

VIROTECH Helicobacter pylori IgA ELISA
(H. pylori IgA ELISA)

Bestell-Nr.: EC143A00

VIROTECH Helicobacter pylori IgG ELISA
(H. pylori IgG ELISA)

Bestell-Nr.: EC143G00

Farbcodierung: IgA: blau metallic/schwarz
IgG: blau metallic

NUR FÜR IN-VITRO-DIAGNOSTIK



Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Deutschland

Tel.: +49 6074 23698-0

Fax: +49 6074 23698-900

E-Mail: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com

Webseite: clinical.goldstandarddiagnostics.com



Inhalt

1. Verwendungszweck.....	3
2. Diagnostische Bedeutung.....	3
3. Testprinzip.....	3
4. Packungsinhalt	4
4.1 IgG Testkit	4
5. Lagerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien	4
6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise.....	4
7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert).....	5
8. Testdurchführung	5
8.1 Untersuchungsmaterial.....	5
8.2 Vorbereitung der Reagenzien	5
8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung.....	5
8.4 Einsatz von ELISA-Prozessoren	6
9. Testauswertung	6
9.1 Testfunktionskontrolle.....	6
9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)	6
9.3 Auswertungsschema IgG und IgA	7
9.4 Grenzen des Tests	7
10. Leistungsdaten	7
Sensitivität und Spezifität	7
10.1 Durchseuchung (erwartete Werte)	8
10.2 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit).....	8
10.3 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)	8
11. Literatur	8
12. Testablaufschemata.....	9

1. Verwendungszweck

Der ELISA Testkit dient zum qualitativen und semiquantitativen Nachweis von *Helicobacter pylori*-spezifischen IgG- bzw. IgA-Antikörpern in Humanserum.

2. Diagnostische Bedeutung

Helicobacter (H.) pylori ist ein auf die Magenschleimhaut spezialisierter gramnegativer Keim, der weltweit etwa 500.000 Todesfälle durch Magenkarzinom verursacht (1, 6).

Erworben wird die Infektion in der Regel in der Kindheit. Die Übertragung erfolgt von Mensch zu Mensch, wobei der enge Kontakt innerhalb der Familie und der sozioökonomische Status eine wichtige Rolle spielen. Dementsprechend ist die Prävalenz in den Entwicklungsländern deutlich höher als in den Industrienationen (7). In Deutschland liegt die Durchseuchung für Erwachsene bei ca. 30% (5).

Eine *H. pylori* Infektion persistiert lebenslang und verursacht eine chronische Gastritis, die häufig ohne klinische Symptome bleibt. Bei 20% der Betroffenen jedoch treten Komplikationen in Form eines Magengeschwürs (Ulcus ventriculi), Zwölffingerdarmgeschwürs (Ulcus duodeni), Magenkarzinoms oder einem MALT- Lymphom (mucosa-associated lymphatic tissue) auf (5).

Durch eine Antibiotika-Therapie ist die Heilung der Ulkuserkrankungen und des MALT-Lymphoms im Frühstadium möglich (5). Die frühzeitige Behandlung kann der Entstehung eines Magenkarzinoms entgegenwirken, d.h. eine schnellst mögliche Diagnostik der *H. pylori* Infektion sollte angestrebt werden.

Bei Patienten ohne Vorbehandlung kann in 80%-96% der Fälle der Keim vollständig beseitigt werden (2). Die Rezidivinfektion nach erfolgreicher *H. pylori* Eradikation ist sehr gering (ca. 1% pro Jahr) (7). Wurde bereits einmal eine Antibiotika Therapie durchgeführt, so sind die Erfolgsquoten bei weiteren Behandlungen aufgrund der zunehmenden Antibiotika-Resistenzen niedriger. Aus diesem Grund wird empfohlen, bei 1-mal vorbehandelten Patienten *H. pylori* aus Magenbiopsien kulturell nachzuweisen und eine Empfindlichkeitstestung durchzuführen (7,8).

