

ImmunoCard[®] *H. pylori*

A Rapid Enzyme Immunoassay for the Detection of IgG to *Helicobacter pylori* in Human Serum, Plasma and Whole Blood

REF 710030

IVD

Rx Only

INTENDED USE

The ImmunoCard *H. pylori* enzyme immunoassay (EIA) is an in vitro qualitative procedure for the detection of IgG to *Helicobacter pylori* in human serum, plasma, or whole blood. Test results are intended to aid in the diagnosis of *H. pylori* infection. The ImmunoCard *H. pylori* assay may be performed in clinical laboratories and physician's offices.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The importance of *Helicobacter pylori* in gastrointestinal 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 diagnostics strategies for the determination of *H. pylori* have been developed among two lines. The first involves direct detection of the organism and, to date, is invasive. The second, a noninvasive approach, involves the detection of antibodies made against *H. pylori* or the detection of the organism's urease.^{8,9,22}

The invasive route requires that a biopsy be taken from the upper gastrointestinal tract. The presence of *H. pylori* is then confirmed by direct microscopic examination 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 is that there is a 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.^{1,3,19}

The urea breath test is a noninvasive method that detects *H. pylori* by exploiting its highly active urease.^{3,8,10} The most common noninvasive approach to the detection of *H. pylori* is the serological identification of specific antibodies in infected patients. Through an indirect approach, the correlation between histological gastritis, the presence of *H. pylori*, and seropositivity is extremely strong. The disadvantages of these tests are that most require instruction to be interpreted and many have a lower specificity due to cross reactions from other organisms. Their major advantage is that they are rapid and offer a high sensitivity.^{5,18,21}

ImmunoCard *H. pylori* is an enzyme immunoassay in a self contained device which detects IgG antibodies to *H. pylori*. Results are interpreted by observing for a visual color change within seven minutes after addition of specimen.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

The test detects IgG antibodies to *H. pylori* through the use of an enzyme immunoassay. Each test card consists of a plastic housing and a fiber membrane which provides the solid support for the EIA. There are two large sample ports and two small reaction ports. The left reaction port serves as a **CONTROL** and has human IgG antibodies immobilized on the fiber membrane. The right reaction port is the **TEST** port and contains immobilized *H. pylori* antigens.

Patient serum, plasma, or whole blood is added to each of the two sample ports. After allowing the sample to enter the device and migrate along the membrane to the reaction ports, anti-human IgG alkaline phosphatase conjugate is added to the reaction ports and allowed to enter the device. Wash Buffer and Substrate are then added to each of the reaction ports. Reaction ports are observed for the development of blue color.

The development of blue color in the **TEST** reaction port indicates a positive test result. The absence of blue color in the **TEST** reaction port denotes a negative test result. The **CONTROL** reaction port serves as the procedural control. Color development confirms that the reagents are performing and that the procedure was done correctly.

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

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

- Test Cards** — Individually foil pouched cards containing immobilized *H. pylori* antigens (**TEST** reaction port) and human IgG (**CONTROL** reaction port).
- Positive Control** — Human Serum containing IgG antibodies to *H. pylori* in a buffer (pH 7.3) with 0.1% sodium azide.
- Negative Control** — Nonreactive Human Serum in a buffer (pH 7.3) with 0.1% sodium azide.
- Enzyme Conjugate** — Monoclonal anti-human IgG labeled with alkaline phosphatase in a buffer (pH 7.25) containing 0.1% sodium azide.
- Wash Buffer** — Buffer (pH 7.2) containing 9.5% (weight/vol.) guanidine hydrochloride.
- Substrate Reagent** — Buffer (pH 9.8) containing 5-bromo-4 chloro-3 indolyl phosphate and 0.1% sodium azide.
- Whole Blood Sample Diluent** — Buffer (pH 7.0) containing sodium dodecyl sulfate and 0.1% sodium azide.
- Transfer Pipettes**

MATERIALS NOT PROVIDED

- Timer
- Test tubes (for whole blood only)
- Capillary tubes (for whole blood only)

PRECAUTIONS

- All reagents are for in vitro diagnostic use only.
- Reagent concentrations, incubation times and temperature (22-27 C) have been optimized for sensitivity and specificity. Best results are obtained by adhering to these specifications. Once the assay has been started, complete all subsequent steps without interruption.**
- Patient specimens and controls may contain infectious agents. The positive and negative controls contain human sera which were screened for HBsAg and antibody to HIV and found to be negative. However, no test can offer complete assurance that human blood will not transmit HIV, hepatitis or other infectious agents. Therefore, patient specimens, controls, used Test Cards and other potentially hazardous material should be handled at Biosafety Level 2 as recommended in the CDC/NIH manual, "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories".
- All reagents and patient specimens should be at room temperature (22-27 C) before use. Additionally, all reagents should be removed from the foam insert and mixed prior to use.**
- Do not interchange reagents from different kit lot numbers or use expired reagents.
- Hold reagent vials vertically to insure proper drop size and delivery. Do not allow the tips of bottles or pipets to touch either the sample or reaction ports.
- Replace caps on correct vials.
- The Substrate Reagent may be light sensitive and should not be exposed to excessive illumination. If this reagent exhibits a blue color, it should be discarded.
- Use only one transfer pipet per specimen. Discard after use. Do not attempt to reuse.
- Discard any color reactions in the sample (lower) ports. Results are determined by color development in the reaction (upper) ports only.

