

Gastroskopischer Urease Schnelltest zur Detektion von Urease in Magenschleimhaut aus Biopsie-Einzelpunkten (Bestimmung von *H. pylori*)

LAGERUNG und HALTBARKEIT

Bei 8-42°C (64-108°F) sowie gegen Licht, Hitze und flüchtige Reagenzien geschützt aufbewahren. Verwenden Sie den Test nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums, das auf der Schachtelkette bzw. jeder Kassette angegeben ist. Für den Transport bestehen keine gesonderten Sicherheitsvorschriften.

INHALT und zusätzlich benötigte Materialien

50 Tests

1 Gebrauchsanleitung

Zusätzlich benötigte Utensilien, die nicht beigelegt sind:

Uhr

WARNUNGEN und SICHERHEITSHINWEISE

- In Vitro Diagnostikum für den professionellen Gebrauch!
- Nur für die äußere Anwendung!
- Außer Reichweite von Kindern aufbewahren!
- Benutzen Sie den Test nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums!
- Lesen Sie die Gebrauchsanleitung sorgfältig!
- Ziehen Sie die Abdeckung des Tests erst direkt vor dem Gebrauch ab und verwenden Sie jeden Test nur einmal!
- Patientenproben sollten als potentiell infektiös gehandhabt werden.
- Tragen Sie Schutzhandschuhe und waschen Sie sich nach der Testdurchführung sorgfältig die Hände!
- Die verwendeten Testmaterialien (z.B. Enzyme) sind potentiell infektiöse Materialien, von denen jedoch keine Gefahr ausgeht, wenn Sie sich an die Gebrauchsanleitung halten.

ANWENDUNG

Probennahme:

Die zu verwendende Probe sollte frisches Biopsie-Material aus Magen. Der Patient sollte für mindestens vier Wochen vor Probennahme keine Antibiotika, Bismuth-Salze oder Omeprazol eingenommen haben, um das Risiko falsch-negativer Ergebnisse zu minimieren.

Die Biopsie für den Urease-Test kann während der Untersuchung des Magens entnommen werden. Eine Probennahme vom Antrum entlang der großen Krümmung ist zu empfehlen.

Für Patienten nach Eradikation empfiehlt sich eine zusätzliche Biopsie aus Antrum oder Angulus ventriculi. Eine Standard-Biopsie-Zange genügt in der Regel, um ausreichend große Proben (2-3 mm Durchmesser) zu erhalten. Die Probe sollte von normal aussehendem Gewebe entnommen werden, nicht von Gewebe, das von Erosion, Ulzeration oder Blutkontamination betroffen ist. In solchen Geweben könnte *H.pylori* in geringeren Konzentrationen vorhanden sein. Blutige Verschmutzungen könnten die Farbentwicklung des Tests inhibieren.

Hinweis: Biopsieproben schnellstmöglich auf dem Reaktionsfilter platzieren und die Platte umgehend wieder versiegeln (Austrocknen der Probe könnte zu falsch-negativen Ergebnissen führen).

Im Falle einer zu kleinen Probe können mehrere Proben auf dem Filter platziert werden.

Testdurchführung:

1. Test mit Patientendaten beschriften.
2. Abdeckung zurückziehen, um gelben Punkt freizulegen. Die innere Scheibe (eine Cellulose-Membran) dient zur Aufnahme der Probe, der äußere Ring als Indikator-Feld.
3. Probenmaterial umgehend mit einer sterilen Nadel aus der Zange entnehmen und auf der inneren Cellulose-Membran platzieren. Probe auf der Probenfläche verteilen, um größtmögliche Kontaktfläche zu erzielen. Auf gleiche Weise mit einer zweiten und ggf. dritten Probe verfahren.
4. Test sofort wieder verschließen. Stellen Sie sicher, dass die Plastikabdeckung auf der Innenseite der Etikette in die Probenöffnung passt.
5. Test auf Tisch ablegen, fest auf die Plastikabdeckung drücken, um den Magensaft aus der Probe zu drücken. Achtung: eine zu weiche Unterlage könnte dazu führen, dass die Testplatte bricht!
6. Notieren Sie die Zeit, zu der die Probe aufgetragen wurde. Beobachten Sie die Farbentwicklung nach 2, 10, 30 und 60 Minuten.