Zum Nachweis einer *H. pylori* Infektion können invasive und nicht-invasive Methoden genutzt werden. Zu den invasiven Verfahren zählt der Urease-Schnelltest, die Histologie, die Kultur und die PCR. Bei den genannten Methoden wird der Erreger aus entnommenen Biopsien nachgewiesen. Zu den nicht-invasiven Untersuchungen gehören der Harnstoff-Atemtest, der Stuhl-Antigentest und der Nachweis von Antikörpern aus dem Serum. Alle Tests haben Vor- und Nachteile und sind für sich alleine nicht absolut genau. Die Auswahl der Methode sollte daher anhand der vorliegenden Fragestellung getroffen werden (7).

Die Serologie findet Einsatz

- als Erstuntersuchung bei nicht vorbehandelten Patienten (2)
- bei der Therapiekontrolle im Langzeitverlauf (1)
- bei seroepidemiologischen Fragestellungen (3).

Die Serologie ist indiziert in Fällen mit verminderter Keimdichte z.B. bei:

- ausgeprägter Atrophie der Magenschleimhaut
- Magenblutung
- Einnahme von Protonenpumpeninhibitoren.

Während alle anderen Methoden in den genannten Fällen falsch negativ sein können, ist der Nachweis *H. pylori* spezifischer Antikörper mit gleichbleibender Sensitivität möglich (2).

3. Testprinzip

ELISA zum Nachweis von IgG- und IgA-Antikörpern in Humanserum

Der im Humanserum gesuchte Antikörper bildet mit dem auf der Mikrotiterplatte fixierten Antigen einen Immunkomplex. Nicht gebundene Immunglobuline werden durch Waschprozesse entfernt. Mit diesem Komplex verbindet sich das Enzym-Konjugat. Nicht gebundene Immunglobuline werden wiederum durch Waschprozesse entfernt. Nach Zugabe der Substratlösung (TMB) entsteht durch Enzymaktivität (Peroxidase) ein blauer Farbstoff, der nach Zugabe der Stopplösung nach Gelb umschlägt.

Immunoblotverfahren zum Nachweis von IgG- und IgA-Antikörpern in Humanserum

Der *Helicobacter pylori* LINE von VIROTECH bietet den Vorteil, daß eine Antikörperbildung gegen spezifische Virulenzfaktoren – z.B. CagA und VacA – von *H. pylori* nachweisbar sind.

4. Packungsinhalt

4.1 IgG Testkit

1. **1 Mikrotiterplatte** bestehend aus 96 mit Antigen beschichteten, abbrechbaren Einzelkavitäten, lyophilisiert
2. **PBS-Verdünnungspuffer, (blau, gebrauchsfertig), 2x50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
3. **PBS-Waschlösung (20x konzentriert), 50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
4. **IgG negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
5. **IgG cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
6. **IgG positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
7. **IgG-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
8. **Tetramethylbenzidin-Substratlösung (3,3',5,5'TMB), 11ml**, gebrauchsfertig
9. **Citrat-Stopplösung, 6ml**, enthält ein Säuregemisch

4.2 IgA Testkit

1. **1 Mikrotiterplatte** bestehend aus 96 mit Antigen beschichteten, abbrechbaren Einzelkavitäten, lyophilisiert
2. **PBS-Verdünnungspuffer, (blau, gebrauchsfertig), 2x50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
3. **PBS-Waschlösung (20x konzentriert), 50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
4. **IgA negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
5. **IgA cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
6. **IgA positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
7. **IgA-Konjugat 2 (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit FCS und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
8. **Tetramethylbenzidin-Substratlösung (3,3',5,5'TMB), 11ml**, gebrauchsfertig
9. **Citrat-Stopplösung, 6ml**, enthält ein Säuregemisch

5. Lagerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien

Testkit bei 2-8°C aufbewahren. Die Haltbarkeit der einzelnen Komponenten ist auf dem jeweiligen Etikett vermerkt; Kit-Haltbarkeit siehe Qualitätskontrollzertifikat.