WARNING: Some reagents in this kit contain sodium azide, which is a skin irritant. Avoid skin contact with the kit reagents. Disposal of reagents containing sodium azide into lead or copper plumbing can result in the formation of explosive metal azides. This can be avoided by flushing with a large volume of water during such disposal.

HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS

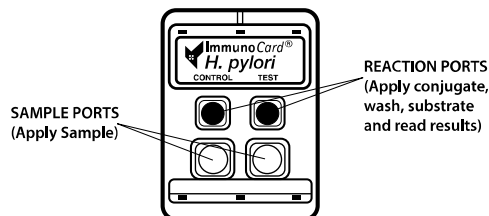
There are no known hazards associated with this product.

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date is indicated on the kit label. Store at 2-8 C and return the kit promptly to the refrigerator after each use.

PROCEDURAL NOTES

- The ImmunoCard *H. pylori* Test Card format is diagrammed below:



- Batch processing of samples or controls is possible provided all procedural steps and incubation times are maintained for each Test Card.
- The **CONTROL** (left) side of each card provides a procedural control which detects problematic specimens and tests the reagent performance.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Serum, plasma, or whole blood can be used in this assay. Sodium heparin, lithium heparin, sodium citrate and EDTA are acceptable anticoagulants. The performance of the ImmunoCard *H. pylori* assay with plasma obtained using other anticoagulants is unknown. Specimens must be collected using established laboratory procedures.
- 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.
- Whole blood with anticoagulant can be used without centrifugation. With lithium heparin, EDTA, or sodium citrate, whole blood specimens can be stored at 2-8 C for up to 72 hours.
- For fingerstick whole blood, completely fill capillary tube and test immediately.

TEST PROCEDURE

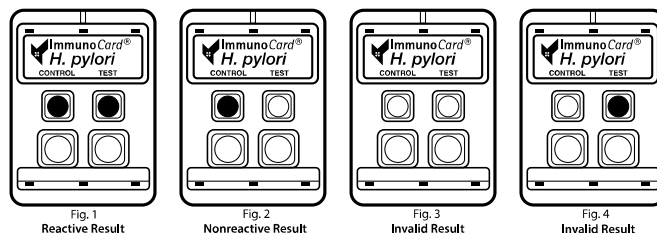
PLASMA, SERUM AND CONTROLS

- Remove the appropriate number of Test Cards from their envelopes. Label with appropriate identification. Use one card for each control or specimen to be tested. Test Cards must be maintained in a horizontal position during the performance of the assay procedure.
- Using a transfer pipet, dispense two drops of serum or plasma to both lower sample ports.
Optional Controls: The Positive Control is run by directly adding two drops to both lower sample ports of a card. The Negative Control can be run in the same manner on a separate card.
- Wait one minute after the sample or control has been added to both lower ports.
- Add two drops of Enzyme Conjugate to both upper ports.
- As soon as the Enzyme Conjugate is fully absorbed, add two drops of Wash Buffer to both upper ports.
- As soon as the Wash Buffer is fully absorbed, add two drops of Substrate Solution to both upper ports.
- Wait five minutes.**
- Without delay, visually read upper wells only for the presence or absence of blue color in the same order that the Substrate Solution was added.**

WHOLE BLOOD AND CONTROLS

- Remove the appropriate number of Test Cards from their envelopes. Label with appropriate identification. Use one card for each specimen to be tested. Test Cards must be maintained in a horizontal position during the performance of the assay procedure.
- Add four drops of Whole Blood Sample Diluent to labeled glass test tube.
- Using a transfer pipet, add two drops of whole blood to the test tube.
NOTE: For fingerstick procedure, completely fill a capillary tube with whole blood. Add the entire contents to a test tube that contains four drops of Whole Blood Sample Diluent.
Optional Controls: The Positive and Negative Controls are tested by adding two drops to the test tube which contains four drops of Whole Blood Sample Diluent.
- Using a new transfer pipet, dispense two drops of the diluted whole blood or controls to both lower sample ports.
- Wait three minutes after the sample or control has been added to both lower ports.
CAUTION: Some whole blood specimens may clog the membrane. If the sample does not completely wet the test and control reaction ports, the test is invalid.
- Add two drops of Enzyme Conjugate to both upper ports.
- As soon as the Enzyme Conjugate is fully absorbed, add two drops of Wash Buffer to both upper ports.
- As soon as the Wash Buffer is fully absorbed, add two drops of Substrate Solution to both upper ports.
- Wait five minutes.
- Without delay, visually read upper wells only for the presence or absence of blue color in the same order that the Substrate Solution was added.

INTERPRETATION OF RESULTS



READ ONLY UPPER REACTION PORTS TO INTERPRET RESULTS

Positive Test Result: Visually detectable blue color in **BOTH** reaction ports. Occasionally a positive test reaction may show evidence of a gradation of blue color from the bottom of the port to the top. This should be considered a positive result. A positive test result indicates the presence of IgG to *H. pylori*.

