HELICOBACTER PYLORI VIRCLIA® IgA MONOTEST

REF VCM029 Σ 24

CE Für die *In-vitro*-Diagnostik

ZWECKBESTIMMUNG

Indirekter Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA) zum Nachweis von IgA-Antikörpern gegen *Helicobacter pylori* in menschlichem Serum/Plasma.
Bei diesem Test handelt es sich um einen automatischen, qualitativen Test zur Diagnosehilfe.

EINLEITUNG

Helicobacter pylori hat eine weltweite Verbreitung mit hoher Prävalenz. Die Infektion mit *H. pylori* ist eine gut nachgewiesene Ursache für Magen- oder Zwölffingerdarmgeschwür und die anhaltende Infektion ist ein Risikofaktor für Magenkarzinom und –lymphom. Die Infektion führt zwar zu erhöhten Anteilen spezifischer Antikörper von *H. pylori* des Typs IgG und IgA im Serum, doch ist der IgM-Nachweis für seinen Nutzen im klinischen Labor nicht erwiesen. ELISA-Tests sind für die Diagnose unbehandelter Patienten sensibel, spezifisch und effizient. Der IgA-Nachweis ist weniger sensibel als der IgG-Nachweis. Bei unbehandelten Personen sind IgG und IgA jahrelang erhöht, doch pflegen die Anteile nach der Bekämpfung abzunehmen, was jedoch nicht in allen Fällen geschieht. Da die Infektion so prävalent ist, darf der Test nur bei Personen mit Symptomen angewandt werden. Die Antikörperprävalenz nimmt mit dem Alter zu. Ein positives Ergebnis bedeutet nur, dass Antikörper gegenüber *H. pylori* vorhanden sind. Wurde die Person jedoch nicht behandelt, weist es möglicherweise auf eine aktive Infektion hin. Eine endgültige Diagnose darf nur vorgenommen werden, wenn Anzeichen und klinische Symptome kompatibel sind.
Auf Chemilumineszenz basierende Nachweismethoden finden aufgrund ihres niedrigen Hintergrundes, ihrer Linearität und ihres weiten dynamischen Bereichs große Beachtung. Bei Kopplung mit Enzymimmunoassays ermöglicht die vom Enzym ausgehende Signalverstärkung die Schaffung eines CLIA-Tests (ChemiLumineszenz-ImmunoAssay) mit kürzeren Inkubationszeiten, während die Empfindlichkeit erhalten oder gar verbessert wird.

PRÜFGRUNDSATZ

Die CLIA-Methode basiert auf der Reaktion der Antikörper in der Probe mit dem auf der Polystyroloberfläche der Titelplatte adsorbierten Antigen. Nicht gebundene Immunglobuline werden durch Waschen entfernt. In einem zweiten Schritt bindet sich ein enzymmarkiertes Anti-Human-Globulin an den Antigen-Antikörper-Komplex und das ungebundene Konjugat wird durch Waschen entfernt. Das gebundene Konjugat wird unter Verwendung einer Chemilumineszenzsubstratlösung gebildet. Dies erzeugt eine ""Helligkeitstyp"" -Lumineszenz, die mit einem Luminometer abgelesen werden kann.

EIGENSCHAFTEN DES KITS

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig.
Serumverdünnungspuffer und Konjugat sind gefärbt, um die Abarbeitung des Kits zu erleichtern.
Eine Probenverdünnung ist nicht notwendig.
Die zur Durchführung des Tests erforderlichen Reagenzien werden in der Monodosis-Packung mitgeliefert.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

[1] VIRCLIA® HELICOBACTER PYLORI IgA MONODOSE: 24 Monodosen bestehend aus 3 Reaktionsvertiefungen und 5 Reagenzvertiefungen mit folgender Zusammensetzung:
Vertiefungen A, B, C: Reaktionsvertiefungen; Vertiefungen beschichtet mit in Waschmittel lösliche Antigene von *H. pylori*. Enthält inaktiviertes Antigen. Enthält Material tierischen Ursprungs.
Vertiefung D: Konjugat: Orange; enthält Anti-Human-IgA-Peroxidasekonjugat-Verdünnungsmittel und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel. Enthält Material tierischen Ursprungs.
Vertiefung E: Serum-Verdünnungslösung: blau; Phosphat-Puffer, der Proteinstabilisierer, Anti-Human-IgG und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel enthält. Enthält Material tierischen Ursprungs.
Vertiefung F: Kalibrator: durchsichtig; positive Serum-Verdünnungslösung, die 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel enthält. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.
Vertiefung G: Substratkomponente B: durchsichtig; enthält Peroxid.
Vertiefung H: Substratkomponente A: durchsichtig; enthält Luminol.