Interpretation der Ergebnisse:

Wenn Ureaseaktivität (*H. pylori*) vorhanden ist:

- Eine sich ausdehnende rote Zone formiert sich von der inneren Grenze des Indikator-Felds. Die Farbe breitet sich aus, bis das gesamte Indikator-Feld gefärbt ist. Im Zeitverlauf ändert sich die Farbe zu Dunkel-Orange bis Magenta.
- Wenn das Gleichgewicht erreicht ist, bleibt die Farbe stabil von Hell-Pink bis Magenta. Die Farbe der inneren Scheibe (Cellulose-Membran zur Aufnahme der Probe) bleibt unverändert. Mitunter kann sich die Farbe im Falle kleiner Blutmengen ein wenig ändern.

Die Geschwindigkeit der Farbreaktion steht in direkt proportionalem Zusammenhang zur Ureaseaktivität in der Probe.

Wenn keine Ureaseaktivität (*H. pylori*) vorhanden ist:

- Das Indikator-Feld ändert seine Farbe nicht und bleibt gelb.
- Die Farbe der inneren Scheibe bleibt unverändert, mit Ausnahme geringer Farbänderungen durch geringe Mengen Blut aus der Probe.



= Positiv (gelbe Mitte, pinker äußerer Ring)

= Negativ (gelbe Mitte, gelber äußerer Ring)

Das Ergebnis ist positiv, wenn sich das Indikator-Feld (die Membran mit Loch in der Mitte) binnen einer Stunde nach Probenauftrag verfärbt. Je nach Ausmaß einer Infektion mit *H. pylori* können Ergebnisse nach 5 bis 60 Minuten auftreten.

Das Ergebnis ist negativ, wenn das Indikator-Feld die Farbe nicht ändert und auch eine Stunde nach Probenauftrag gelb bleibt.

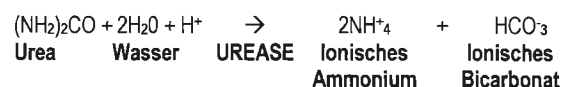
METHODIK

Helicobacter pylori ist ein spiralförmig gekrümmtes Stäbchenbakterium, gram-negativ, neutrophil und microaerophil. Es konnte erstmals 1983 in Biopsieproben von Patienten mit chronischer Gastritis isoliert werden.

In Studien konnte ein starker Zusammenhang zwischen einer *H. pylori* Infektion und dem Auftreten von chronischer Gastritis Typ B, gastroduodenalen Geschwüren sowie bestimmter Arten von Magenkrebs nachgewiesen werden. Eradikation von *H. pylori* führt zumeist zum Abklingen der klinischen Symptome und zur Heilung des Magenepithels.

H. pylori Infektionen können auf verschiedene Weisen nachgewiesen werden (Kultur, immunologische Methoden, PCR). Darüber hinaus kann die Eigenschaft genutzt werden, dass *H. pylori* große Mengen Urease produziert. Urease-Tests sind häufig, da sie einfach, schnell und günstig sind. Darüber hinaus haben sie sich als effektiv in der Eradikationskontrolle erwiesen, wenn 3 Proben pro Test genommen wurden.

Urease ist ein Enzym, das Urea hydrolysiert, wobei Ammonium und Bicarbonat produziert werden, was nach folgender Stöchiometrie zu einer Erhöhung des pH Werts führt:



H. pylori produziert große Mengen hochspezifisch wirkender Urease. Ein Teil des Enzyms ist an der äußeren Membran lokalisiert, was *H. pylori* ein Schnelles Umsetzen von Urea und die Schaffung einer Mikroumgebung mit höherem pH Wert ermöglicht. Dadurch schafft das Bakterium die für die Besiedlung der Magenschleimhaut notwendigen Bedingungen

H. pylori kann Urea bis zu 1000 Mal schneller umsetzen als andere Bakterien im Verdauungstrakt. Darüber hinaus erlaubt das Fehlen von Urease in den Mägen von Säugetieren eine überaus sensitive und spezifische Bestimmung von *H. pylori* mittels Nachweis von Ureaseaktivität.

Testprinzip:

Gold Hpdry besteht aus einer versiegelten Polystyrol-Platte, in der sich Membranen befinden, die Urea, einen pH Indikator, bakteriostatische Reagenzien sowie eine Pufferlösung enthalten.

