l'une ou l'autre des méthodes de référence. Les trois échantillons positifs par le test rapide à l'urée sur biopsie et négatifs avec le test **Premier H. pylori** n'ont pas été étudiés par les tests de résolution. Le test **Premier H. pylori** a été comparé à un test ELISA basé sur les micropuits HM-CAP pour la détection des anticorps IgG dirigés contre *H. pylori*. Les résultats discordants ont été résolus par le test rapide à l'urée sur biopsie ou par détermination de la présence d'*H. pylori* par des méthodes de colorations histologiques.

	Autre test ELISA			Test rapide à l'urée sur biopsie et/ou histologie	
	Positif	Négatif	Douteux	Positif	Négatif
Premier H. pylori					
Positif	256	8	4	260	8
Négatif	17	172	5	2	192

n = 462

Sensibilité relative = 93,8% (96,1-90,2)* (256/273)

99,2% (99,8-97,2) (260/262)

Spécificité relative = 95,5% (97,7-91,5) (172/180)

96,0% (98,0-92,3) (192/200)

Corrélation relative = 94,5% (96,2-92,0) (428/453)

97,8% (98,8-96,1) (452/462)

Quinze des échantillons positifs par l'autre test ELISA et négatifs avec le **Premier H. pylori** ainsi que les quatre échantillons douteux par l'autre test ELISA et négatifs avec le **Premier H. pylori** ont été trouvés négatifs à la fois par l'histologie et par le test rapide à l'urée sur biopsie. Deux échantillons positifs par l'autre test ELISA et négatifs avec le **Premier H. pylori** ont été trouvés positifs soit par le test rapide à l'urée soit en histologie. Trois échantillons positifs par le test **Premier H. pylori** et négatifs par l'autre test ELISA ont été trouvés positifs par les tests sur biopsie. Un échantillon douteux par l'autre test ELISA et positif en **Premier H. pylori** a été trouvé positif par le test rapide à l'urée sur biopsie cinq échantillons négatifs par l'autre test ELISA et positifs en **Premier H. pylori** et trois échantillons douteux avec l'autre ELISA et positifs en **Premier H. pylori** ont été trouvés négatifs à la fois en histologie et par le test rapide à l'urée sur biopsie.

REPRODUCTIBILITE DU TEST

Trois échantillons de sérum ont été testés chacun indépendamment 10 fois au cours d'une journée. Le procédé a été répété sur un total de trois jours. Tous les essais ont été réalisés sur un site clinique en utilisant un échantillon de sérum négatif, un faiblement positif et un fortement positif. L'analyse statistique est donnée sur les tableaux suivants.⁴

Variation intra-essai			
Type de sérum	Moyenne	DS	CV
Négatif	0,013	0,003	23,1%
Positif faible	0,201	0,024	11,9%
Positif fort	2,518	0,146	5,8%

Variation inter-essai			
Type de sérum	Moyenne	DS	CV
Négatif	0,013	0,002	23,1%
Positif faible	0,201	0,014	15,9%
Positif fort	2,518	0,302	12,0%

Variation totale			
Type de sérum	Moyenne	DS	CV
Négatif	0,013	0,004	31,0%
Positif faible	0,201	0,039	19,4%
Positif fort	2,518	0,332	13,2%

SPECIFICITE DU TEST

A. Etude bactérienne

La spécificité du coffret **Premier H. pylori** a été testée en réalisant des études d'adsorption avec différents isolats cliniques (CI) ou souches ATCC. Un échantillon séropositif connu ou séronégatif connu est incubé avec 3×10^9 de chacun des différents organismes et le sérum ainsi adsorbé est testé par le **Premier H. pylori**. Le sérum séropositif est resté positif après adsorption pour tous les organismes excepté la souche *H. pylori*. De plus, aucun des organismes, lorsqu'il réagit avec le sérum séronégatif, n'a fourni de réaction faussement positive.⁴

<i>Campylobacter coli</i> CI	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883
<i>Campylobacter fetus</i> CI	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427
<i>Campylobacter hyointestinalis</i> ATCC 35217	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 33292	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CI
<i>Campylobacter lari</i> CI	<i>Salmonella sp</i> CI
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Serratia liquefaciens</i> ATCC 35551
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	<i>Shigella flexneri</i> CI
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	<i>Shigella sonnei</i> CI
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13407	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I) ATCC 12598
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Streptococcus faecalis</i> CI
<i>Helicobacter cinaedi</i> ATCC 35683	<i>Yersinia enterocolitica</i> CI

B. Etude de sérum

Des sérums de patients ayant fourni des résultats de culture positifs ou présentant des évidences sérologiques des maladies suivantes n'ont pas réagi lorsqu'ils ont été testés par le **Premier H. pylori**.⁴

Anticorps anti-nucléaire (10)	Rotavirus (4)	Facteur rhumatoïde (4)	Cytomegalovirus (3)
Lupus érythémateux (3)	Rubéole (5)	Influenza A (4)	Coccidioides (3)
Histoplasma (1)	Mononucléose (16)	Herpes Simplex Virus (4)	Cryptococcus (1)

PREMIER® H. PYLORI

EIA para la Detección y Verificación de anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori* en Plasma y Suero Humano

REF 606096

IVD Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

USO INDICADO

Premier H. pylori es un ensayo de inmunoenzima (EIA) para la detección cualitativa *in vitro* de anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori* en suero y plasma humano. Los resultados del test sugieren la ayuda en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La importancia de *Helicobacter pylori* en las enfermedades gastrointestinales se ha visto enormemente incrementada desde que Marshall y Warren describieron la presencia de organismos semejantes a *Campylobacter* en la mucosa antral de pacientes con evidencia histológica de gastritis de antro y úlceras pépticas, especialmente de úlceras duodenales.^{3, 15} Aunque todavía no se ha establecido totalmente una relación causal, la fuerte correlación entre la presencia de *H. pylori* y la gastritis confirmada histológicamente, la enfermedad por úlcera péptica y el carcinoma gástrico ya no puede debatirse por más tiempo.^{3, 11, 20}

El nicho ecológico en los humanos parece estar restringido al estómago y al duodeno. Los pacientes que hospedan al organismo se dividen en dos grupos básicos. Los primeros son aquellos que se denominan como "colonizados". Estos pacientes tienen el organismo pero no tienen aún síntomas de enfermedad gastrointestinal. Los que tienen síntomas y también el *H. pylori* se consideran infectados. El proceso por el cual un individuo colonizado pasa a infectado permanece sin claridad. El proceso por el cual los pacientes son colonizados está aun investigándose.^{3, 7, 11, 13, 14}

Las estrategias diagnósticas para la determinación de *H. pylori* se han desarrollado a lo largo de dos líneas: 1) detección directa del organismo, y 2) detección de anticuerpos contra *H. pylori*.^{8, 9, 22}

La detección directa a través de métodos invasivos requiere una biopsia tomada del tracto gastrointestinal superior. La presencia de *H. pylori* se confirma luego por examen directo al microscopio, por el test rápido de la ureasa o cultivando el organismo desde la biopsia. Esta estrategia tiene la ventaja de ser capaz de detectar infecciones activas de manera muy específica y con un valor de predicción positiva muy alto. Las dificultades asociadas a este procedimiento son el riesgo y las molestias para paciente. Además, *H. pylori* tiende a colonizar en áreas concretas con lo cual puede no detectarse en absoluto en la biopsia. El cultivo de *H. pylori* desde la biopsia tiende a ser difícil y requiere algún tiempo. Estas dificultades técnicas pueden llevar a resultados falsos negativos.^{2, 3, 19}