Spezielle Materialien, die benötigt, aber nicht mitgeliefert werden:
-VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS (REF:VCMAR).
-Automatischer CLIA-Prozessor.

LAGERUNGS- UND HANDHABUNGSBEDINGUNGEN

Bei 2-8°C lagern. Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums einsetzen. Das Verfallsdatum der Reagenzien ist nur gültig bei Lagerung in gut verschlossenem Zustand bei 2-8°C.

HALTBARKEIT NACH ANBRUCH

VIRCLIA® MONODOSE: Nach dem Öffnen am gleichen Tag verwenden.
Die Substratkomponente A ist lichtempfindlich. Vor Lichteinstrahlung schützen. Die Substratlösungen sollten nicht mit Säure, brennbaren Materialien und starken Oxidations- oder Reduktionsmitteln in Kontakt kommen. Stellen Sie sicher, dass keine metallischen Teile mit dem Substrat in Kontakt kommen, ohne dass deren Kompatibilität zuvor getestet wurde.
VIRCELL, S.L. ist nicht verantwortlich für Fehler, die durch eine falsche Handhabung der Reagenzien dieses Kits verursacht wurden.

WARNUNGEN UND VORSICHTSHINWEISE

1. Einsatz ausschließlich für *in-vitro* diagnostische Zwecke. Nur für den professionellen Einsatz.
2. Das Produkt sollte auf Personal begrenzt werden, das in der Technik geschult wurde.
3. Dem Anwender des Tests wird empfohlen, diese Gebrauchsanleitung vor der Testdurchführung sorgfältig zu lesen und die einzelnen Schritte nachzuvollziehen. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung ist notwendig.
4. Verwenden Sie nur die in dieser Broschüre beschriebenen Protokolle. Wenn die Bedingungen nicht den Angaben entsprechen, sind die Ergebnisse möglicherweise falsch.
5. Tragen Sie beim Umgang mit Proben und Reagenzien persönliche Schutzausrüstung. Waschen Sie Ihre Hände beim Umgang mit Proben und Reagenzien gründlich. Alle Verfahren müssen in Übereinstimmung mit den genehmigten Sicherheitsstandards durchgeführt werden.
6. Für jeden Testschritt neue Pipettenspitzen verwenden. Nur sauberes, vorzugsweise Einweg-Material verwenden.
7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Keine beschädigten Kits verwenden.
9. Verwenden Sie das Kit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr.
10. Wenn der Test oder seine Elemente im Kühlschrank aufbewahrt werden, müssen sie vor der Verwendung Raumtemperatur haben.
11. Lassen Sie die Reagenzien nicht länger als unbedingt erforderlich auf einer anderen Temperatur als empfohlen.
12. Halten Sie Behälter für Proben und Reagenzien geschlossen, wenn diese nicht bearbeitet werden.
13. Vermeiden Sie die Verwendung von Proben, die wiederholten Gefrier-Auftau-Zyklen ausgesetzt sind.
14. Verwenden unter aseptischen Bedigungen, um eine mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
15. Das Reagenz in diesem Kit könnte Substanzen tierischen Ursprungs und/oder humanen Ursprungs und/oder inaktiviertes Antigen enthalten (siehe „Mitgelieferte materialien“). Obwohl Material menschlichen Ursprungs auf Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg), Hepatitis C-Antikörper und Human Immunodeficiency Virus-Antikörper getestet und für negativ befunden wurde, sollten alle Patientenmaterialien und -proben als potenziell infektiös gehandhabt werden und unter Verwendung von Sicherheitslaborverfahren beseitigt werden. Keine aktuelle Methode kann eine vollständige Garantie dafür bieten, dass diese oder andere infektiöse Erreger nicht vorhanden sind. Nicht verwendete Reagenzien und Abfälle gemäß den behördlichen Vorschriften entsorgen.
16. Nur Kit-Bestandteile verwenden. Reagenzien aus Kits unterschiedlicher Chargennummer oder von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden. Nur Bestandteile des VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS Hilfsreagenzien-Kits sind mit allen VIRCLIA®-Referenznummern und -Chargen kompatibel.
17. Verwenden Sie dieses Produkt nicht zusammen mit automatisierten Prozessoren, es sei denn sie wurden zuvor für diesen Zweck validiert.
18. Alle im Zusammenhang mit dem Produkt auftretenden schwerwiegenden Vorfälle sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