1. Nach Entnahme der benötigten Einzelkavitäten die restlichen Einzelkavitäten/Streifen in verschlossenem Beutel mit Trockenmittel bei 2-8°C lagern. Reagenzien sofort nach Gebrauch wieder bei 2-8°C lagern.
2. Das gebrauchsfertige Konjugat und die TMB Substratlösung sind lichtempfindlich und müssen im Dunkeln aufbewahrt werden. Kommt es durch Lichteinfall zu einer Farbentwicklung der Substratlösung, so ist diese zu verwerfen.
3. Nur die für den Testansatz benötigte Menge vom gebrauchsfertigen Konjugat bzw. TMB entnehmen. Zuviel entnommenes Konjugat bzw. TMB darf nicht zurückgeführt werden, sondern ist zu verwerfen.

Material	Zustand	Lagerung	Haltbarkeit
Untersuchungsproben	verdünnt	+2 bis +8°C	max. 6h
	unverdünnt	+2 bis +8°C	1Woche
Kontrollen	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
MTP	nach Öffnen	+2 bis +8° (Lagerung im mitgelieferten Beutel mit Trockenmittelbeutel)	3Monate
RF Sorbo Tech	unverdünnt, nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
	verdünnt	+2 bis +8°C	1Woche
Konjugat	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3Monate
TMB	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3Monate
Stopplösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
Waschlösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
	endverdünnt (gebrauchsfertig)	+2 bis +25°C	4Wochen

6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

1. Als Kontrollseren werden nur Seren verwendet, die getestet und als HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK und Hepatitis-B-surface-Antigen negativ befundet wurden. Trotzdem sollten alle Proben, verdünnte Proben, Kontrollen, Konjugate und die

Mikrotiterstreifen als potentiell infektiöses Material betrachtet und entsprechend sorgfältig gehandhabt werden. Es gelten die jeweiligen Richtlinien für Laborarbeiten.

- Die Komponenten, die Konservierungsmittel enthalten, Citrat-Stopplösung und TMB, wirken reizend auf die Haut, Augen und Schleimhäute. Bei Berührungen die betroffenen Körperstellen sofort unter fließendem Wasser abwaschen und eventuell den Arzt aufsuchen.
- Die Entsorgung der verwendeten Materialien erfolgt nach länderspezifischen Richtlinien.

7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert)

- Aqua dest./demin.
- Mehrkanalpipette 50µl, 100µl
- Mikropipetten: 10µl, 100µl, 1000µl
- Reagenzgläser
- Zellstofftücher
- Abdeckung für ELISA-Platten
- Abfallbehälter für infektiöses Material
- ELISA Handwascher bzw. automatischer Wascher für Mikrotiterplatten
- Spektralphotometer für Mikrotiterplatten mit 450/620nm Filter (Referenzwellenlänge 620-690nm)
- Brutschrank

8. Testdurchführung

Die exakte Einhaltung der Arbeitsvorschrift ist Voraussetzung für das Erzielen korrekter Ergebnisse.

8.1 Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial kann Serum und Plasma (hierbei ist die Art der Antikoagulanzen nicht von Relevanz) eingesetzt werden, auch wenn in dieser Gebrauchsanweisung nur Serum erwähnt ist.

Patienten-Verdünnungen immer frisch ansetzen.

Für eine längere Aufbewahrung müssen die Seren eingefroren werden. Mehrmaliges Auftauen sollte vermieden werden.

- Nur frische, nicht inaktivierte Seren benutzen.
- Hyperlipämische, hämolytische, mikrobiell kontaminierte Proben und trübe Seren nicht verwenden (falsch positive/negative Ergebnisse).

8.2 Vorbereitung der Reagenzien

Die **VIROTECH System** Diagnostik bietet ein hohes Maß an Flexibilität durch die Möglichkeit, Verdünnungs- und Waschpuffer, TMB, Citrat-Stopplösung sowie Konjugat parameter- und chargenübergreifend einzusetzen. Die gebrauchsfertigen Kontrollen (positive Kontrolle, cut-off Kontrolle, negative Kontrolle) sind parameterspezifisch und ausschließlich mit der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen Plattencharge zu verwenden.