El test de aliento de urea (que utiliza urea C¹⁴ o C¹³) es un método no invasivo que detecta *H. pylori* aprovechando su alta actividad de ureasa.^{3, 8, 10} Aun siendo muy sensible y específico, este test tiene limitaciones. Es caro, requiere tiempo así como la ingesta de urea marcada con isótopos, además de una instrumentación especializada para la detección de C¹⁴ o C¹³. El método no invasivo más común para la detección de *H. pylori* es la identificación serológica de anticuerpos específicos en pacientes infectados. Aun siendo un procedimiento indirecto, la correlación entre la gastritis histológica, la presencia de *H. pylori* y la seropositividad es extremadamente fuerte. Las desventajas de estos test son que algunos tienen una especificidad más baja debido a reacciones cruzadas con otros organismos, o que los anticuerpos pueden presentarse como "señal serológica" después de la erradicación del organismo. Su mayor ventaja es que son rápidos y ofrecen una alta sensibilidad.^{5, 18, 21}

Premier H. pylori es una prueba de inmunoenzima por micropocillos para la detección del anticuerpo IgG, la cual usa como antígeno de captura una suspensión de lisis celular de la bacteria. No se requieren calculaciones y el cambio visual de color hace que la interpretación de los resultados sea objetiva y simple.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

El test **Premier H. pylori** utiliza un lisado de células bacterianas de *H. pylori*; sonicadas y absorbido a los micropocillos de plástico. El suero del paciente diluido se incuba en los pocillos a 19-27 C. Después del lavado se añade un anticuerpo monoclonal contra IgG humana conjugado a peroxidasa y se incuba la placa de nuevo. El conjugado no unido es retirado a través de otro lavado y se añade sustrato II (Premier Substrate II). Se desarrolla color si se da la presencia de enzima unido. Se añade solución de parada II (Premier Stop Solution II) y los resultados se interpretan visual o espectrofotométricamente.

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.

1. **Micropocillos recubiertos de Antígeno de H. pylori** - Pocillos plásticos separables recubiertos de antígeno de *H. pylori*
2. **Control positivo** - Suero humano que contiene anticuerpos IgG contra *H. pylori* en un tampón (pH 7,3) con 0,09% de azida sódica.
3. **Control negativo** - Suero humano no reactivo en un tampón (pH 7,3) con 0,09% de azida sódica.
4. **Diluyente de muestra** - Solución proteica con un conservante (0,1% de azida sódica).
5. **Premier Solución tampón de lavado 20X I** - Tampón de Lavado concentrado con un conservante (0,2% thimerosal).
6. **Conjugado enzimático** - Anticuerpo monoclonal anti-IgG humana unido a peroxidasa en un tampón con conservante (0,02% thimerosal).
7. **Premier Solución de Substrato II** - Solución tamponada que contiene peróxido de urea.
8. **Premier Solución de Parada II** - ácido sulfúrico 2N. **PRECAUCIÓN:** Evitar el contacto con la piel. En caso de contacto, lavar con agua abundante.
9. **Soporte de la tira de micropocillos**
10. **Sellador de la tira de micropocillos**

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Tubos de ensayo (12 x 75 mm)
2. Agua destilada o desionizada
3. Pipetas de precisión para dispensar 10, 100 y 500 µL
4. Botella surtidora para enjuague o lavador de placas EIA automático
5. Cronómetro
6. Probeta graduada
7. **OPCIONAL:** Lector de placas de EIA capaz de leer absorbancias a 450 o 450/630 nm

PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Las muestras de los pacientes pueden contener agentes infecciosos y deberán ser tratadas y desechadas como materiales biológicos potencialmente peligrosos.
3. **PRECAUCIÓN:** La fuente del material de la cual derivan los controles fue negativa para **HBsAg/anti-HCV** y no reactiva para **HIV**. No obstante, ningún método de ensayo puede ofrecer una total seguridad en que la sangre humana no va a transmitir **HIV**, hepatitis u otros agentes potencialmente infecciosos. Estos reactivos deberían ser manipulados a un nivel 2 de Bioseguridad, tal y como se recomienda en el manual CDC/NIH de Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos.
4. Antes de utilizarlos, agitar todos los reactivos suavemente.
5. Los resultados reproducibles dependen de un cuidadoso pipeteado, de periodos de incubación correctos y de la temperatura. También dependen del buen lavado de las tiras y de mezclar minuciosamente las soluciones preparadas.

6. Todos los reactivos, excepto el Tampón de Lavado 20X I y los Controles, se suministran ya diluidos a la concentración adecuada.
7. Procure no rayar los pocillos recubiertos durante el lavado y el aspirado. Lave y rellene todos los micropocillos sin interrupción. Mientras se efectúe el lavado, compruebe que los micropocillos están uniformemente llenos de solución de lavado y a su vez, que no haya residuos en los mismos. No permita que los pocillos se sequen. **Un lavado inadecuado puede originar valores elevados de fondo.**
8. Se deben observar las instrucciones de uso de los fotómetros a utilizar. Compruebe el ajuste de la longitud de onda adecuada (450 nm) y de la longitud de onda de referencia (630 nm) respectivamente. Si se requieren comparaciones con otros métodos, realice siempre ambos test simultáneamente.
9. La solución de parada debe ser manipulada cuidadosamente, ya que puede causar quemaduras o irritación de la piel
10. Todos los reactivos deben ser almacenados a 2-8 C y atemperados a 19-27 C antes de empezar con el ensayo.
11. Una vez utilizados, coloque de nuevo los tapones coloreados en sus viales correspondientes.
12. Utilice solamente puntas desechables de plástico para pipetear reactivos.
13. Guarde las tiras de micropocillos no utilizadas en su bolsa original y a 2-8 C. Es importante el proteger las tiras de la humedad.
14. No mezcle reactivos de kits con diferente lote y tampoco utilice los componentes del kit una vez sobrepasada su fecha de caducidad.
15. Utilice diferentes puntas de pipeta para cada muestra, control y reactivo. La contaminación cruzada de las muestras podría originar falsos resultados.
16. No reutilice los micropocillos.
17. Deseche todos los materiales para el test ya utilizados en un contenedor apropiado. Trátelos como materiales potencialmente nocivos.
18. Mantenga los viales de reactivo de manera vertical para así asegurar un tamaño y dispensación de gota adecuados.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

Se debe referir a los SDS, disponibles en www.meridianbioscience.com (US versión) / www.meridianbioscience.eu (EU versión), para las Frases de Peligro y Precaución.

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad está indicada en la etiqueta del kit. Almacene el kit a 2- 8 C y colócarlo de nuevo en el refrigerador inmediatamente después de cada utilización.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. El suero o el plasma pueden ser utilizados en este ensayo. El Citrato Sódico el EDTA son anticoagulantes aceptables. El resultado del test **Premier H. pylori** a partir de plasma obtenido utilizando otros anticoagulantes es desconocido. Las muestras deben ser recogidas utilizando procedimientos de laboratorio establecidos.
2. El suero y el plasma pueden ser almacenados en el refrigerador a 2-8 C hasta cinco días. Si el ensayo va a ser realizado más tarde, la muestra debe ser congelada. Evite la congelación y descongelación repetida. Una muestra de suero o plasma turbia o una que contenga partículas, puede ser centrifugada antes de realizar el ensayo.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