Sicherheitsvorkehrungen.
Beachten Sie die folgenden Sicherheitshinweise: Für weitere Informationen steht ein Sicherheitsdatenblatt zur Verfügung.

Mitgelieferte materialien	Gefährliche Inhaltsstoffe:	Gefahrenhinweise (CLP):
[1] VIRCLIA® HELICOBACTER PYLORI IgA MONODOSE	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

Gefahrenhinweise (CLP):	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
Gefahrenpiktogramme (CLP):	GHS07 Gesundheitsgefahr/ Die Ozonschicht schädigend
CLP Signalwort:	Achtung
Sicherheitshinweise (CLP):	P261 – Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/ Aerosol vermeiden. P272 – Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. P280 – Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/ Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P302+P352 – Bei berührung mit der haut: Mit viel Wasser waschen. P321 – Sonderbehandlung (siehe ergänzende Erste-Hilfe-Anweisungen auf diesem Etikett). P333+P313 – Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

BEDINGUNGEN FÜR DIE ENTNAHME, BEHANDLUNG UND AUFBEREITUNG DER PROBE

Blut sollte unter aseptischen Bedingungen durch Venenpunktion und von qualifiziertem Personal entnommen werden. Der Einsatz einer sterilen oder aseptischen Technik gewährleistet die Unversehrtheit der Probe. Serum- und Plasmaproben sollten nach der Entnahme gekühlt aufbewahrt werden (bei 2-8°C); kann der Test nicht innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme durchgeführt werden, so sind die Proben tief zu frieren (-25- -15°C). Proben sollten nicht wiederholt gefroren und aufgetaut werden. Lipämische, hämolytische oder kontaminierte Seren nicht testen. Seren, die grobe Partikel enthalten oder trüb sind, sollten vor dem Einsatz zentrifugiert werden. Serum- und Plasmaproben können gleichermaßen verwendet werden.

PRODUKTVORBEHANDLUNG

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig.
Nur die im VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS-Kit enthaltene Waschlösung VIRCLIA® WASHING SOLUTION muss im Voraus zubereitet werden. Geben Sie 50 ml der VIRCLIA® WASHING SOLUTION (20x) zu 1 Liter Aqua dest. Sollten sich während der Lagerung des Waschpuffer-Konzentrates Salzkristalle gebildet haben, Lösung vor dem Verdünnen auf 37°C erwärmen, bis sich die Kristalle aufgelöst haben. Verdünnte Lösung bei 2-8°C lagern.

TESTVERFAHREN

1. Lassen Sie die VIRCLIA® WASHING SOLUTION (gemäß den Anweisungen verdünnt) vor Gebrauch (etwa 1 Stunde) auf Zimmertemperatur aufwärmen.
2. Befolgen Sie die Bedienungsanleitung des automatisierten Prozessors.

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Jede Charge wird einer internen Qualitätskontrolle unterzogen, bevor einer Freigabe unter Spezifikationen zugestimmt wird, die strenger als die für den Anwender sind. Die endgültigen Ergebnisse der Qualitätskontrolle jedes einzelnen Artikels sind erhältlich.
Dem Kontrollmaterial liegen als Referenz nachweislich intern geprüfte Serumplatten zugrunde.

TEST-VALIDIERUNG FÜR ANWENDER

Jede Monodosis beinhaltet einen Kalibrator (Vertiefung A) und ein Verdünnungsmittel des als negative Kontrolle verwendeten Kalibrators (Vertiefung C). Dadurch können Test und Kit validiert werden.
Die Gerätesoftware bestätigt die für die Kontrollen erhaltenen Daten und zeigt diese im Ergebnisbericht an. Befolgen Sie die Bedienungsanleitung des automatisierten Prozessors. Bei einer Abweichung der Kontrollwerte von den Sollwerten können die Ergebnisse nicht validiert werden.