Die Zellulose-Membranen bestehen aus zwei Bereichen: einer inneren Scheibe (Probenfeld) und einem äußeren Ring (Indikator-Feld). Wenn die auf

das Probenfeld aufgetragene Probe *H. pylori* enthält, wird dieser Urea zu Ammonium metabolisieren, was zu einer Änderung des pH Werts und zu einem Farbumschlag des Indikatorfelds von Gelb zu Magenta führt. Besteht keine Ureaseaktivität, bleibt das Indikator-Feld gelb.

Der Test sollte bei Raumtemperatur (20-25°C) ausgeführt und die Resultate nach einer Stunde festgestellt werden.

LEISTUNGSBEWERTUNG

Sensitivitätsstudien

Der Hersteller hat Studien im Vergleich mit einem anderen kommerziell erhältlichen Ureasetest (**HE-PY TEST™**; Agar basierter Urease-Test) durchgeführt. Es wurde der *H. pylori* Stamm CH-CTX1 zur Untersuchung herangezogen.

Urease-Sensitivitäts-Bewertung

Die Tests wurden mit jeweils 2 µl verschiedener Urease-Verdünnungen von *Canavalia ensiformis* aufgebracht und die Reaktion im Zeitverlauf beobachtet. Die minimal notwendige Urease-Konzentration, um eine Farbänderung zu verursachen, ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

	GOLD Hpdry	HE-PY TEST™
<i>C. ensiformis urease</i>	2,0 mUI in 10 Minuten bei Raumtemperatur	3,0 mUI in 24 Stunden bei 37°C.

H. pylori Urease-Sensitivitäts-Bewertung

H. pylori wurde auf Brucellen-Agar (mit Pferdeblut als Supplement und bei microaeroben Bedingungen) gezogen. Die Kolonien wurden in NaCl 0,9 % suspendiert bis zu einer OD von etwa 0,2 und seriell weiter verdünnt. Je 3 µl der erhaltenen Lösungen wurden auf die Tests aufgebracht. Die Zeit, nach der bei einer gegebenen Bakterien-Konzentration ein positives Ergebnis eintrat, kann der folgenden Tabelle entnommen werden.

N° of bacteria	GOLD Hpdry	HE-PY TEST™
210.000	2 Minuten	30 Minuten
23.000	10 Minuten	24 Stunden
8.000	60 Minuten	Negativ nach 24 h

Die Tabelle zeigt, dass der **HE-PY TEST™** ein Ergebnis, welches mit **GOLD Hpdry** bereits nach 10 Minuten erzielt werden kann, erst nach 24 Stunden liefert.

Klinische Studien

Klinische Studien wurden in den gastroenterologischen Abteilungen zweier chilenischer Krankenhäuser durchgeführt. In diesen wurde die Effizienz von **GOLD Hpdry** und **HE-PY TEST™** verglichen. Zu diesem Zweck wurden pro Patient zwei Proben aus dem gleichen Magen-Areal entnommen und jeweils eine für die beiden Testsysteme verwendet. Bei **GOLD Hpdry** wurden die Ergebnisse nach 10, 30 und 60 Minuten beobachtet, bei **HE-PY TEST™** nach 24 Stunden. Die folgende Tabelle fasst die Ergebnisse zusammen:

Anzahl Proben	GOLD Hpdry			HE-PY TEST™
	10 Minuten	30 Minuten	60 Minuten	24 Stunden
Positive	40	44	47	43
Negative	28	24	21	25
Total	68	68	68	68

Die Ergebnisse für **GOLD Hpdry** nach 30 Minuten waren mit denen des **HE-PY TEST™** nach 24 Stunden vergleichbar.

Limitationen

Falsch negative Resultate

- Falsch negative Resultate können bei **GOLD Hpdry** auftreten, wenn die Bakterienkonzentration gering oder die Besiedelung ungleichmäßig ist.
- Bei zu kleiner Biopsieprobe
- Bei manchen infizierten Patienten (1 bis 5%) ist das Bakterium im Korpus des Magens vorhanden, aber nicht im Antrum (oder umgekehrt). Dies scheint vor allem unter Behandlung mit Omeprazol der Fall zu sein.
- Bei Patienten mit ausgeprägten intestinalen Metaplasien könnte ein Stück Darmepithel biopsiert werden. Da *H. pylori* dieses nicht besiedelt, können falsch negative Ergebnisse auftreten.