1. Antes de utilizarlo, dejar que todo el kit, incluyendo la bolsa de los micropocillos, alcance una temperatura de 19 C -27 C.
2. Preparar el volumen necesario de solución tampón de lavado 1X. Por ejemplo: 4,0 mL de solución tampón de lavado 20X I + 76,0 mL de agua destilada o desionizada son suficientes para lavar una tira. Colocar en una botella surtidora de enjuague limpia. La solución tampón de lavado 1X puede guardarse a temperatura ambiente por un máximo de tres meses.
3. Los Controles (Negativo y Positivo) deben ser diluidos en Diluyente de Muestra antes de ser utilizados.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Utilice 1 micropocillo para cada muestra y control que se vaya a procesar:
 - a. Micropocillo del Control Negativo.
 - b. Micropocillo del Control Positivo.
 - c. Micropocillos de los sueros de pacientes.
2. Registre la localización de cada micropocillo en el soporte.
3. Prepare una dilución 1:50 de cada muestra de paciente, Control Positivo y Control Negativo en Diluyente de Muestra. Prepare la dilución mezclando 10 µL de muestra, Control Positivo o Negativo con 0,5 mL de Diluyente de Muestra.
4. Añada 100 µL de cada Control diluido (Negativo y Positivo) al micropocillo adecuado. Pipetee 100 µL de muestra de paciente diluida dentro de los pocillos correspondientes. (El tiempo de adición no debería exceder los 5 minutos).
5. Incube a 19-27 C durante 20 minutos. Proteja la placa de fuentes de calor o del polvo ya que podrían causar evaporación o contaminación.
6. Saque la solución de cada micropocillo invirtiéndolos y golpeándolos sobre una superficie absorbente. Sostenga firmemente el soporte para evitar así que los pocillos se caigan. Llene cada micropocillo con Tampón de Lavado 1X (aproximadamente 350 µL). Invierta los micropocillos y golpee firmemente sobre una superficie absorbente. Repita este procedimiento dos veces hasta un total de tres lavados.
7. Añada 2 gotas de Conjugado a todos los pocillos.
8. Incube a 19-27 C durante 20 minutos.
9. Lave los micropocillos 3 veces con 350 µL de Premier Tampón de Lavado 20X I por pocillo, tal y como se indica en el Paso #6.
10. Añada 2 gotas de Premier Solución de Substrato II a todos los pocillos. Agite la placa suavemente para su mezcla.
11. Incube a 19-27 C durante 10 minutos.
12. Añada 2 gotas de Premier Solución de Parada II a cada pocillo. Agite la placa suavemente durante 30 segundos para su mezcla. **Nota:** El color inicial de una reacción positiva es azul cambiando a amarillo al añadir la Premier Solución de Parada II.
13. Observe las reacciones:
 - a. Determinación visual - Leer dentro de los 10 minutos después de añadir la Premier Solución de Parada II.
 - b. Determinación espectrofotométrica - Ajustar el lector de EIA a cero de absorbancia en aire. Limpiar la parte inferior de los pocillos con un pañuelo de papel sin hilas. Leer la absorbancia a 450 o 450/630 nm dentro de los 10 minutos posteriores a la adición de la Premier Solución de Parada II.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. **Lectura visual**
Negativo = incoloro
Positivo = color amarillo definido
2. **Longitud de onda espectrofotométrica única (450 nm)**
Negativo = DO₄₅₀ < 0,120
Positivo = DO₄₅₀ ≥ 0,120
3. **Longitud de onda espectrofotométrica dual (450/630 nm)**
Negativo = DO_{450/630} < 0,070
Positivo = DO_{450/630} ≥ 0,070

Un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori*. Un resultado negativo indica la ausencia de anticuerpos contra *H. pylori*, o que el nivel de IgG es inferior al nivel que este ensayo puede detectar.

Reacciones extremadamente positivas pueden producir un precipitado púrpura o los pocos minutos de parar la reacción.

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales. Los Controles Positivos y Negativos deben emplearse en cada serie de muestras, asegurando de este modo la calidad de los reactivos.

La lectura del Control Negativo deberá ser < 0,120 a 450 nm y < 0,070 a 450/630 nm pero mayor de 0,00. Si el Control Negativo es < 0,00, se debe hacer de nuevo el blanco en aire y volver a leer la placa. La lectura del Control Positivo deberá ser ≥ 0,400 a 450 nm y también a 450/630 nm.

Cualquier pocillo positivo sin color visible debe ser colocado de nuevo en el soporte, su parte inferior limpiada y leído nuevamente.

Los componentes del kit deberán examinarse visualmente cada vez que se usen, observando si existen signos obvios de contaminación microbiana, congelación o derrame.

Como primer paso para determinar la causa de esta falla, repita los test de control. Si se repite la faya luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.

VALORES ESPERADOS

Los estudios relacionados con la epidemiología del *H. pylori* han demostrado que este organismo está presente en todo el mundo.^{12,16} Se ha demostrado que la gastritis causada por *H. pylori* está correlacionada con la edad, el ancestro étnico, el tamaño de la familia y el estrato socioeconómico.^{6,10} A pesar de que los estudios epidemiológicos con respecto a la infección o colonización por *H. pylori* están aumentando continuamente, la vía por la cual los individuos lo adquieren se desconoce hasta el momento.^{3,7,11,13,14}

Los estudios realizados indican que la incidencia de infección en los EE.UU. puede aumentar entre 1-2% anualmente.¹⁰ No es raro ver índices de positividad del 50% en individuos mayores de 60 años. Sin embargo, la frecuencia de infección por *H. pylori* en pacientes diagnosticados con úlceras duodenales, que es aproximadamente de un 80%, ha sido demostrada en pacientes de todas las edades.² La incidencia de positividad vista con *H. pylori* claramente depende de la población de la muestra y de cómo se define esta población.

El test Premier *H. pylori* detecta la presencia de anticuerpos de tipo IgG contra el *H. pylori* en suero o plasma. Los valores esperados para una población determinada deben ser determinados por cada laboratorio. La incidencia de positividad puede variar de acuerdo a la localización geográfica, el método de recolección, manejo y transporte de la muestra, el test empleado, y el ambiente general de salud de la población de pacientes que está siendo estudiada.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El test debe ser utilizado solamente en individuos con síntomas sugerentes de enfermedad gastrointestinal. No se supone que Premier *H. pylori* sea utilizado en pacientes asintomáticos.
- El test es cualitativo y no se debería realizar una interpretación cuantitativa con respecto a los valores.
- Las muestras obtenidas demasiado temprano durante la infección, pueden no contener anticuerpos detectables. Si se sospecha una infección por *H. pylori* y da un resultado negativo, una segunda muestra debe ser obtenida de 2 a 7 semanas más tarde y ser analizada en paralelo con la primera muestra.
- Un resultado de test positivo (presencia de anticuerpo contra *H. pylori*) en individuos sintomáticos solamente infiere una infección activa y, cuando sea posible, debería ser confirmado por aislamiento de la bacteria u otros tests diagnósticos. El test no puede distinguir entre infección activa o inactiva.
- Los resultados del test deben ser utilizados conjuntamente con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y con otros procedimientos diagnósticos.
- Premier *H. pylori* es un test cualitativo que indica solamente la presencia del anticuerpo IgG contra *H. pylori*. Este test no indica la presencia de una enfermedad gastrointestinal.
- Un resultado negativo indica la ausencia del anticuerpo IgG contra *H. pylori* o que el nivel de IgG está por debajo del límite de detección de este test.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

El test Premier *H. pylori* fue evaluado en tres hospitales. Un total de 462 muestras de suero fueron obtenidas a partir de pacientes que presentaban quejas gastrointestinales. Todos los pacientes fueron sometidos a endoscopia. Los resultados obtenidos en el test Premier *H. pylori* fueron comparados con los resultados obtenidos a partir del material de biopsia utilizando pruebas de ureasa rápida para material de biopsia. Los resultados discrepantes fueron elucidados utilizando cortes de tejido con tinción o mediante diagnóstico a través de sintomatología clínica.⁴

	Prueba de Ureasa en biopsia		Resueltos mediante examen de tejido y diagnóstico clínico	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Premier <i>H. pylori</i>				
Positivo	166	102	259	9
Negativo	3	191	3	191

n=462

Sensibilidad Relativa = 98,2% (99,4-94,9)* (166/169) 98,8% (99,6-96,7) (256/262)

Especificidad Relativa = 65,2% (70,4-59,6) (191/293) 95,5% (97,6-91,7) (191/200)

Concordancia Relativa = 77,3% (80,8-73,2) (357/462) 97,4% (98,5-95,5) (450/462)

*Los intervalos de Confianza del 95% que fueron calculados por el método normal están indicados entre paréntesis.