BERECHNUNGEN UND ERGEBNISAUSWERTUNG

Antikörper-Index=(Proben RLU/Kalibrator RLU)

Index	Interpretation
<0,9	Negativ
0,9-1,1	Grenzwertig
>1,1	Positiv

Bei Proben mit einem Index von unter 0,9 gilt: kein Bestehen von Antikörpern der von diesem Kit gemessenen Spezifizität und Klasse.
Proben mit grenzwertigem Ergebnis müssen erneut getestet werden und/oder eine neue Probe sollte als Bestätigung herangezogen werden.
Bei Proben mit einem Index von über 1,1 gilt: Bestehen von Antikörpern der von diesem Kit gemessenen Spezifizität und Klasse.

VERWENDUNGSBESCHRÄNKUNGEN

1. Das Kit ist für die Untersuchung von humanem Serum/Plasma.
2. Die Ergebnisse der Proben sollten immer in Verbindung mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Ergebnissen interpretiert werden. Eine endgültige Diagnose sollte durch direkte Diagnosetechniken gestellt werden.
3. Dieser Test zeigt nicht den Infektionsort. Er kann eine Erregerisolierung nicht ersetzen.
4. Zu Beginn der Infektion entnommene Proben weisen möglicherweise keine nachweisbaren Antikörperspiegel auf. In diesen Fällen wird empfohlen, eine zweite Probe zu entnehmen, die 14 bis 21 Tage später entnommen wird und parallel zur Originalprobe getestet werden soll, um eine Serokonversion zu bestimmen.
5. IgG-Befunde bei Neugeborenen müssen mit Vorsicht interpretiert werden, da das mütterliche IgG passiv auf den Fötus übertragen werden kann. IgM-Nachweise sind generell besser geeignet, um eine Infektion bei Kindern unter 6 Monaten aufzuzeigen.
6. Bei immunsupprimierten Patienten schließt ein negatives Ergebnis keine vorhandene Infektion aus.
7. Ein nicht nachweisbarer Antikörperspiegel schließt eine mögliche Infektion nicht aus.
8. Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt von einer geeigneten Probengewinnung, Transport, Lagerung und Verarbeitungsverfahren ab.
9. Die Durchführung dieses Tests wurde nicht bei Patienten ohne klinische Anzeichen und ohne Symptome einer Infektion untersucht.
10. Das Ausbleiben einer schnellen und eindeutigen serologischen Antwort auf die Bekämpfung der bakteriellen Infektion muss bei der Weiterverfolgung der Therapie zu einer vorsichtigen Interpretation der serologischen Ergebnisse führen.
11. Positive und negative prädiktive Werte hängen stark von der Prävalenz ab. Falschnegative Testergebnisse sind wahrscheinlicher, wenn die Krankheit weit verbreitet ist. Falschpositive Ergebnisse sind wahrscheinlicher bei niedriger Prävalenz.
12. Die angegebenen Testergebnisse entsprechen komparativen Studien mit kommerziellen prädikativen Produkten in einer definierten Bevölkerungsstichprobe. Es können kleine Unterschiede zwischen verschiedenen Bevölkerungen oder verschiedenen prädikativen Produkten bestehen.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Serum-/Plasmaproben wurden im Vergleich zu einem kommerziellen ELISA-Kit getestet.
Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr		43
Sensitivität (%)		100
	95% CI	86-100
Spezifität (%)		100
	95% CI	82-100
PPV (%)		100
NPV (%)		100
LR+/LR-		-1,01/-0,99

CI: Konfidenzintervall
PPV: Positiver prädiktiver Wert
NPV: Negativer prädiktiver Wert
LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis
LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

GENAUIGKEIT INNERHALB EINES DURCHLAUFS

3 Proben werden individuell jeweils 10 Mal in einem einzelnen automatisierten Assay unter im Wesentlichen unveränderten Bedingungen getestet.
Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe	% CV
Positive Probe	7,9
Kalibrator	7,6
Negativkontrolle	9,5

CV: Variationskoeffizient

GENAUIGKEIT ZWISCHEN DEN DURCHLÄUFEN

3 Proben werden individuell jeweils 5 aufeinander folgende Tage in 2 verschiedenen automatisierten Prozessoren getestet.
Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe	% CV
Positive Probe	9,9
Kalibrator	7,8
Negativkontrolle	11,2

CV: Variationskoeffizient

INTERFERENZEN

Interferenzen - Antinukleären Antikörper / Rheumafaktoren

4 Proben, die positiv auf den antinukleären Antikörpern reagieren, wurden getestet. Mit antinukleären Antikörpern wurde keine Interferenzen festgestellt.

