

### 1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® H. pylori Ag Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum qualitativen Nachweis von *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)-Antigenen in humanen Stuhlproben. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von *H. pylori*-Infektionen bestimmt (siehe Punkt 12. „Grenzen des Tests“). Die Testdurchführung ist nicht automatisiert und erfordert keine spezielle Schulung oder Qualifikation. Der NADAL® H. pylori Ag Test ist nur für die professionelle patientennahe Anwendung und den Laborgebrauch durch Fachpersonal des Gesundheitswesens ausgelegt.

### 2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

*Helicobacter pylori*, auch bekannt als *Campylobacter pylori*, ist ein spiralförmiges, gramnegatives Bakterium mit typischen Geißeln. Das Bakterium infiziert die Magenschleimhaut, indem es ein vakuolisierendes Zytotoxin A (VacA) produziert. Es verursacht verschiedene Magenkrankungen, wie z.B. Dyspepsie, Gastritis oder Geschwüre im Magen und Zwölffingerdarm. *H. pylori* wird als Karzinogen (Typ I) eingestuft und kann das Risiko der Bildung von Magenadenokarzinomen erhöhen.

Es wurden verschiedene *H. pylori*-Stämme isoliert. Ein Stamm, der das Cytotoxin-assoziierte-Gen A (CagA)-Antigen produziert, wirkt stark immunogen und hat eine besondere klinische Bedeutung auf Grund seiner Assoziation mit zytotoxischen Faktoren. In diverser Fachliteratur wurde beschrieben, dass infizierte Patienten, die Antikörper gegen CagA besitzen, ein fünfmal höheres Magenkrebsrisiko aufweisen, als eine mit einem CagA-negativen Bakterienstamm infizierte Referenzgruppe. Das Vorhandensein von CagA-Antikörpern entscheidet über die Persistenz der Infektion und hat Einfluss auf Geschwürbildungen.

Das CagA-Antigen scheint durch eine Bindung mit anderen Antigenen, wie CagI und CagC, Auslöser einer plötzlichen Entzündungsreaktion zu sein, welche sowohl Magen- geschwürbildungen, allergische Reaktionen und das Nachlassen von Therapiewirksamkeiten zur Folge haben kann.

Im Moment existieren verschiedene invasive und nicht-invasive Methoden, um *H. pylori*-Infektionen nachzuweisen.

Invasive Methoden, die eine Endoskopie der Magenschleimhaut mit einer histologischen Untersuchung, bakteriellem Nachweis und Ureasetest erfordern, sind kosten- und zeitaufwendig.

Nicht-invasive Methoden umfassen klassische ELISA, Immuno- blots und Atemtests. Letztere sind sehr kompliziert und wenig selektiv.

### 3. Testprinzip

Der NADAL® H. pylori Ag Test ermöglicht den Nachweis von *H. pylori*-Antigenen durch visuelle Interpretation der Farbentwicklung auf dem internen Teststreifen. Anti-*H. pylori*-Antikörper sind im Testlinienbereich (T) der Membran immobilisiert. Während der Testung reagiert die Probe mit anti-*H. pylori*-Antikörpern, die mit farbigen Partikeln konjugiert und auf dem Konjugat-Pad der Testkassette vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang und interagiert mit den

Reagenzien auf der Membran. Wenn in der Probe genügend *H. pylori*-Antigene vorhanden sind, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich (T) der Membran. Das Vorhandensein dieser farbigen Linie deutet auf ein positives Ergebnis hin, während ihre Abwesenheit auf ein negatives Ergebnis hinweist.

Das Erscheinen einer farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

### 4. Bestandteile der Testpackung

- 20 NADAL® H. pylori Ag Testkassetten
- 20 Probennahmeröhrchen mit Puffer „Buffer“\*
- 1 Gebrauchsanweisung

\*Enthält folgendes Konservierungsmittel: ProClin™ 300: <0,03%

Gemäß Verordnung (EC) Nr. 1272/2008 CLP ist keine Gefahrenkennzeichnung erforderlich. Die Konzentrationen sind unterhalb der Freigrenzen.