Noventa y tres muestras de biopsias ureasa negativa/Premier *H. pylori* positivas dieron resultado positivo ya sea por diagnóstico tisular o clínico. Nueve muestras de biopsias ureasa negativa/Premier *H. pylori* positivas no indicaron la presencia de *H. pylori* por ninguno de los dos métodos mencionados antes. Las tres biopsias con resultado ureasa positivo/Premier *H. pylori* negativo no fueron consideradas para ser resueltas. El test Premier *H. pylori* fue comparado con la prueba ELISA en micropocillos HM-CAP usada también para la determinación de anticuerpos de tipo IgG contra *H. pylori*. Los resultados discrepantes de esta comparación fueron resueltos ya sea por el test de ureasa para biopsia y/o la determinación de la presencia de *H. pylori* mediante los métodos de tinción histológica.

	EIA Comercial HM CAP			Resueltas por prueba de ureasa en biopsia y/o histología	
	Positivo	Negativo	Ind.	Positivo	Negativo
Premier <i>H. pylori</i>					
Positivo	256	8	4	260	8
Negativo	17	172	5	2	192

n=462

Sensibilidad Relativa = 93,8% (96,1-90,2)* (256/273) 99,2% (99,8-97,2) (260/262)

Especificidad Relativa = 95,5% (97,7-91,5) (172/180) 96,0% (98,0-92,3) (192/200)

Concordancia Relativa = 94,5% (96,2-92,0) (428/453) 97,8% (98,8-96,1) (452/462)

Quince muestras EIA positivas/Premier *H. pylori* negativas y todas las cinco muestras EIA indeterminadas/Premier *H. pylori* negativas dieron resultado negativo al ser analizadas mediante tinción histológica y prueba de ureasa en biopsia. Dos muestras EIA positivas Premier *H. pylori* negativas fueron positivas por ureasa en biopsia, o tinción histológica. Tres muestras *H. pylori* positivas/EIA negativas fueron positivas en las pruebas en biopsia. Una muestra EIA indeterminada/Premier *H. pylori* positiva fue positiva en ureasa en biopsia. Cinco muestras EIA negativas/Premier *H. pylori* positivas y tres EIA indeterminadas/Premier *H. pylori* positivas fueron negativas tanto en la prueba de ureasa en biopsia como en la de tinción histológica.

REPRODUCIBILIDAD

Tres muestras individuales de suero fueron analizadas independientemente, diez veces durante un mismo día. Este proceso fue repetido durante tres días en total. Todas las pruebas fueron realizadas en un centro de estudio clínico utilizando una muestra negativa, una en el límite de positividad y una altamente positiva. El análisis estadístico de estos resultados se presenta en las siguientes tablas.⁴

Variancia dentro de la misma prueba			
Tipo de Suero	Media Mayor	D.E.	C.V.
Negativo	0,013	0,003	23,1%
En el Límite de Pos.	0,201	0,024	11,9%
Positivo Alto	2,518	0,146	5,8%

Variancia entre prueba y prueba			
Tipo de Suero	Media mayor	D.E.	C.V.
Negativo	0,013	0,002	23,1%
En el Límite de Pos.	0,201	0,014	15,9%
Positivo Alto	2,518	0,302	12,0%

Variancia Total de la Prueba			
Tipo de Suero	Media Mayor	D.E.	C.V.
Negativo	0,013	0,004	31,0%
En el Límite de Pos.	0,201	0,039	19,4%
Positivo Alto	2,518	0,332	13,2%

ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA

A. Estudios bacterianos

La especificidad de la prueba Premier *H. pylori* fue ensayada realizando estudios de adsorción con los siguientes aislados clínicos (CI) o cepas ATCC. Un suero seropositivo o seronegativo fue puesto a reaccionar con 3 x 10³ organismos, y el suero adsorbido luego fue analizado con el test Premier *H. pylori*. El suero seropositivo se mantuvo positivo después de la adsorción con cada uno de los organismos excepto la cepa de *H. pylori*. Además, ninguno de los organismos de la lista que se muestra a continuación, cuando fueron puestos a reaccionar con un suero seronegativo, produjeron reacciones positivas falsas.⁴

<i>Campylobacter coli</i> CI	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883
<i>Campylobacter fetus</i> CI	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427
<i>Campylobacter hylintestinalis</i> ATCC 35217	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 33292	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CI
<i>Campylobacter lari</i> CI	<i>Salmonella sp</i> CI
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Serratia liquefaciens</i> ATCC 35551
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	<i>Shigella flexneri</i> CI
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	<i>Shigella sonnei</i> CI
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13407	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I) ATCC 12598
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Streptococcus faecalis</i> CI
<i>Helicobacter cinaedi</i> ATCC 35683	<i>Yersinia enterocolitica</i> CI

B. Estudios en suero:

Los sueros de pacientes que dieron resultado positivo en cultivo, o que presentaron evidencia serológica de las siguientes enfermedades, no dieron reactividad alguna al ser analizados en el test Premier *H. pylori*.⁴

Anticuerpos antinucleares (10)	Rotavirus (4)	Factor reumatoide (4)	Cytomegalovirus (3)
Lupus eritematoso (3)	Sarampión alemán (5)	Influenza A (4)	Coccidioides (3)
Histoplasma (1)	Mononucleosis (16)	Virus de Herpes Simplex (4)	Cryptococcus (1)

DEUTSCH

PREMIER® H. PYLORI

ELISA zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Helicobacter pylori* in humanem Serum und Plasma

REF 606096

IVD In-vitro-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Der Premier *H. pylori* ist ein Enzymimmunoassay (ELISA) zum qualitativen *in vitro* Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Helicobacter pylori* in humanem Serum und Plasma. Die Testergebnisse sollen zur Diagnosestellung von *H. pylori*-Infektionen beitragen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Helicobacter pylori hat stark an Bedeutung für gastrointestinale Erkrankungen gewonnen, seit Marshall und Warren das Vorkommen von Campylobacterartigen Organismen in der Antrum-Mucosa von Patienten mit histologisch nachgewiesener Antrum-Gastritis oder peptischem Ulcus, insbesondere Ulcus duodeni, beschrieben.^{3,15} Obwohl ein Kausalzusammenhang nicht vollständig bewiesen ist, kann die starke Korrelation zwischen dem Vorkommen von *H. pylori* und histologisch gesicherter Gastritis, peptischem Ulcus und Magenkarzinomen nicht länger bestritten werden.^{3,11,20}

Beim Menschen scheint seine ökologische Nische auf Magen und Zwölffingerdarm beschränkt zu sein. Bei Patienten, die den Organismus beherbergen, unterscheidet man zwei Hauptgruppen. Die erste Gruppe hat keine Anzeichen oder Symptome einer Magen-Darmerkrankung und wird als „kolonisiert“ betrachtet. Die zweite Gruppe weist Anzeichen und Symptome einer Magen-Darm-Erkrankung auf und gilt als „infiziert“. Der Prozess, durch den eine Person kolonisiert oder infiziert wird, ist noch nicht geklärt.^{3,7,11,13,14}

Zur Bestimmung von *H. pylori* wurden zwei diagnostische Strategien entwickelt: die erste beruht auf einem direkten Nachweis des Organismus und ist immer noch invasiv. Die zweite, nichtinvasive Methode beruht auf dem Nachweis von Antikörpern gegen *H. pylori*.^{5,9,22}