Negative Test Result: Visually detectable blue color in **CONTROL** reaction port (upper left) only. The **TEST** reaction port (upper right) should be colorless to faint grey. Occasionally, the **TEST** reaction port (upper right) may show evidence of a hint of blue color in the right or left side of the port, with the rest of the port remaining colorless. This should be considered a negative test result. A negative test result indicates that IgG to *H. pylori* is absent or below the level of detection of the assay.

Invalid Test Result: No detectable color in **CONTROL** reaction port. Invalid test results may be due to an ImmunoCard reagent problem, a procedural error, or clogging of the membrane by specimen: repeat test.

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies. The Positive and Negative Controls should be assayed with each new kit lot or shipment and yield the following results:

1. Positive Control: Visually detectable blue color in both reaction (upper) ports (Figure 1).
2. Negative Control: Visually detectable blue color in CONTROL (upper left) reaction port only. The TEST (upper right) reaction port should be colorless (Figure 2).

The Procedural Control present in the upper left port of each Test Card tests the individual specimen and reagent performance. Failure of the Procedural Control to yield a blue color with any specimen or control reagent indicates an invalid test and the test should be repeated.

At the time of each use, kit components should be visually examined for obvious signs of microbial contamination, freezing, or leakage. It is suggested that the results of each quality control check be recorded in an appropriate log book to maintain high quality testing records. The Positive Control stresses the test at the assay cut-off. The Procedural Control present in the upper left portion of each Test Card verifies the reactivity of each reagent.

If the Procedural, Positive or Negative Control does not generate the appropriate and expected results, the test is invalid and the patient results should not be reported. If the expected reactions are not observed and the reagents are still within their expiration date, 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 over 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 ImmunoCard *H. pylori* test detects the presence of IgG antibodies to *H. pylori* in serum, plasma, and whole blood. Sera from 43.2% of a general symptomatic population were antibody positive by ImmunoCard *H. pylori*. There was a 99.1% correlation of whole blood and serum results in a general population of symptomatic and asymptomatic individuals. 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 the patient population under study.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. ImmunoCard *H. pylori* test results should be used in conjunction with information from the patient clinical evaluation and other diagnostic procedures.
2. This test should only be used on patients who present symptoms suggestive of gastrointestinal disease. ImmunoCard *H. pylori* is not intended for use with asymptomatic patients.
3. A Positive test result does not distinguish between an active infection and colonization by *H. pylori*.
4. ImmunoCard *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.
5. 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.
6. ImmunoCard *H. pylori* has not been tested in pediatric populations. Therefore, no performance characteristics have been established for this group.
7. ImmunoCard *H. pylori* was evaluated for possible interferences from high levels of hemoglobin, lipid, and bilirubin. No interference was observed in serum specimens that were either positive or negative for antibodies to *H. pylori*. Whole blood specimen results were not evaluated for interferences by these compounds.
8. Whole blood specimens with hematocrit levels > 61 volume % have not been evaluated and may clog the membrane.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The ImmunoCard *H. pylori* test was evaluated at two hospitals and one gastroenterology laboratory.⁴ A total of 382 serum specimens were obtained from patients with gastrointestinal complaints. All patients underwent endoscopy. The ImmunoCard *H. pylori* test was compared to results obtained from the biopsied material using rapid biopsy urease tests.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Biopsy Urease Test	
	Positive	Negative
Positive	115	50
Negative	2	215

n= 382
Sensitivity = 98.2% (94.0-99.5)*
Specificity = 81.1% (76.0-85.4)
Agreement = 86.4% (82.5-89.5)

*95% confidence intervals calculated by the normal method are indicated in parenthesis

Forty-seven biopsy urease test negative/ImmunoCard *H. pylori* positive specimens were positive by a competitor's microtiter well EIA. Forty-six of these specimens were positive by histological staining and/or the pathology diagnosis was associated with *H. pylori* disease. The additional information indicates that 47 of the 50 relative false positive results were, in fact, true antibody positives that were not positive by biopsy urease test. The two urease test positive/ImmunoCard *H. pylori* negative specimens were antibody negative by a competitor's microtiter well EIA, indicating that these relative false negative results were true antibody negative results.

ImmunoCard *H. pylori* was compared to a competitor's microwell based EIA also for the detection of IgG to *H. pylori*.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Competitor EIA		
	Positive	Negative	I
Positive	161	4	0
Negative	5	211	1

n= 382
Relative Sensitivity = 97.0% (93.1-98.7)*
Relative Specificity = 98.1% (95.3-99.3)
Relative Agreement = 97.6% (95.6-98.7)

One EIA negative/ImmunoCard *H. pylori* positive specimen was positive by the biopsy urease test. Three EIA negative/ImmunoCard *H. pylori* positive specimens were negative by the biopsy urease test. All five ImmunoCard *H. pylori* negative/EIA positive specimens were negative by the biopsy urease test. The one EIA indeterminate/ImmunoCard *H. pylori* negative specimen was biopsy urease test negative.

A specimen matrices study evaluated whole blood collected in lithium heparin, EDTA and sodium citrate and serum collected from 108 symptomatic and asymptomatic individuals. The relative comparison of whole blood to serum was not traceable to biopsy results. There was a 99.1% (95% CI = ± 1.8%) agreement between whole blood results, regardless of anticoagulant (30 positives) and serum results (31 positives).