### 5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter (geeignet für das zu testende Probenmaterial)
- Optional: Stuhlfänger
- Timer

### 6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Test-Kits sollten bei 2-30°C bis zum angegebenen Verfallsdatum gelagert werden. Die Testkassetten sind bis zum auf dem Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum stabil. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Test-Kits nicht ein. Verwenden Sie die Tests nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie die Bestandteile des Test-Kits nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosier- vorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

### 7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Test- durchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Keine Bestandteile des Test-Kits verwenden, wenn die Primärverpackung beschädigt ist.
- Tests sind nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Geben Sie Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld).
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigenes Probennahmeröhrchen verwendet werden.

- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Verwenden Sie den Puffer nicht, wenn er Verfärbungen oder Trübungen aufweist. Verfärbungen oder Trübungen können ein Anzeichen für eine mikrobielle Kontamination sein.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits gearbeitet wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Gesundheitszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

### 8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

#### Hinweise zur Probennahme und -lagerung:

Der NADAL® H. pylori Ag Test ist nur für den Gebrauch mit humanen Stuhlproben ausgelegt. Stuhlproben sollten in sauberen und trockenen Probensammelbehältern ohne Konservierungsmittel oder Transportmedien gesammelt werden. Urin und übermäßige Verdünnung der Proben mit Toilettenwasser können zu fehlerhaften Testergebnissen führen.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht über einen längeren Zeitraum bei Raumtemperatur auf. Verdünnte und unverdünnte Stuhlproben können bei 15-30°C bis zu 1 Stunde und bei 2-8°C bis zu 72 Stunden gelagert werden. Bringen Sie die Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur.

Wenn Proben versendet werden sollen, sollten diese unter Einhaltung von geltenden Vorschriften für den Transport ätiologischer Krankheitserreger verpackt werden.

#### Probenvorbereitung:

1. Halten Sie das Probennahmerröhrchen aufrecht und entnehmen Sie den Probennehmer durch Abdrehen der hellblauen Verschlusskappe. Achten Sie darauf, dass Sie keine Pufferlösung aus dem Probennahmerröhrchen verschütten oder verspritzen.
2. Sammeln Sie Proben, indem Sie den Probennehmer an 3 verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe stechen. Dabei ist ein Aufschaukeln des Stuhls zu vermeiden.



**Hinweis:** Bitte achten Sie darauf, den Probennehmer 3 Mal hintereinander in die Stuhlprobe zu stechen. Geben Sie den Probennehmer zwischendurch NICHT zurück in das Röhrchen und achten Sie weiterhin darauf, dass keinerlei Flüssigkeit aus dem Röhrchen entweicht. Die Beschaffenheit der Probe und das Einhalten dieser Anweisungen hat Auswirkungen auf Ihr Testergebnis.



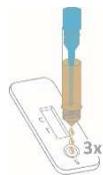
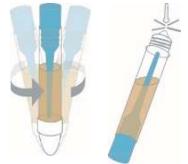
3. Geben Sie den Probennehmer mit der Stuhlprobe wieder ins Probennahmerröhrchen und drehen Sie die hellblaue Verschlusskappe fest zu.
4. Schütteln Sie das Probennahmerröhrchen, damit sich die Stuhlprobe vollständig mit dem Puffer vermischt.



### 9. Testdurchführung

**Bringen Sie die Tests, im Puffer extrahierte Proben und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).**

1. Entnehmen Sie die NADAL® H. pylori Ag Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und verwenden Sie sie so schnell wie möglich. Für optimale Ergebnisse sollte der Test unverzüglich nach der Öffnung des Folienbeutels durchgeführt werden. Kennzeichnen Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation.
2. Legen Sie die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche.
3. Schütteln Sie das Probennahmerröhrchen, um eine gute Proben dispersion zu gewährleisten.
4. Schrauben Sie die weiße Verschlusskappe ab und brechen Sie die Spitze des Röhrchens mit einem Papiertuch ab.
5. Halten Sie das Probennahmerröhrchen senkrecht und geben Sie 3 Tropfen der Probenlösung in die Probenvertiefung (S) der Testkassette.



**Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung (S) und geben Sie keine Flüssigkeit in das Ergebnisfenster.**

6. Starten Sie den Timer.
7. Warten Sie darauf, dass die farbige Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Testergebnis nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



### 10. Testauswertung

#### Positiv

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T).



**Hinweis:**

Die Farbintensität im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der in der Probe vorhandenen Analytkonzentration variieren. Jede Farbtonung im Testlinienbereich (T) sollte als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

**Negativ**

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C). Im Testlinienbereich (T) erscheint keine farbige Linie.

**Ungültig**

Die Kontrolllinie (C) erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.



Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

**11. Qualitätskontrolle**

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die *Gute Laborpraxis (GLP)* empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

**12. Grenzen des Tests**

- Der NADAL® H. pylori Ag Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch ausgelegt. Der Test sollte nur für den qualitativen Nachweis von *H. pylori*-Antigenen in humanen Stuhlproben verwendet werden.
- Weder der quantitative Wert noch die Steigerungsrate/Senkungsrate der Konzentration von *H. pylori*-Antigenen kann mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.
- Die Genauigkeit des Tests ist von der Qualität der Probe abhängig. Falsche Ergebnisse können von einer unsachgemäßen Probenahme oder Probenlagerung herrühren (siehe Punkt 8. „Probenahme, -vorbereitung und -lagerung“).
- Der NADAL® H. pylori Ag Test zeigt nur das Vorhandensein von *H. pylori*-Antigenen in der Probe und sollte nicht als einziges Kriterium für eine Diagnose verwendet werden.
- Während bestimmter Antibiotika-Behandlungen, kann die Konzentration des *H. pylori*-Antigens so abnehmen, dass sie unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt. Daher sollte die Diagnose während einer Antibiotika-Behandlung mit Vorsicht gestellt werden.

- Wie bei allen diagnostischen Tests sollten alle Ergebnisse im Zusammenhang mit weiterer klinischer Information, die dem Arzt zur Verfügung steht, ausgewertet werden.
- Sollte das Testergebnis negativ ausfallen, klinische Symptome aber weiter anhalten, empfiehlt es sich, zusätzliche Testungen unter Verwendung anderer klinischer Methoden durchzuführen. Ein negatives Ergebnis schließt zu keinem Zeitpunkt eine mögliche *H. pylori*-Infektion aus.

**13. Leistungsmerkmale des Tests****Klinische Leistungsmerkmale****Diagnostische Sensitivität und Spezifität**

Der NADAL® H. pylori Ag Test wurde mit klinischen Stuhlproben im Vergleich zu Referenzmethoden wie Biopsie (Bakterienkultur), Histologie und einem Urease-Schnelltest (RUT) evaluiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

NADAL® H. pylori Ag Test	Biopsie/Histologie/RUT		
	Positiv	Negativ	Total
Positiv	114	2	116
Negativ	2	195	197
Total	116	197	313

Diagnostische Sensitivität: 98,28% (93,91% - 99,79%)\*

Diagnostische Spezifität: 98,98% (96,38% - 99,88%)\*

Gesamtübereinstimmung: 98,72% (96,76% - 99,65%)\*

\*95% Konfidenzintervall

**Analytische Leistungsmerkmale****Nachweisgrenze**

Die Nachweisgrenze des NADAL® H. pylori Ag Tests liegt bei 1 ng/mL rekombinatem *H. pylori* Antigen.