Diagnostische Tests auf *H. pylori* können als invasiv (Endoskopie, Biopsie) bzw. nicht-invasiv (Serologie, Hamstoff-Atemtest und Stuhl-Antigentest) kategorisiert werden. Bei invasiven Tests wird eine Biopsieprobe aus dem oberen Magen-Darm-Trakt entnommen und mikroskopisch untersucht. Das Gewebe wird für das Anlegen von *H. pylori*-Kulturen herangezogen oder im Urease-Schnelltest untersucht. Diese Vorgehensweise hat den Vorteil, dass aktive Infektionen nachweisbar sind, und zeichnet sich durch eine hohe Spezifität und einen hohen positiven Vorhersagewert aus. Nachteile der invasiven Tests sind u.a. Risiko und Unannehmlichkeit für den Patienten und stellenweise Kolonisierung, die bei der Biopsie nicht erfasst wird. Das Anlegen von Kulturen des Biopsiematerials ist zeitaufwändig und kann durch inhärente technische Schwierigkeiten falsch-negative Ergebnisse erbringen.^{1,2,3,19}

Der Harnstoff-Atemtest (er setzt ¹⁴C oder ¹³C-Harnstoff ein) ist eine nicht-invasive Methode, die *H. pylori* unter Ausnutzung seiner hohen Urease-Aktivität nachweist.^{3, 8, 10} Obwohl der Harnstoff-Atemtest äußerst empfindlich und spezifisch ist, hat er auch eine Reihe erheblicher Nachteile. Der Harnstoff-Atemtest ist zeitaufwändig, erfordert besondere Nachweisgeräte und macht die Einnahme isotopisch markierten Harnstoffs seitens des Patienten notwendig. Der am weitesten verbreitete nicht-invasive Ansatz ist der Nachweis von *H. pylori* durch serologische Identifikation spezifischer Antikörper bei infizierten Patienten. Obwohl dies ein indirekter Ansatz ist, ist die Korrelation zwischen histologischer Gastritis, der Anwesenheit von *H. pylori* und seropositiven Ergebnissen extrem hoch. Die Nachteile dieser Tests sind, daß die meisten bestimmte Anweisungen zur Interpretation benötigen, und viele haben aufgrund von Kreuzreaktionen mit anderen Organismen eine niedrigere Spezifität. Ihre Hauptvorteile sind ihre Geschwindigkeit und hohe Sensitivität.^{3, 18, 21}

Der **Premier H. pylori** ist ein Mikrotiter-Enzymimmunoassay, der IgG-Antikörper nachweist. Der Test verwendet ein durch Ultraschall hergestelltes Zell-Lysat von *H. pylori* (Erfassungs-Antigene). Es müssen keine Berechnungen angestellt werden, und der sichtbare Farbumschlag macht die Interpretation der Ergebnisse objektiv und einfach.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Der **Premier H. pylori** verwendet ein durch Ultraschall hergestelltes Zell-Lysat von *H. pylori*, mit dem die Plastik-Mikrotiter-Kavitäten beschichtet sind. Verdünntes Patienten-Serum wird in den Kavitäten bei 19-27 C inkubiert. Nach einem Waschvorgang werden monoklonale, mit Peroxidase konjugierte Antikörper gegen humane IgG hinzugefügt und die Platte erneut inkubiert. Ungebundenes Konjugat wird weggeschwemmt und Substrat (Premier Substrate II) zugefügt. In Gegenwart von gebundenem Enzym entwickelt sich Farbe. Stopp-Lösung (Premier Stop Solution II) wird hinzugefügt und die Ergebnisse werden mit dem bloßen Auge abgelesen oder spektrophotometrisch bestimmt.

REAGENZIENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

1. **Mikrotiter-Kavitäten mit H. pylori-Antigen beschichtet** - Plastik-Kavitäten, die einzeln abbrechbar sind, beschichtet mit *H. pylori* Antigen
2. **Positiv-Kontrolle** - Menschliches Serum mit IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* in einem Puffer (pH7,3) mit 0,09% Natriumazid.
3. **Negativ-Kontrolle** - Nicht-reaktives humanes Serum in einem Puffer (pH7,3) mit 0,09% Natriumazid.
4. **Probenverdünnungspuffer** - Proteinlösung mit einem Konservierungsmittel (0,1% Natrumazid)
5. **20-fach konzentrierter Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer I)** - Konzentrierte Waschlösung mit einem Konservierungsmittel (0,2% thimerosal).
6. **Enzym-Konjugat** - monoklonale anti-humane IgG mit Peroxidase markiert in einem Puffer mit Konservierungsmittel (0,02% thimerosal).
7. **Substrat-Lösung (Premier Substrate II)** - Puffer mit Harnstoffperoxid
8. **Stopp-Lösung (Premier Stop Solution II)** - 2N Schwefelsäure. **VORSICHT:** Hautkontakt vermeiden, mit Wasser spülen, wenn Hautkontakt auftritt.
9. **Halterung für die Mikrotiter-Kavitäten**
10. **Folie zur Versiegelung der ELISA-Platten**

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Reagenzröhrchen (12 x 75 mm)
2. Destilliertes oder deionisiertes Wasser
3. Präzisionsmikropipetten für 10, 100 und 500 µL
4. Spritzflasche oder automatisches Plattenwaschgerät
5. Stopp-Uhr
6. Meßzylinder
7. **WAHLWEISE:** ELISA-Plattenphotometer für Extinktionsmessungen bei 450 nm oder bei 450/630 nm

VORSICHTSHINWEISE

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Patientenproben können infektiöse Erreger enthalten und sollten als potentiell pathogen gehandhabt und entsorgt werden. Während des Umgangs mit den Proben und der Testdurchführung Einmal-Handschuhe tragen.
3. **VORSICHT:** Das Ausgangsmaterial, aus dem die Kontrollen gewonnen wurden, ist negativ auf **HbsAg/anti-HCV** und **HIV** getestet worden. Keine Testmethode kann jedoch mit völliger Sicherheit ausschließen, daß menschliches Blut HIV, Hepatitis oder andere potentiell infektiöse Erreger überträgt. Diese Reagenzien sollten nach den Biosafety Level 2 - Richtlinien - wie in dem CDC/NIH Handbuch "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories," 2007 oder in der jeweils aktuellsten Ausgabe beschrieben - gehandhabt werden.
4. Alle Reagenzien sollten vor Gebrauch sorgfältig gemischt werden.
5. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse hängt ab vom sorgfältigen Pipettieren, der Einhaltung der Inkubationszeiten, der Temperatur, vom Waschen der Teststreifen sowie vom sorgfältigen Mischen aller frisch hergestellten Lösungen.
6. Alle Reagenzien mit Ausnahme des 20fach konzentrierten Waschpuffers und der Kontrollen werden in der richtigen Verdünnung mitgeliefert.
7. Die Beschichtung der Kavitäten beim Waschen oder Absaugen nicht zerkratzen. Alle Mikrotiter-Kavitäten ohne Unterbrechung waschen und füllen. Während des Waschens darauf achten, daß die Kavitäten gleichmäßig mit Waschpuffer gefüllt sind, und daß keine Reste in den Kavitäten bleiben. Die Kavitäten nicht austrocknen lassen. **Unzureichendes Waschen kann eine erhöhte Hintergrundextinktion verursachen.**
8. Die Anweisungen für die richtige Benützung des Photometers müssen beachtet werden; die Einstellung der richtigen Wellenlänge (450 nm) bzw. der Referenzwellenlänge (630 nm) ist zu überprüfen.
9. Wenn Vergleichswerte mit anderen Testmethoden benötigt werden, sollten beide Tests gleichzeitig durchgeführt werden.
10. Die Stopp-Lösung (Premier Stop Solution II) sollte vorsichtig gehandhabt werden, sie kann Verbrennungen oder Reizungen der Haut hervorrufen.
11. Alle Reagenzien müssen bei 2-8 C gelagert werden und vor dem Testlauf auf 19-27 C gebracht werden.
12. Die Flaschen mit den richtigen farbigen Deckeln wiederverschließen.
13. Nur Einmal-Pipettenspitzen aus Plastik zum Pipettieren der Reagenzien verwenden.
14. Die unbenutzten Mikrotiter-Streifen im Originalbeutel bei 2-8 C lagern. Es ist wichtig, die Streifen vor Feuchtigkeit zu schützen.
15. Reagenzien aus Test-Kits mit unterschiedlicher Chargennummer nicht durcheinanderbringen. Die Testbestandteile nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.
16. Für jede Probe, jede Kontrolle und jedes Reagenz eine eigene Pipettenspitze verwenden. Eine gegenseitige Verunreinigung der Proben könnte zu falschen Ergebnissen führen.
17. Die Kavitäten nicht wiederverwenden.
18. Alle benutzten Testmaterialien in geeigneten Behältern entsorgen. Als potentiell pathogen behandeln.
19. Flaschen senkrecht halten, um eine sorgfältige Zugabe von Tropfen in der richtigen Größe zu erzielen.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

Für weitere Informationen zu den Gefahren- und Sicherheitshinweisen, beziehen Sie sich auf die SDS, die unter folgendem Link verfügbar sind: www.meridianbioscience.com (US version) / www.meridianbioscience.eu (EU version).