A comparison of the results of capillary whole blood obtained by finger stick and serum from 77 individuals indicated 100% agreement; 15 positives and 62 negatives. The specimen results were not traceable to biopsy results.

REPRODUCIBILITY

Two clinical test sites ran a negative, low positive and high positive serum specimen 10 times a day each of three days. The Positive and Negative Controls were run three times a day over this testing period. Three clinical test sites ran the Positive and Negative Controls and four negative and four positive serum specimens three times a day for three days. A total of 450 assays were performed at all the testing sites. The inter and intra-assay reproducibility of ImmunoCard *H. pylori* with all specimens was 100%.⁴

ASSAY SPECIFICITY

A. Bacterial Studies

Absorption studies demonstrated that ImmunoCard *H. pylori* does not suffer cross reactivity problems with the following clinical isolates (CI) or ATCC strains.⁴

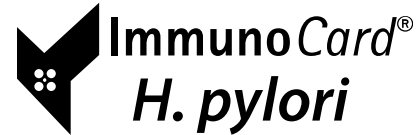
<i>Campylobacter coli</i>	CI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	AMC 13883
<i>Campylobacter fetus</i>	CI	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	ATCC 29543	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33292	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	CI
<i>Campylobacter lari</i>	CI	<i>Salmonella sp</i>	CI
<i>Campylobacter rectus</i>	ATCC 35217	<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 3551
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Shigella flexneri</i>	CI
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Shigella sonnei</i>	CI
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I)	ATCC 12598
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13407	<i>Streptococcus faecalis</i>	CI
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Wolfinella succinogenes</i>	ATCC 29543
<i>Helicobacter cinaedi</i>	ATCC 35683	<i>Yersinia enterocolitica</i>	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 ImmunoCard *H. pylori*.⁴

Anti-Nuclear Antibody	Cytomegalovirus	Rheumatoid Factor	Rubella
Lupus Erythematosus	Toxoplasma	Influenza A	Coccidioides
Histoplasma	Mononucleosis	Herpes Simplex Virus	Cryptococcus

ITALIANO



Test rapido immunoenzimatico per la ricerca di IgG anti-*Helicobacter pylori* nel siero, plasma e sangue intero

REF 710030

IVD

Rx Only

FINALITÀ D'USO

ImmunoCard *H. pylori* è un test immunoenzimatico (EIA) che consente la ricerca qualitative *in vitro* delle IgG anti-*Helicobacter pylori* nel siero, nel plasma e nel sangue intero. I risultati di tale esame rappresentano un aiuto nella diagnosi dell'infezione causata da *H. pylori*. Il test può essere eseguito sia in laboratorio che ambulatorialmente.

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, di ulcera peptica e soprattutto di ulcera duodenale.^{3, 15} Sebbene non ne sia stato ancora completamente dimostrato il ruolo etiologico la stretta correlazione tra la presenza di *H. pylori* e quadri istologicamente confermati di gastrite, ulcera peptica e carcinoma gastrico non viene più messe in discussione.^{11, 13, 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, a 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 implica la dimostrazione della presenza di anticorpi anti-*H. pylori* oppure dell'enzima ureasi prodotto dal microrganismo: entrambi questi test non sono, invasivi.^{5, 9, 22}

Le procedure invasive richiedono il prelievo di un campione biotico: 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 molto fastidioso e che comporta un certo rischio per il paziente. Inoltre, *H. pylori* non colonizza l'intera mucosa ma solo 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.^{1-3, 19}

Il metodo chiamato "urea breath test" rileva la presenza di *H. pylori* attraverso l'attività dell'enzima ureasi prodotto da tale microrganismo.^{3, 8, 10} 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 indiretta è stato possibile dimostrare una stretta correlazione tra evidenza istologica di gastrite, presenza di *H. pylori* e positività sierologica. Lo svantaggio di molti di questi test è dato dal fatto che l'interpretazione dei risultati non è sempre immediata e la maggior parte di essi non ha un'elevata specificità a causa di reazioni crociate con altri microrganismi. Il maggior vantaggio è rappresentato dalla rapidità e dall'alta sensibilità.^{5, 18, 21}

Il test ImmunoCard *H. pylori* è basato su una tecnica immunoenzimatica su membrana per la ricerca di IgG anti-*H. pylori*. I risultati sono interpretati valutando lo sviluppo di colore dopo 7 minuti dall'aggiunta del campione.

PRINCIPI BIOLOGICI

Il test immunoenzimatico ImmunoCard *H. pylori* rileva la presenza di IgG anti-*H. pylori*. Il sistema è costituito da un involucro di plastica e da una membrana che serve come supporto solido per il metodo EIA. Nella card sono presenti due pozzetti grandi (dove si aggiungono i campioni) e due pozzetti piccoli (dove avviene la reazione e si leggono i risultati). La parte sinistra della card (CONTROL) serve come controllo procedurale, in quanto contiene IgG umane adsorbite sulla membrana. La parte destra (TEST) contiene antigene di *H. pylori* adsorbito sulla membrana del pozzetto di reazione, per cui serve per l'interpretazione del risultato del paziente.