**Messbereich**

Bei der Testung von Proben mit einer Antigenkonzentration von 500 ng/mL rekombinatem *H. pylori*-Antigen wurde keine Beeinträchtigung der Ausbildung der T-Linie (Prozoneneffekt) beobachtet. Somit liegt der Messbereich des Tests zwischen 1 ng/mL und mindestens 500 ng/mL. Höhere Konzentrationen wurden nicht getestet. Falls Sie einen Prozoneneffekt vermuten, verdünnen Sie die Probe mit dem Puffer aus einem neuen Probenahmeröhrchen und wiederholen Sie die Messung.

**Analytische Spezifität****Kreuzreaktivitätsstudie**

Negative Proben wurden mit den folgenden potentiell kreuzreagierenden Bakterien und Viren versetzt und mit dem NADAL® H. pylori Ag Test bei der Konzentration von 1,0 x 10<sup>9</sup> Mikroorganismen/mL getestet:

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Gruppe C <i>Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella enterica</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

Gruppe <i>B Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

- Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. *Amer. J. Gastroenterology*. (1987), 82(4): 292-96.
- Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. *Am J. Med.* 1996; 100:355-415.
- Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. *Am J Gastroenterol.* 1996;91:1112-1115.

Bei der Testung mit dem NADAL® H. pylori Ag Test wurde keine Kreuzreaktivität mit den Proben beobachtet.

#### Interferenzstudie

Negative und schwach positive Proben wurden mit den folgenden potentiell interferierenden Substanzen mit den unten angegebenen Konzentrationen versetzt und zeigten keine Interferenz mit dem NADAL® H. pylori Ag Test.

Substanz	Konzentration	Substanz	Konzentration
Hämoglobin	10 mg/mL	Ibuprofen	250 µg/mL
Acetaminophen	0,2 mg/mL	Naproxen	250 µg/mL
Acetylsalicylsäure	0,2 mg/mL	Salicylsäure	250 µg/mL
Bilirubin	10 mg/mL	Metronidazol	0,12 mg/mL
Triglyceride	50 mg/mL	Chloroquin	0,2 mg/mL
Humanes Serumalbumin	200 mg/mL	Efavirenz	0,12 mg/mL
Kreatin	1 mg/mL	Rifampicin	50 µg/mL
Cyclobenzaprin	250 µg/mL	Ethanol	1%

Rev. 0, 2022-05-25 OM/KRM

#### Präzision

##### Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit wurde durch das Testen von 20 Replikaten von negativen, schwach, mittel und stark positiven Proben mit 3 unabhängigen Chargen der NADAL® H. pylori Ag Tests bestimmt. >99% der Proben wurden richtig bestimmt (20/20 korrekte Testungen je Konzentration, 95%-Konfidenzintervall: 95,5 - 100%). Der NADAL® H. pylori Ag Test zeigte eine akzeptable Wiederholbarkeit.

##### Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde durch das Testen von 5 Replikaten von negativen, schwach, mittel und stark positiven Proben bestimmt. Die Testungen wurden an 5 verschiedenen Tagen von 5 Anwendern mit 3 unabhängigen Chargen der NADAL® H. pylori Ag Tests durchgeführt. >99% der Proben wurden richtig bestimmt (375/375 korrekte Testungen je Konzentration, 95%-Konfidenzintervall: 99% - 100%). Der NADAL® H. pylori Ag Test zeigte eine akzeptable Reproduzierbarkeit.

#### 14. Meldung schwerwiegender Vorkommnisse

Bei schwerwiegenden Vorkommnissen im Zusammenhang mit der Leistung des NADAL® H. pylori Ag Tests informieren Sie bitte unverzüglich die nal von minden GmbH und die zuständige Behörde. Wenn möglich, den verwendeten Test und die entsprechenden Bestandteile des Test-Kits **nicht** entsorgen.

#### 15. Referenzen

- Marshall, BJ, McGeechie, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. *Med. J. Australia*. (1985), 149: 439-44.
- Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. *New England J. Med.* (1990), 322: 909-16.