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Haltbarkeitsdatum ist auf dem Etikett des Tests angegeben. Der Testkit sollte bei 2-8 C gelagert werden und sofort nach Gebrauch wieder in den Kühlschrank zurückgelegt werden.

PROBENNAHME UND-VORBEREITUNG

1. In diesem Test können Serum oder Plasma verwendet werden. Natriumziträt und EDTA können als Antikoagulantien eingesetzt werden. Der Einfluß anderer Antikoagulantien auf die Testergebnisse des **Premier H. pylori** Tests ist unbekannt. Die Proben müssen mit Standard Labormethoden abgenommen werden.
2. Serum und Plasma kann im Kühlschrank bei 2-8 C bis zu fünf Tage aufbewahrt werden. Wenn der Test erst später durchgeführt werden soll, sollte die Probe eingefroren werden. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen. Eine Serum- / Plasma-Probe, die flockig ist oder Partikel enthält, sollte vor dem Test zentrifugiert werden.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

1. Den gesamten Testkit, einschließlich des Beutels mit den Kavitäten, vor Gebrauch auf 19-27 C bringen.
2. 1fach konzentrierten Waschpuffer nach Bedarf herstellen. Zum Beispiel: 4,0 mL des 20fach konzentrierten Waschpuffers I + 76,0 mL destilliertes oder deionisiertes Wasser reichen aus, um einen Streifen zu waschen. In eine saubere Spritzflasche füllen. Der 1fach konzentrierte Waschpuffer kann bei Raumtemperatur bis zu drei Monaten aufbewahrt werden.
3. Die Kontrollen (Negativ- und Positiv-) müssen mit dem Probenverdünnungspuffer vor dem Test verdünnt werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

1. Für jede zu untersuchende Probe bzw. Kontrolle eine Mikrotiter-Kavität verwenden:
 - a. Kavität für die Negativkontrolle
 - b. Kavität für die Positivkontrolle
 - c. Kavitäten für die Patientenprobe
2. Den Platz jeder Kavität im Halter notieren.
3. Von jeder Patientenprobe, Positiv- oder Negativkontrolle eine 1:50 Verdünnung mit dem Probenverdünnungspuffer herstellen. Diese Verdünnung herstellen, indem 10 µL der Probe, Positiv- oder Negativkontrolle mit 0,5 mL Probenverdünnungspuffer gemischt werden.
4. 100 µL jeder verdünnten Kontrolle (Negativ- und Positiv-) in die dafür vorgesehenen Kavitäten geben. 100 µL der verdünnten Patientenproben in die entsprechenden Kavitäten geben (die Zeit; die für das Einfüllen benötigt wird, sollte 5 Minuten nicht überschreiten).
5. 20 Minuten bei 19-27 C inkubieren. Die Platte vor Zugluft und Staub schützen, um Verdampfung und Verschmutzung zu vermeiden.
6. Die Flüssigkeit aus jeder Kavität durch Umdrehen der Kavitäten und Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen, dabei den Halter fest zusammendrücken, um die Kavitäten am Herausfallen zu hindern. Jede Kavität mit 1fach konzentriertem Waschpuffer füllen (ungefähr 350 µL). Die Kavitäten umdrehen und fest auf der saugfähigen Unterlage ausklopfen. Dieses Vorgehen zweimal wiederholen, so daß insgesamt dreimal gewaschen wird.
7. 2 Tropfen des Konjugats in alle Kavitäten geben.
8. 20 Minuten bei 19-27 C inkubieren.
9. Die Kavitäten dreimal mit 350 µL einfach konzentriertem Waschpuffer pro Kavität waschen wie unter Schritt 6 beschrieben.
10. 2 Tropfen der Substratlösung (Premier Substrate II) in alle Kavitäten geben. Die Platte zur Durchmischung vorsichtig schwenken.
11. 10 Minuten bei 19-27 C inkubieren.
12. In jede Kavität 2 Tropfen Stopp-Lösung (Premier Stop Solution II) geben. Die Platte zur Durchmischung 30 Sekunden lang vorsichtig schwenken. **Achtung:** die anfängliche Farbe einer positiven Reaktion ist blau, nach der Zugabe von Stopp-Lösung (Premier Stop Solution II) wandelt sie sich in gelb.
13. Die Reaktionen ablesen:
 - a. Ablesen mit bloßem Auge: innerhalb von 10 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung (Premier Stop Solution II) ablesen
 - b. Spektrophotometrische Bestimmung: das ELISA-Plattenphotometer gegen Luft abgleichen. Die Unterseite der Kavitäten mit einem fusselfreien Tuch abwischen. Die Extinktion bei 450 nm oder 450/630 nm innerhalb von 10 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung (Premier Stop Solution II) ablesen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

1. **Ablesen mit bloßem Auge:**
Negativ = farblos
Positiv = deutlich gelbe Farbe
2. **Spektrophotometrische Bestimmung bei einfacher Wellenlänge (450 nm)**
Negativ = OD₄₅₀ < 0,120
Positiv = OD₄₅₀ ≥ 0,120
3. **Spektrophotometrische Bestimmung bei zweifacher Wellenlänge (450/630 nm)**
Negativ = OD_{450/630} < 0,070
Positiv = OD_{450/630} ≥ 0,070

Ein positives Testergebnis zeigt das Vorkommen von IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* an. Ein negatives Testergebnis zeigt an, daß keine IgG-Antikörper gegen *H. pylori* vorliegen, oder daß die IgG-Spiegel unter der Nachweisgrenze dieses Tests liegen.

Extrem stark positive Reaktionen können zu einem purpurfarbenen Niederschlag innerhalb weniger Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung führen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. Zulassungsbehördlichen Auflagen durchführen.

Die Positiv- und Negativkontrollen müssen bei jedem Testlauf zur Qualitätssicherung der Reagenzien mitlaufen.

Die Negativ-Kontrolle sollte einen Extinktionswert < 0,120 bei 450 nm und < 0,070 bei 450/630 nm, aber über 0,00 haben. Wenn die Negativ-Kontrolle einen Wert < 0,00 hat, sollte das Plattenphotometer erneut gegen Luft abgelesen werden. Die Negativ-Kontrolle sollte farblos sein, wenn mit bloßem Auge abgelesen wird. Die Positiv-Kontrolle muß einen Wert ≥ 0,400 sowohl bei 450 nm als auch bei 450/630 nm haben.

Jede positive Kavität ohne sichtbare Farbe sollte an der Unterseite der Kavität abgewischt, erneut eingesetzt und abgelesen werden.

Bei jedem Einsatz sollten die Testkit-Bestandteile auf offensichtliche Zeichen mikrobiellen Befalls, Vereisungen oder Undichtigkeiten überprüft werden.