Falsch positive Resultate

- Falsch-positive Ergebnisse sind selten und könnten mit jeder Testmethode auf Urease-Basis auftreten, auch bei Atem-Assays. Hypochlorhydrien oder Achlorhydrien können eine Kolonisierung der Magenschleimhaut mit anderen Urease-produzierenden Organismen zur Folge haben und so

falsch positive Resultate liefern. Normalerweise verhindern Azidität und Peristaltik des Magens Bakterienwachstum. Durch Faktoren wie andauernde Omeprazol-Behandlung, Operationen im Bereich des Magens oder perniziöse Anämie (Morbus Biermer) kann die Magenschleimhaut ein passendes Substrat für Bakterienwachstum bieten und damit das Risiko für chronische Gastritis und Adenokarzinome erhöhen.

- Eine langsame Entwicklung positiver Resultate kann bei Patienten auftreten, die unter andauernder Behandlung mit Protonen-Pumpen-Inhibitoren stehen oder Anomalien der Magenbeweglichkeit aufweisen, bei denen jedoch kein weiterer *H. pylori* Nachweis erfolgen kann (durch Serologie, Zellkultur oder Histologie). Dies könnte auf eine Überinfektion der Magenschleimhaut (mit anderen Bakterien) hindeuten und sollte durch den behandelnden Arzt weiterverfolgt werden.
- Andere Vertreter der Gattung *Helicobacter* (*H. heilmannii*, *H. felis*) könnten in der Magenschleimhaut nachgewiesen werden. Diese besiedeln regelmäßig Haustiere, eine Besiedelung des Menschen kann daher als Zoonose betrachtet werden. Auch diese werden mit Gastritis und Geschwüren des Magens in Zusammenhang gebracht. Etwa 0,5 % endoskopierter Patienten weisen eine Infektion mit einem anderen *Helicobacter*-Vertreter auf. Diese Vertreter könnten zu sich langsam entwickelnden, (falsch) positiven Ergebnissen führen.

Qualitätskontrollen:

Externe Kontrollen:

Der Test weist keine interne Qualitätskontrolle auf. "Good laboratory practice" („GLP“) empfiehlt den Einsatz externer Kontrollen. Positive und negative Kontrollen sind bei CARE diagnostica auf Anfrage verfügbar. Bei Handhabung in Übereinstimmung mit dieser Bedienungsanleitung sind korrekte Ergebnisse zu erwarten.

PROBLEMBEHANDLUNG

Problem	Möglicher Hintergrund
Die Reaktion startet schnell, aber nach einiger Zeit verschwindet die Farbreaktion, der Test kehrt zu gelber Farbe zurück.	Wassermangel: - Zu kleine Probe verwendet - Probe im Verlauf der Durchführung eingetrocknet - Inkorrekte Vorbereitung und Handhabung
Farbreaktion betrifft nur Teil der Membran	Probenauftrag nicht mittig
Positives Ergebnis ist widersprüchlich gegenüber Alternativmethoden	Mögliche Überinfektion aufgrund von Hypochlorhydrie oder Achlorhydrie

Zeichenerklärung

IVD

REF

☞

y

v

w

CE

"In-vitro-Diagnostikum"

"Bestellnummer, Katalognummer"

"Gebrauchsanweisung vor Testdurchführung sorgfältig lesen"

"Nicht zur Wiederverwendung"

Ablaufdatum

"LOT Nummer, Chargennummer"

"CE Symbol" – dieses Produkt erfüllt die Vorgaben der Richtlinie 98/79/EG des Europäischen Parlaments und des Rats über In-Vitro-Diagnostika vom 27. Oktober 1998



Hersteller: GrupoBios S.A., Av. Zafartu 1482, Santiago, Chile

EC REP

Authorisierter Repräsentant in Europa: Emergo Europe, Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands

LITERATUR

1. Lothar Thomas, Labor und Diagnose – Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik, 5. Auflage, TH-Books

Distribution:

MD Doctors Direct (Deutschland) GmbH
Max-Stromeyer Strasse 160
78457 Konstanz

T: 0800 000 7291 1

F: 0800 000 7291 9

dach@mddoctorsdirect.com