Il campione di siero, di plasma o di sangue intero viene distribuito in entrambi i pozzetti inferiori e viene lasciato migrare lungo la membrana fino a che raggiunge i pozzetti di reazione. Si aggiunge quindi il coniugato anti-IgG umane marcato con fostatasi alcalina nei pozzetti superiori. Si lascia assorbire tale reagente dopodiché si aggiungono, nei pozzetti di reazione, tamponi di lavaggio e, successivamente, il substrato. Quindi si legge il risultato osservando l'eventuale sviluppo di colore blu nei pozzetti di reazione.

Lo sviluppo di colore blu nel pozzetto di reazione della colonna **TEST** indica un risultato positivo per la presenza di IgG anti-*H. pylori*; se non c'è sviluppo di colore il risultato è negativo. La parte sinistra serve come controllo procedurale per verificare l'avvenuta migrazione dei campioni lungo la membrana ed il corretto funzionamento dei reagenti.

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

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

1. **Card** - Confezionate singolarmente in buste sigillate. Contengono antigene di *H. pylori* (pozzetto di reazione **TEST**) ed IgG umano (pozzetto di reazione **CONTROL**).
2. **Controllo Positivo** - Siero umano contenente IgG umane anti-*H. pylori*, diluito in soluzione tampone (pH 7.3) contenente sodio azide allo 0.1%.
3. **Controllo Negativo** - Campione di siero umano normale non contenente IgG umane anti-*H. pylori*, diluito in soluzione tampone (pH 7.3) contenente sodio azide allo 0.1%.
4. **Coniugato Enzimatico** - Anticorpi monoclonali anti-IgG umane marcati con fosfatasi alcalina diluiti in soluzione tampone (pH 7.25) contenente sodio azide allo 0.1%.
5. **Soluzione di lavaggio** - Soluzione tampone (pH 7.2) contenente il 9.5% (peso/volume) di guanidine idrocloruro.
6. **Substrato** (15 ml) - Soluzione tampone contenente 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato e sodio azide allo 0.1%.
7. **Diluente per sangue intero** - Soluzione tampone (pH 7.0) contenente sodio dodecil solfato e sodio azide allo 0.1%.
8. **Pipette monouso**

MATERIALI NON FORNITI

1. Timer
2. Provette (solo per la diluizione del sangue intero)
3. Capillari (solo per il sangue intero)

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. **La concentrazione dei reagenti, i tempi e la temperatura di incubazione (22-27 C) sono stati ottimizzati per ottenere la massima sensibilità e specificità. Pertanto i risultati migliori vengono ottenuti seguendo scrupolosamente la procedura. Una volta iniziato il test, bisogna completare tutti i passaggi successivi senza interruzioni.**
3. I campioni dei pazienti ed i sieri di controllo possono contenere agenti infettivi. Il Controllo Positivo e Negativo sono stati preparati da un pool di sieri umani che sono risultati negativi per la ricerca di HBsAg e di anticorpi anti-HIV-1. Tuttavia non esistono test che offrano l'assoluta certezza che il sangue umano (o suoi derivati) non sia in grado di trasmettere il virus HIV, quello dell'epatite e altri agenti infettivi. Pertanto i campioni dei pazienti, i controlli e le card usate devono essere trattate secondo le norme previste per il Biosafety Level 2 citato nel manuale "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories" a cura del Centers for Disease Control/National Institute of Health.
4. **Tutti i reagenti e i campioni dei pazienti devono essere portati a temperatura ambiente (22-27 C) prima dell'uso. Inoltre tutti i reagenti dovrebbero essere tolti dalla spugna contenute nel kit e mescolati prima dell'uso.**
5. Non scambiare reagenti appartenenti a lotti differenti né utilizzare reagenti scaduti.
6. Tenere i flaconcini e le pipette in posizione verticale per assicurare l'erogazione dell'esatta quantità di reagenti e di campione. Evitare di toccare con i contagocce dei flaconi o con le pipette sia i campioni sia la membrana dei pozzetti di reazione.
7. Richiudere ciascun flacone di reagenti con il corrispondente tappo colorato.
8. Il Substrato può essere sensibile alla luce e non dovrebbe essere esposto ad una fonte di illuminazione troppo forte. La soluzione dovrebbe essere incolore; se essa appare colorata in blu deve essere eliminata.
9. Utilizzare una sola pipetta per ciascun campione. **NON RIUTILIZZARE LE PIPETTE.**
10. Non prendere in considerazione eventuali sviluppi di colore nei pozzetti dei campioni (inferiori). I risultati vengono determinati dall'eventuale sviluppo di colore nei soli pozzetti di reazione (superiori).

AVVERTENZE: Alcuni reagenti contenuti in questo kit contengono sodio azide che è un composto dermoirritante. Evitare il contatto con la cute. L'eliminazione dei reagenti contenenti sodio azide nelle tubazioni di scarico contenenti piombo o rame può provocare la formazione di azidi metalliche esplosive. Tale pericolo può essere evitato lasciando scorrere notevoli quantità di acqua durante tale operazione.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

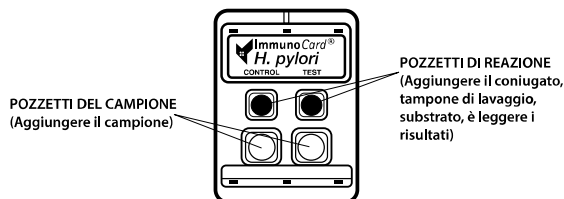
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

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.