Beim Ermitteln der Ursache des Versagens als Erstes die Kontrolltests wiederholen. **Lassen sich auch bei Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Auslieferer.**

ERWARTETE WERTE

Epidemiologische Studien haben gezeigt, daß *H. pylori* weltweit vorkommt.^{12, 16} Es konnte gezeigt werden, daß die durch *H. pylori* ausgelöste Gastritis mit dem Alter, der ethnischen Zugehörigkeit, der Familiengröße und dem sozioökonomischen Umfeld korreliert.^{6, 10} Während die Erkenntnisse aus epidemiologischen Studien über *H. pylori*-Infektionen oder *-H. Pylori*-Kolonisation stetig wachsen, ist der Infektionsweg zur Zeit noch unbekannt.^{3, 7, 11, 13, 14}

Studien zeigen, daß die Inzidenz der Infektion in den USA mit jedem Lebensjahr um 1-2% steigen kann.¹⁰ Positivitäten von 50% sind nicht ungewöhnlich bei 60jährigen oder noch Älteren. Die Häufigkeit von *H. pylori*-Infektionen bei Patienten mit diagnostiziertem Ulcus duodeni liegt jedoch in jeder Altersgruppe bei ungefähr 80%.¹² Die Positivitäten von *H. pylori* sind eindeutig abhängig von der Bevölkerung, aus der die Proben genommen wurden, und davon, wie sie definiert ist.

Der **Premier H. pylori** Test weist das Vorkommen von IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* im Serum und im Plasma nach. Erwartungswerte für eine bestimmte Bevölkerung sollten für jedes Labor bestimmt werden. Die Positivrate kann in Abhängigkeit von der geographischen Lage, der Methode der Probenabnahme, -handhabung und des -transports, von der angewendeten Methode und den allgemeinen Gesundheitsbedingungen der untersuchten Patientenbevölkerung schwanken.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Der Test sollte nur bei Patienten mit Symptomen, die auf gastrointestinale Erkrankungen hinweisen, eingesetzt werden. **Premier H. pylori** sollte nicht bei asymptomatischen Patienten angewendet werden.
2. Dies ist ein qualitativer Test und aus den Werten sollten keine quantitativen Rückschlüsse gezogen werden.
3. Proben die zu früh im Verlauf der Infektion genommen wurden, weisen eventuell keine nachweisbaren Antikörper-Spiegel auf. Wenn eine *H. pylori*-Infektion vermutet wird, und die Testergebnisse negativ sind, sollte 2 -7 Wochen später eine zweite Probe abgenommen werden und parallel zur ersten untersucht werden.

- Ein positives Testergebnis (d.h. Vorkommen von Antikörpern gegen *H. pylori*) bei symptomatischen Patienten kann nur eine aktive Infektion bedeuten und sollte, wann immer möglich, durch die Isolierung des Bakteriums oder andere diagnostische Methoden bestätigt werden. Der Test kann nicht zwischen aktiven und inaktiven Infektionen unterscheiden.
- Testergebnisse sollten in Verbindung mit allen verfügbaren Informationen aus klinischen oder anderen diagnostischen Untersuchungen des Patienten bewertet werden.
- Der **Premier H. pylori** ist ein qualitativer Test, der nur das Vorkommen von IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* anzeigt. Der Test zeigt nicht an, daß eine gastrointestinale Erkrankung vorliegt.
- Ein negatives Testergebnis zeigt an, daß keine IgG-Antikörper gegen *H. pylori* vorliegen, oder daß die IgG-Spiegel unter der Nachweisgrenze dieses Tests liegen.

LEISTUNGSMERKMALE

Der **Premier H. pylori**-Test wurde in drei Krankenhäusern bewertet. Insgesamt wurden 462 Serumproben von Patienten mit gastrointestinalen Beschwerden genommen. Alle Patienten unterzogen sich einer Endoskopie. Der **Premier H. pylori**-Test wurde mit Ergebnissen verglichen, die aus Biopsiematerial mit Biopsie-Urease-Schnelltests erzielt wurden. Abweichende Ergebnisse wurden anhand von gefärbten Gewebeschnitten und/oder der klinischen Diagnose endgültig eingestuft.⁴

	Biopsie-Urease-Test		Endgültig bewertet durch Gewebeschnitte und klinische Daten	
	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Premier H. pylori				
Positiv	166	102	259	9
Negativ	3	191	3	191

n=462
 Relative Sensitivität = 98,2% (99,4 - 94,9)* (166/169) 98,8% (99,6 - 96,7) (259/262)
 Relative Spezifität = 65,2% (70,4 - 59,6) (191/293) 95,5% (97,6 - 91,7) (191/200)
 Relative Übereinstimmung = 77,3% (80,8 - 73,2) (357/462) 97,4% (98,5 - 95,5) (450/462)
 *95% Vertrauensintervall berechnet mit der Normalmethode in Klammern

Dreißig Proben, die im Biopsie-Urease-Test negativ und im **Premier H. pylori**-Test positiv waren, waren entweder im Gewebeschnitt oder in der klinischen Diagnose positiv. Neun Proben, die im Biopsie-Urease-Test negativ und im **Premier H. pylori**-Test positiv waren, zeigten in keiner der zusätzlichen Untersuchungen einen Hinweis auf *H. pylori*. Die drei Proben, die im Biopsie-Urease-Test positiv und im **Premier H. pylori**-Test negativ waren, wurden keiner weiteren Untersuchung unterzogen. Der **Premier H. pylori**-Test wurde mit dem HM-CAP - Mikrotiter-ELISA auch bezüglich des Nachweises von IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* verglichen. Abweichende Ergebnisse wurden mit dem Biopsie-Urease-Test und/oder dem Nachweis von *H. pylori* durch histologische Färbemethoden endgültig bewertet.

	Konkurrenz-ELISA			Endgültig bewertet durch Biopsie-Urease-Test und/oder Histologie	
	Positiv	Negativ	Unklar	Positiv	Negativ
Premier H. pylori					
Positiv	256	8	4	260	8
Negativ	17	172	5	2	192

n=462
 Relative Sensitivität = 93,8% (96,1 - 90,2)* (256/273) 99,2% (99,8 - 97,2) (260/262)
 Relative Spezifität = 95,5% (97,7 - 91,5) (172/180) 96,0% (98,0 - 92,3) (192/200)
 Relative Übereinstimmung = 94,5% (96,2 - 92,0) (428/453) 97,8% (98,8 - 96,1) (452/462)

Fünfzehn der Proben, die im ELISA positiv und im **Premier H. pylori**-Test negativ waren und alle fünf der Proben, die im ELISA unklar und im **Premier H. pylori**-Test negativ waren, waren sowohl in der Histologie als auch im Biopsie-Urease-Test negativ. Zwei der Proben, die im ELISA positiv und im **Premier H. pylori**-Test negativ waren, waren entweder im Biopsie-Urease-Test oder in der Histologie positiv. Drei der Proben, die im **Premier H. pylori**-Test positiv und im EIA negativ waren, waren im Biopsietest positiv. Eine Probe, die im ELISA unklar und im **Premier H. pylori**-Test positiv war, war im Biopsie-Urease-Test positiv. Fünf der Proben, die im ELISA negativ und im **Premier H. pylori**-Test positiv waren und drei der Proben, die im ELISA unklar und im **Premier H. pylori**-Test positiv waren, waren sowohl in der Histologie als auch im Biopsie-Urease-Test negativ.