Interferenzen - Endogene Stoffe

Mit jedem Störfaktor wurden 3 Proben getestet. Die Spezifikationen wurden in allen Fällen erfüllt. Bei hämolytischen (8,5 g/L Hämoglobin), ikterischen (6 g/L Bilirubin) oder hyperlipämischen (4 g/L Cholesterin und 2 g/L Tributyrin) Proben wurden keine Störungen festgestellt.

KREUZREAKTIVITÄT

6 Proben, die positiv auf andere Mikroorganismen (*Salmonella typhi* H und *Salmonella typhi* O) wurden getestet.
Mit *Salmonella typhi* H (3 Proben getestet) und *Salmonella typhi* O (3 Proben getestet) wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt.

BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLE

IVD	Für die *In-vitro* Diagnostik
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
x°C y°C	Bei x-y°C lagern
Σ n	Inhalt ausreichend für <n> Bestimmungen
LOT	Chargen-Nummer
REF	Bestell-Nummer
	Gebrauchsanleitung beachten
	Hersteller

LITERATUR

1. Andersen, L. et al. 1998. An analysis of seven different methods to diagnose Helicobacter pylori infections. Scand J Gastroenterol, 33, 24-30.
2. Bazillou, M. et al. 1994. Serum antibody response to the superficial and released components of Helicobacter pylori. Clin Diagn Lab Immunol, 1(3), 310-7.
3. Cutler, A. F. et al. 1995. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose Helicobacter pylori infection. Gastroenterology. 109(1), 136-41.
4. Chen, T. S. et al. 2002. Immunoglobulin G antibody against Helicobacter pylori: clinical implications of levels found in serum. Clin Diagn Lab Immunol, 9(5), 1044-8.
5. Dunn, B. E. et al. 1997. Helicobacter pylori. Clin Microbiol Rev, 10(4), 720-41.
6. Fallone, C. A. et al. 1998. Utility of serology in determining Helicobacter pylori eradication after therapy. Can J Gastroenterol, 12(2), 117-24.
7. Hua, J. S. et al. 1998. Serum IgG response to differentiated antigens of Helicobacter pylori. World J Gastroenterol, 4(3), 249-251.
8. Meijer, B. C. et al. 1997. Evaluation of eight enzyme immunoassays for detection of immunoglobulin G against Helicobacter pylori. J Clin Microbiol, 35(1), 292-4.
9. Pérez-Pérez, G. I. et al. 1997. Value of serology as a noninvasive method for evaluating the efficacy of treatment of Helicobacter pylori infection. Clin Infect Dis, 25(5), 1038-43.
10. Raymond, J. et al. 2000. Immunoblotting and serology for diagnosis of Helicobacter pylori infection in children. Pediatr Infect Dis J, 19(2), 118-21.
11. Thomas, J. E. et al. 1990. Serodiagnosis of Helicobacter pylori infection in childhood. J Clin Microbiol, 28(12), 2641-6.
12. Velan, B. and Halmann, M. 1978. Chemiluminescence immunoassay. A new sensitive method for determination of antigens. Immunochemistry, 15(5), 331-333.
13. Whitehead, T. P. et al. 1979. Analytical luminescence: its potential in the clinical laboratory. Clin Chem, 25(9), 1531-46.
14. Wewer, V. et al. 1998. The prevalence and related symptomatology of Helicobacter pylori in children with recurrent abdominal pain. Acta Paediatr, 87(8), 830-5.
15. Yunoki, N. et al. 2000. Antibody to heat shock protein can be used for early serological monitoring of Helicobacter pylori eradication treatment. Clin Diagn Lab Immunol, 7(4), 574-7.
16. Zhao, L. et al. 2009. Chemiluminescence immunoassay. Trends Analyt Chem, 28(4), 404–415.

Versionsnummer: L-VCM029-DE-01
Datum: 2022/03/15
Vorhergehende Version: 04/2015
Aktualisierungen: Generelle Überarbeitung-Einhaltung von REACH/CLP