NOTE PROCEDURALI

1. La forma delle Test Card del kit ImmunoCard *H. pylori* è riportata in figura.



2. Si possono eseguire più test contemporaneamente, avendo l'accortezza di completare ciascun passaggio procedurale per tutti i campioni prima di passare a quello successivo.
3. La parte sinistra (**CONTROL**) di ciascuna card fornisce un controllo procedurale per ciascun campione. Tale controllo permette di verificare la corretta migrazione dei campioni e dei reagenti lungo la membrana, nonché l'adeguato funzionamento dei reagenti.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1. Con questo test si possono utilizzare campioni di siero, plasma o sangue intero. Come anticoagulanti di possono usare sodio-eparina, litio-eparina, citrato di sodio ed EDTA. Le prestazioni del test ImmunoCard *H. pylori* con campioni ottenuti utilizzando altri tipi di anticoagulante non sono state valutate. I campioni devono essere prelevati mediante tecniche standard.
2. I campioni di siero o di plasma possono essere conservati a 2-8 C per un massimo di 5 giorni. Se il test non può essere eseguito entro tale periodo, i campioni possono essere congelati. Evitare accuratamente di sottoporre i sieri a cicli ripetuti di congelamento e scongelamento. Il campione di siero/plasma deve essere centrifugato prima di eseguire il test se si presenta torbido oppure contiene materiale corpuscolato.
3. Può essere utilizzato sangue intero contenente anticoagulanti senza necessità di centrifugazione. I campioni di sangue intero contenente litio-eparina, citrato di sodio ed EDTA possono essere conservati a 2-8 C fino a 72 ore.
4. Per il sangue intero ottenuto mediante puntura del dito il test deve essere eseguito immediatamente dopo aver raccolto il sangue con il capillare.

PROCEDURA DEL TEST

PLASMA, SIERO E CONTROLLI

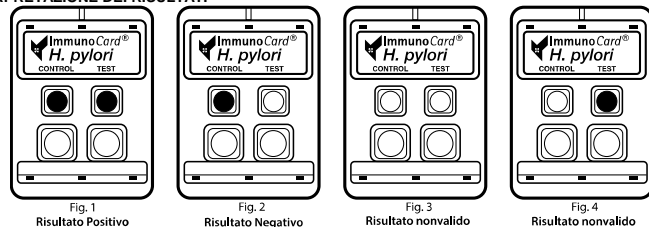
1. Estrarre il numero di card necessarie dalle rispettive buste sigillate. Contrassegnare ciascuna card in modo appropriato; utilizzare una sola card per ciascun controllo o campione da esaminare. Le card devono essere mantenute in posizione orizzontale durante tutte le fasi del test.
2. Usando una delle pipette fornite con il kit, distribuire due gocce di siero o plasma in entrambi i pozzetti dei campioni (in basso).
3. **Controlli Opzionali:** I controlli Positivo e Negativo vengono testati aggiungendo 2 gocce di ciascun siero di controllo in entrambi i pozzetti dei campioni (in basso) di due card separate.
4. Attendere 1 minuto dal momento dell'aggiunta dei campioni.
5. Aggiungere 2 gocce di Coniugato Enzimatico ad entrambi i pozzetti di reazione (in alto).

5. Non appena il coniugato è stato completamente assorbito, distribuire 2 gocce di Tampone di lavaggio in entrambi i pozzetti di reazione (in alto).
6. Non appena il tampone di lavaggio è stato completamente assorbito, aggiungere 2 gocce di Substrato ad entrambi i pozzetti di reazione (in alto).
7. **Attendere 5 minuti.**
8. **Leggere il risultato visivamente (presenza o assenza di colorazione blu) immediatamente allo scadere del tempo stabilito.**

SANGUE INTERO E CONTROLLI

1. Estrarre il numero di card necessarie dalle rispettive buste sigillate. Contrassegnare ciascuna card in modo appropriato; utilizzare una sola card per ciascun controllo o campione da esaminare. Le card devono essere mantenute in posizione orizzontale durante tutte le fasi del test.
2. Aggiungere quattro gocce di Diluente per sangue intero a ciascuna provetta.
3. Usando la pipetta aggiungere due gocce di sangue intero a ciascuna provetta. **NOTA:** per la procedura di puntura del dito, riempire completamente il capillare con il sangue intero.
4. **Controlli Opzionali:** I controlli Positivo e Negativo vengono testati aggiungendo 2 gocce di ciascun siero di controllo in ciascuna di due provette contenenti 4 gocce di Diluente per sangue intero.
5. Utilizzando una nuova pipetta, aggiungere due gocce di sangue intero o controllo diluiti in entrambi i pozzetti dei campioni (in basso).
6. Attendere 3 minuti dal momento dell'aggiunta dei campioni.
7. **ATTENZIONE:** Alcuni campioni di sangue intero possono intasare la membrana. Se il campione non migra fino alla zona Test e Control, il test deve essere considerato non valido.
8. Aggiungere 2 gocce di Coniugato Enzimatico ad entrambi i pozzetti di reazione (in alto).
9. Non appena il coniugato è stato completamente assorbito, distribuire 2 gocce di Tampone di lavaggio in entrambi i pozzetti di reazione (in alto).
10. Non appena il tampone di lavaggio è stato completamente assorbito, aggiungere 2 gocce di Substrato ad entrambi i pozzetti di reazione (in alto).
11. Attendere 5 minuti.
12. Leggere il risultato visivamente (presenza o assenza di colorazione blu) immediatamente allo scadere del tempo stabilito.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