- Brutschrank auf 37°C einstellen und sich vor Inkubationsbeginn vom Erreichen der Temperatur überzeugen.
- Alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen; erst dann die Verpackung mit den Teststreifen öffnen.
- Alle Flüssigkomponenten vor Gebrauch gut schütteln.
- Waschlösungs-Konzentrat auf 1Liter mit Aqua dest./demin. auffüllen (bei eventueller Kristallbildung des Konzentrates dieses bitte vor dem Verdünnen auf Raumtemperatur bringen und vor Gebrauch gut schütteln).

8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung

- Pro Testansatz 100µl des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers (Leerwert), der negativen, cut-off und der positiven IgG- und IgA-Kontrolle, sowie der verdünnten Patientenseren pipettieren. Wir empfehlen jeweils einen Doppelansatz (Leerwert, Kontrollen und Patientenseren); bei der cut-off Kontrolle ist ein Doppelansatz zwingend notwendig. Arbeitsverdünnung der Patientenseren: 1+100; z.B. 10µl Serum + 1ml Verdünnungspuffer.
- Nach Pipettierung erfolgt die Inkubation für 30 Min. bei 37 °C (mit Abdeckung).
- Beenden der Inkubationsperiode durch 4 maliges Waschen mit je 350-400µl Waschlösung pro Kavität. Waschlösung nicht in den Kavitäten stehen lassen, sondern letzte Flüssigkeitsreste durch Ausklopfen auf einer Zellstoffunterlage entfernen.
- 100µl des gebrauchsfertigen Konjugats in alle Kavitäten pipettieren.

5. Inkubation der Konjugate: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung).
6. Beenden der Konjugatinkubation durch 4-maliges Waschen (siehe Pkt. 3).
7. 100µl der gebrauchsfertigen TMB-Substratlösung in jede Kavität pipettieren.
8. Inkubation der Substratlösung: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung, dunkel stellen).
9. Abstoppen der Substratreaktion: in alle Kavitäten je 50µl Citrat-Stopplösung pipettieren. Die Platte vorsichtig und sorgfältig schütteln, bis sich die Flüssigkeiten vollständig durchmischt haben und eine einheitliche gelbe Farbe sichtbar wird.
10. Extinktionen bei 450/620nm (Referenzwellenlänge 620-690nm) messen. Photometer so einstellen, dass der gemessene Leerwert von allen anderen Extinktionen abgezogen wird. Die photometrische Messung sollte innerhalb einer Stunde nach Zugabe der Stopplösung durchgeführt werden.

Testablaufschemata siehe letzte Seite

8.4 Einsatz von ELISA-Prozessoren

Alle **VIROTECH ELISAs** können mit Hilfe von ELISA-Prozessoren abgearbeitet werden. Der Anwender ist verpflichtet eine regelmäßige Gerätevalidierung durchzuführen.

Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH empfiehlt die folgende Vorgehensweise:

1. Bei Gerätestellung bzw. größeren Reparaturen Ihres ELISA Prozessors empfiehlt **Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH**, die Validierung des Gerätes gemäß den Vorgaben des Geräteherstellers vorzunehmen.
2. Es wird empfohlen, anschließend den ELISA Prozessor mit dem Validierungskit (EC250.00) zu überprüfen. Diese regelmäßige Überprüfung mit dem Validierungskit sollte mindestens einmal pro Quartal durchgeführt werden.
3. Bei jedem Testlauf müssen die Freigabekriterien des Qualitätskontrollzertifikates zum Produkt erfüllt werden.

Diese Vorgehensweise gewährleistet die einwandfreie Funktion Ihres ELISA Prozessors und dient darüber hinaus der Qualitätssicherung des Labors.

9. Testauswertung

Die gebrauchsfertigen Kontrollen dienen einer semiquantitativen Bestimmung spezifischer IgG- und IgA-Antikörper, deren Konzentration in VIROTECH Einheiten (=VE) angegeben wird. Durch die Testdurchführung bedingte Schwankungen werden über die Berechnungsmethode ausgeglichen und es wird damit eine hohe Reproduzierbarkeit erreicht. Für die Berechnung der VE werden die Mittelwerte der OD-Werte eingesetzt.