REPRODUZIERBARKEIT

Drei individuelle Serumproben wurden unabhängig voneinander je 10mal während eines Tages getestet. Dieses Vorgehen wurde an insgesamt drei Tagen wiederholt. Alle Tests wurden in einem klinischen Studienzentrum mit einer negativen, einer grenzwertig positiven und einer stark positiven Serumprobe durchgeführt. Die statistische Analyse findet sich in den folgenden Tabellen.⁴

Variation innerhalb eines Testlaufs

SERUMTYP	MITTELWERT	SD	CV
Negativ	0,013	0,003	23,1%
Grenzwertig positiv	0,201	0,024	11,9%
Stark positiv	2,518	0,146	5,8%

Variation zwischen den Testläufen

SERUMTYP	MITTELWERT	SD	CV
Negativ	0,013	0,002	23,1%
Grenzwertig positiv	0,201	0,014	15,9%
Stark positiv	2,518	0,302	12,0%

Gesamtvariation der Testläufe

SERUMTYP	MITTELWERT	SD	CV
Negativ	0,013	0,004	31,0%
Grenzwertig positiv	0,201	0,039	19,4%
Stark positiv	2,518	0,332	13,2%

TESTSPEZIFITÄT

A. Studien mit Bakterien

Die Spezifität des **Premier H. pylori**-Tests wurde in Adsorptions-Studien mit den folgenden klinischen Isolaten (CI) oder ATCC-Stämmen getestet. Eine seropositive und eine seronegative Probe ließ man mit 3 x 10⁹ Organismen reagieren und das adsorbierte Serum wurde dann mit dem **Premier H. pylori**-Test analysiert. Das seropositive Serum blieb positiv nach der Adsorption mit allen Organismen, außer mit dem *H. pylori*-Stamm. Hinzu kam, dass alle anderen Organismen mit einem seronegativen Serum keine falsch positiven Reaktionen zeigten.⁴

Campylobacter coli CI
Campylobacter fetus CI
Campylobacter hyointestinalis ATCC 35217
Campylobacter jejuni ATCC 33292
Campylobacter lari CI
Candida albicans ATCC 10231
Citrobacter freundii ATCC 8090
Enterobacter aerogenes ATCC 13048
Enterobacter cloacae ATCC 13047
Escherichia coli ATCC 8739
Helicobacter cinaedi ATCC 35683

Klebsiella pneumoniae ATCC 13883
Proteus vulgaris ATCC 8427
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027
Pseudomonas fluorescens CI
Salmonella sp CI
Serratia liquefaciens ATCC 35551
Shigella flexneri CI
Shigella sonnei CI
Staphylococcus aureus (Cowan I) ATCC 12598
Streptococcus faecalis CI
Yersinia enterocolitica CI

B. Studien mit Serum

Patientenseren, die in der Kultur positiv waren und bei denen serologisch folgende Krankheiten/Faktoren nachgewiesen wurden, reagierten im **Premier H. pylori**-Test nicht.⁴

Anti-nukleäre Antikörper (10)	Rotavirus (4)	Rheumafaktor (4)	Zytomegalie-Virus (3)
Lupus erythematodes (3)	Rubella-Virus (5)	Influenza A (4)	Coccidiodies (3)
Histoplasma (1)	Mononukleose (16)	Herpes-simplex-Virus (4)	Cryptococcus (1)

REFERENCES

- Alpert LC, Graham DY, Evans DJ, Yoshimura, HH Jr, Hazell SL, Evans DG, and Klein PD. 1989. Diagnostic possibilities for *campylobacter pylori* infection. Eur. J Gastroenterol Hepatol. 1:17-26.
- Barthel JS, and Everett ED. 1990. Diagnosis of *campylobacter pylori* infections: The "gold standard" and the alternatives. Rev. Infect. Dis. 12:S107-S114.
- Buck GE. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin Microbiol 1990;Rev. 3:1-12.
- Data on file, Meridian Bioscience, Inc.
- Evans DJ Jr, Evans DG, Graham DY, and Klein PD.. A sensitive and specific serologic test for detection of *campylobacter pylori* infection. Gastroenterology 1989;96:1004-1008.
- Fiedorek SC, Malaty HM, Evans DL, Pumphrey CL, Casteel HB, Evans DJ, Jr, and Graham DY. Factors influencing the epidemiology of *helicobacter pylori* infection in children. Pediatrics. 1991;88:578-582.
- Graham DY. I. *Helicobacter pylori*: Its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. J Gastroenterol Hepatol 1991;6:105-113.
- Graham DY, Klein PD, Evans DJ Jr, Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, and Boutton TW.. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. Lancet i:1174-1177. 1987
- Graham DY, Klein PD, Opekun AR, and Boutton TW. 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 1988;157:777-780.
- Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ Jr, Klein PD, and Adam E. Epidemiology of *helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. gastroenterology. 1991;100:1495-1501.
- Gregson DB and Simor AE. 1991. *Helicobacter pylori* and inflammatory disease of the stomach and duodenum. Stomach and bowel, Sept. 1993. pp.29-30,35-37.
- Loffel RJLF, Stobberingh E, Van Spreuwel JP, Flendrig JA and Arends JW. The prevalence of anti-*helicobacter (campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J Med Microbiol 1991;32:105-109.
- Malaty HM, Graham DI, Klein PD, Evans DG, Adam E, and Evans DJ.. Transmission of *helicobacter pylori* infection. Studies in families of healthy individuals. Scand J Gastroenterol 1991;26:927-932.
- Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB and Gancry RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *campylobacter*. Med J Aust 1985;142:436- 439.
- Marshall BJ and Warren JR. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet i:1311-1314.
- Morris A, Nicholson G, Lloyd G, Haines D, Rogers A, and Taylor D. Seroepidemiology of *campylobacter pyloridis*. N Z Med J 1986;99:657-659.
- Murray DM. Clinical relevance of infection by *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Lett. 1993;15:33-37.
- Nerdeff DG.. Identification of the outer membrane proteins of *campylobacter pyloridis* and antigenic cross-reactivity between *C. pyloridis* and *C. jejuni*. J Gen Microbiol 1987;133:163-170.
- Nichols L, Sughayer M, DeGirolami PC, Balogh K, Pleskow D, Eichelberger K, and Santos M. Evaluation of diagnostic methods for *helicobacter pylori* gastritis. Am J Clin Path 1991;95:769-773.
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteeen DP, Chanu Y, Vogeliman JH, Orentreich N, and Sibley RK. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 1991;325:1127-1131.
- Talley NJ, Newell DG, Ormand JE, Carpenter HA, Wilson WR, Zinsmeister AR, Perez-Perez GI, and Blaser MJ. Serodiagnosis of *helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J Clin Microbiol 1991;293:1635-1639.
- Westblom TU, Madan E, Kemp J, and Subik MA. Evaluation of a rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection. J Clin Microbiol 1988;26:1393-1394.



SN11140

REV. 01/15


 Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
 USA/Corporate Office
 3471 River Hills Drive
 Cincinnati, Ohio 45244
 Telephone: 513.271.3700
 Orders/Customer Service:
 800.543.1980
 Technical Support Center:
 800.343.3858
 Information Fax: 513.272.5432
 Ordering Fax: 513.271.0124


 Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe S. r. L
 Via dell'Industria, 7
 20020 Villa Cortese, Milano
 ITALY
 Tel: +39 0331 43 36 36
 Fax: +39 0331 43 36 16
 Email: info@meridianbioscience.eu
 WEB: www.meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe s.a./n.v.
 2 Avenue du Japon - 1420 Braine l'Alleud
 BELGIUM
 Tel: +32 (0) 67 89 59 59
 Fax: +32 (0) 67 89 59 58
 Email: info.bn@meridianbioscience.eu











Meridian Bioscience Europe France
 34 rue de Ponthieu - 75008 Paris
 FRANCE
 Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40
 Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10
 Email: info.fr@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe b.v.
 Postbus 301 - 5460 AH Veghel
 NETHERLANDS
 Tel: +31 (0) 411 62 11 66
 Fax: +31 (0) 411 62 48 41
 Email: info.bn@meridianbioscience.eu

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE CHART

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guía de símbolos, Erläuterung der graphischen symbole)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusqu'à / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnosikum	EC REP	Authorized Representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG.	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction / tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Reagents IVD reserves a l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi / Contenu suffisant pour <n> tests / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration: 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
		DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz

For technical assistance, call Technical Support Services at (800) 343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at (800) 543-1980.