PER INTERPRETARE I RISULTATI LEGGERE SOLO I POZZETTI SUPERIORI

Risultato Positivo: Si nota sviluppo di colore blu visivamente apprezzabile in **ENTRAMBI** i pozzetti di reazione. A volte un test positivo può mostrare diverse tonalità di colore all'interno del pozzetto di reazione. Un risultato positivo indica la presenza di IgG anti-*H. pylori*.

Risultato Negativo: Si nota sviluppo di colore blu visivamente apprezzabile solo nel pozzetto di reazione **CONTROL** (in alto a sinistra). Il pozzetto di reazione **TEST** (in alto a destra) dovrebbe rimanere incolore oppure assumere un debole colore grigio. Può succedere a volte che nel pozzetto di reazione **TEST** (in alto a destra) si noti uno sviluppo di colore blu sul lato destro o sinistro, mentre il resto del pozzetto rimane incolore: tale risultato deve essere considerato come negativo. Un risultato negativo indica o l'assenza di IgG anti-*H. pylori* oppure la loro presenza a livelli inferiori al limite di sensibilità del metodo.

Risultato Non Valido: Non si nota alcuno sviluppo di colore blu nel pozzetto di reazione **CONTROL** (in alto a sinistra). Un test non valido può essere causato da problemi sia con i reagenti che con la card, da un errore nell'esecuzione della metodica oppure da una ridotta migrazione del campione lungo la membrana. In questo caso si consiglia di ripetere il test.

CONTROLLO QUALITÀ

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

I Controlli Positivi e Negativi dovrebbero essere analizzati con ogni nuovo lotto o con ogni nuova spedizione del kit e devono dare origine ai seguenti risultati:

1. **Controllo Positivo:** si deve notare visivamente lo sviluppo di colore blu in entrambi i pozzetti di reazione (in alto) (Figura 1).
2. **Controllo Negativo:** si deve notare visivamente lo sviluppo di colore blu solo nel pozzetto di reazione **CONTROL** (in alto a sinistra). Il pozzetto di reazione **TEST** (in alto a destra) dovrebbe rimanere incolore (Figura 2).

Il Controllo Procedurale presente nel pozzetto in alto a sinistra di ciascuna card serve per verificare l'avvenuta migrazione dei campioni lungo la membrana ed il corretto funzionamento dei reagenti. Se nel Controllo Procedurale non si ha sviluppo di colore blu con un campione o con un controllo, il risultato non è valido ed il test dovrebbe essere ripetuto.

Ogni volta che si usa il kit bisognerebbe esaminare ciascuno flacone di reagente per verificare che non presenti segni evidenti di contaminazione microbiologica, di congelamento o di perdite. Si consiglia di trascrivere i risultati di ciascun controllo di qualità in un apposito registro, per mantenere un elevato standard qualitativo e per ottemperare alle norme degli Enti preposti ai controlli.

Se i Controlli Procedurale, Positivo e Negativo non danno i risultati attesi, il test non è valido e i risultati del paziente non possono essere riportati. Qualora si ottengono i risultati attesi con i Controlli, ed i reagenti non siano scaduti, come prima opzione per identificare la causa del fallimento ripetere i test 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 *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 riscontrare percentuali di positività anche del 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 ImmunoCard *H. pylori* rileva la presenza di anticorpi della classe IgG anti-*H. pylori* nel siero, nel plasma o nel sangue intero. Mediante tale test è stata analizzata una popolazione generica sintomatica ed è stato riscontrata una positività pari al 43.2%. Inoltre in una popolazione di individui sintomatici e asintomatici si è ottenuta una correlazione del 99.1% tra risultati ottenuti da sangue intero e da siero. 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

1. I risultati ottenuti con il test ImmunoCard *H. pylori* dovrebbero essere valutati alla luce del quadro clinico del paziente e del risultato di tutti gli altri esami eseguiti.
2. Questo test deve essere usato solo su pazienti con sintomi riferibili a malattia gastrointestinale. Il test ImmunoCard *H. pylori* non è stato sviluppato per l'uso su pazienti asintomatici.
3. Un risultato positivo non permette di discriminare tra infezione acuta e colonizzazione.
4. Il test ImmunoCard *H. pylori* è solo qualitativo ed indica unicamente la presenza di IgG anti-*H. pylori*, esso non è in grado di indicare la presenza o meno di malattia gastrointestinale in atto.

- Un risultato negativo indica o l'assenza di IgG anti-*H. pylori* oppure la loro presenza a livelli inferiori al limite di sensibilità del metodo.
- Il test ImmunoCard *H. pylori* non è stato valutato su pazienti in età pediatrica, quindi non sono note le prestazioni caratteristiche di questo test per tale popolazione.
- Il ImmunoCard *H. pylori* è stato valutato per le possibili interferenze causate da alti livelli di emoglobina, lipidi, e bilirubina. Non è stata notata alcuna interferenza in campioni sia positivi che negativi agli anticorpi anti-*H. pylori*. Tali possibili interferenze non sono state valutate per i campioni di sangue intero.
- Campioni di sangue intero con valori di ematocrito > 61 volume % non sono stati valutati e potrebbero intasare la membrana.