9.1 Testfunktionskontrolle

a) OD-Werte

Der OD-Wert des Leerwertes sollte <0,15 sein.

Die OD-Werte der negativen Kontrollen sollten unterhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte, die OD-Werte der positiven Kontrollen sowie der cut-off Kontrollen sollten oberhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte liegen.

b) VIROTECH Einheiten (VE)

Die VIROTECH Einheiten (VE) der cut-off Kontrollen sind mit 10 VE definiert. Die berechneten VE der positiven Kontrollen sollten innerhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen Bereiche liegen.

Werden die Anforderungen (OD-Werte, VE) nicht erfüllt, so ist der Test zu wiederholen.

9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)

Die Extinktion des Leerwertes (450/620nm) muß von allen Extinktionen abgezogen werden.

$$\begin{aligned} \text{VE (positive Kontrolle)} &= \frac{\text{OD (positive Kontrolle)}}{\text{OD (cut-off Kontrolle)}} \times 10 \\ \text{VE (Patientenserum)} &= \frac{\text{OD (Patientenserum)}}{\text{OD (cut-off Kontrolle)}} \times 10 \end{aligned}$$

9.3 Auswertungsschema IgG und IgA

Ergebnis (VE)	Beurteilung
< 9,0	negativ
9,0 – 11,0	grenzwertig
> 11,0	positiv

1. Liegen die gemessenen VE der Probe oberhalb des grenzwertigen Bereiches, so werden die Proben als positiv betrachtet.
2. Befinden sich die gemessenen VE innerhalb des angegebenen grenzwertigen Bereiches, liegt keine signifikant hohe Antikörperkonzentration vor; die Proben werden als grenzwertig betrachtet. Für den sicheren Nachweis einer Infektion ist es erforderlich, den Antikörpergehalt zweier Serumproben zu bestimmen. Eine Serumprobe sollte direkt nach Beginn der Infektion, eine zweite Probe 5-10 Tage später (rekonvaleszentes Serum) getestet werden. Die Antikörperkonzentration beider Proben muss parallel, d.h. in einem Testansatz bestimmt werden. Eine korrekte Diagnose aufgrund der Bewertung einer einzelnen Serumprobe ist nicht möglich.
3. Liegen die gemessenen Werte unterhalb des definierten grenzwertigen Bereiches, sind keine messbaren antigenspezifischen Antikörper in der Probe vorhanden. Die Proben werden als negativ betrachtet.

9.4 Grenzen des Tests

1. Die Interpretation serologischer Ergebnisse sollte immer das klinische Bild, epidemiologische Daten und eventuell weitere zur Verfügung stehende Laborbefunde mit einbeziehen.
2. Sowohl die IgA, als auch die IgG *Helicobacter pylori* LINE Ergebnisse sollten bei der Diagnose von Patienten mit Verdacht auf *Helicobacter pylori* einbezogen werden.
3. Die Persistenz der IgA-Antikörper nach erfolgreicher Behandlung kann 6 Monate bis 3 Jahre betragen. Die IgG-Antikörper persistieren in der Regel viele Jahre.
4. Kreuzreaktivitäten mit anderen Gram-negativen Erregern, z.B. aufgrund von Homologien des Flagellin, können nicht ausgeschlossen werden.

10. Leistungsdaten

Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung des Befundes wurden im IgG klinisch definierte Seren (n=19), Ringversuch Seren (n=19), Routineseren (n=40) und Blutspenderseren (n=80) mit einem kommerziell erhältlichen ELISA und dem VIROTECH *Helicobacter pylori* LINE getestet.

Proben mit diskrepanten Ergebnissen wurden zusätzlich mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen Immunoblots charakterisiert.

Serenkollektiv (n=158)		Helicobacter pylori ELISA IgG		
		negativ	grenzwertig	positiv
Befund	negativ	82	1	0
	grenzwertig	0	1	0
	positiv	0	0	74

Daraus ergibt sich im IgG eine Sensitivität und Spezifität von >99,9%.

Die grenzwertigen Ergebnisse fließen nicht mit in die Bewertung ein.

Zur Bestimmung des Befundes wurden im IgA klinisch definierte Seren (n=20), Ringversuch Seren (n=19), Routineseren (n=32) und Blutspenderseren (n=80) mit einem kommerziell erhältlichen ELISA und dem VIROTECH *Helicobacter pylori* LINE getestet.

Proben mit diskrepanten Ergebnissen wurden zusätzlich mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen Immunoblots charakterisiert.

Serenkollektiv (n=151)		Helicobacter pylori ELISA IgA		
		negativ	grenzwertig	positiv
Befund	negativ	83	4	9
	grenzwertig	5	0	7
	positiv	3	3	37

Daraus ergibt sich im IgA eine Sensitivität von 92,5% und Spezifität von 90,2%.

10.1 Durchseuchung (erwartete Werte)

Zur Ermittlung der erwarteten Werte (Durchseuchung) wurden 80 Seren im IgG und IgA getestet. In einem Blutspenderkollektiv ist eine Durchseuchung von ca. 30% zu erwarten. Davon zeigen etwa 90% eine IgA- Antwort.

	IgG		IgA	
	Anz.	%	Anz.	%
n=80				
Negativ	58	72,5	60	75,0
Grenzwertig	0	0	2	2,5
Positiv	22	27,5	18	22,5

10.2 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)

In einem Assay wurden Streifen verschiedener Platten einer Charge mit einem Serum getestet. Der so ermittelte Variationskoeffizient beträgt für IgA und IgG < 9%.

10.3 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)

In 10 unabhängigen Testansätzen wurden in verschiedenen Labors und von verschiedenen Testpersonen 3 Seren getestet. Der so ermittelte Variationskoeffizient beträgt für IgA und IgG < 15%.

11. Literatur

1. Helicobacter pylori – Von der Grundlage zur Therapie (1996) Herausgeber P. Malfertheiner, Thieme Verlag
2. Homepage, Nationales Referenzzentrum für Helicobacter pylori; Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Freiburg
3. Zöller et al (1993) Nachweis der Helicobacter pylori-Infektion: Rolle der Immundiagnostik. *Klin. Lab.* 39: 45-54
4. Brandis, Eggers (1994) Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, 7. Auflage, S.495
5. Kist M., Glocker E., *Helicobacter-pylori*-Infektionen: Studie ResiNet zur Resistenzentwicklung - aktuelle Ergebnisse, Epidemiologisches Bulletin, 2005, Nr. 24
6. Kist M., Glocker E., Suerbaum S., Pathogenese, Diagnostik und Therapie der *Helicobacter-pylori*-Infektion, Bundesgesundheitsblatt, 2005
7. *Helicobacter-pylori* und gastroduodenale Ulkuskrankheit, AWMF-Leitlinien-Register, Nr. 021/001, 2008

Vorbereitung der Patientenproben und Waschlösung

▼ **Waschlösung:** Konzentrat auf 1 Liter mit aqua dest./demin. auffüllen

IgG/IgA-Proben – Verdünnung
1:101

z.B.:

10 µl Serum/Plasma + 1000 µl Verdünnungspuffer
(Serumverdünnungspuffer ist gebrauchsfertig)

Testdurchführung

Probeninkubation

30 Minuten bei 37°C

100 µl Patientenproben

Leerwert (Verdünnungspuffer) und Kontrollen



4 x Waschen

400 µl Waschlösung

gut ausklopfen



Konjugatinkubation

30 Minuten bei 37°C

100 µl Konjugat

IgG, IgA



4 x Waschen

400 µl Waschlösung

gut ausklopfen



Substratinkubation

30 Minuten bei 37°C

100 µl Substrat



Abstoppen

50 µl Stopplösung

vorsichtig schütteln



Extinktion messen

Photometer bei 450/620nm
(Referenzwellenlänge 620-690nm)