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Il test ImmunoCard *H. pylori* è stato valutato presso due Ospedali ed un Laboratorio di gastroenterologia.⁴ È stato esaminato un totale di 382 campioni di siero appartenenti a pazienti con disturbi gastrointestinali. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad endoscopia. I risultati ottenuti con il test ImmunoCard *H. pylori* sono stati paragonati a quelli ottenuti con il test dell'ureasi eseguito sui campioni biotici.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Test dell'ureasi su campioni biotici	
	Positivi	Negativi
Positivi	115	50
Negativi	2	215

n= 382

Sensibilità	=	98.2%	(94.0-99.5)*
Specificità	=	81.1%	(76.0-85.4)
Concordanza	=	86.4%	(82.5-89.5)

*Tra parentesi sono indicate gli intervalli di confidenza del 95%

Quarantasette campioni positivi con il test ImmunoCard *H. pylori* e negativi con il test dell'ureasi sono risultati positivi con un test EIA del commercio. Quarantasei di questi campioni erano positivi all'istologia e/o la diagnosi del patologo era di infezione da *H. pylori*. Ulteriori informazioni hanno permesso di verificare che 47 dei 50 campioni apparentemente falsi positivi erano in realtà veri positivi per gli anticorpi ma negativi mediante test dell'ureasi. I due test ureasi positivi/ImmunoCard *H. pylori* negativi erano negativi anche mediante il test EIA del commercio, indicando che questi risultati apparentemente falsi negativi erano in realtà veri negativi per gli anticorpi.

I risultati ottenuti con il test ImmunoCard *H. pylori* sono stati paragonati a quelli ottenuti con il test EIA del commercio per la ricerca di anticorpi IgG anti-*H. pylori*.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	EIA del commercio		
	Positivi	Negativi	I
Positivi	161	4	0
Negativi	5	211	1

n= 382

Sensibilità	=	97.0%	(93.1-98.7)*
Specificità	=	98.1%	(95.3-99.3)
Concordanza	=	97.6%	(95.6-98.7)

Un campione EIA negativo/ ImmunoCard *H. pylori* positivo era positivo anche mediante il test dell'ureasi. Tre campioni EIA negativi/ ImmunoCard *H. pylori* positivi erano negativi anche mediante il test dell'ureasi. Tutti e cinque i campioni ImmunoCard *H. pylori* negativi/EIA positivi erano negativi anche mediante il test dell'ureasi. Un campione indeterminato mediante EIA/ImmunoCard *H. pylori* negativo era negativo mediante il test dell'ureasi.

In uno studio sono stati valutati 108 campioni di sangue intero raccolto in litio-eparina, EDTA, sodio citrato e campioni di siero tutti prelevati da individui sintomatici e asintomatici. Il confronto tra risultati da sangue intero e siero non è stato riferito ai risultati del test dell'ureasi. Si è ottenuta una concordanza pari a 99,1% (CI 95% = ± 1,8%) tra risultati da sangue intero con i coagulanti (30 positivi) e i risultati da siero (31 positivi).

Un confronto dei risultati ottenuti da sangue intero mediante puntura del dito in 77 pazienti ha indicato una concordanza del 100%:15 positivi e 62 negativi. Anche in questo caso il confronto non è stato riferito ai risultati del test dell'ureasi.

RIPRODUCIBILITÀ

Due laboratori ospedalieri hanno eseguito il test per 10 volte al giorno ogni tre giorni su tre campioni, rispettivamente un campione negativo, uno positivo a basso titolo ed uno ad alto titolo. Il Controllo Positivo e Negativo sono stati testati tre volte al giorno durante la valutazione. Tre laboratori ospedalieri hanno testato il Controllo Positivo, il Controllo Negativo, quattro campioni negativi e quattro positivi tre volte al giorno per tre giorni. In totale, presso i vari laboratori interessati, sono stati eseguiti 450 test. La riproducibilità inter- ed intra-esame del test ImmunoCard *H. pylori* è risultata pari al 100%.⁴

SPECIFICITÀ DEL TEST

A. Sospensioni batteriche

Studi di adsorbimento hanno dimostrato che il test ImmunoCard *H. pylori* non risente di reazioni crociate con i seguenti ceppi isolati da campioni biologici (CI) o ceppi di collezione (ATCC):⁴

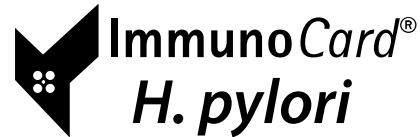
<i>Campylobacter coli</i>	CI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	AMC 13883
<i>Campylobacter fetus</i>	CI	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	ATCC 29543	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33292	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	CI
<i>Campylobacter lari</i>	CI	<i>Salmonella</i> sp	CI
<i>Campylobacter rectus</i>	ATCC 35217	<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 3551
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Shigella flexneri</i>	CI
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Shigella sonnei</i>	CI
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I)	ATCC 12598
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13407	<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Wolinnella succinogenes</i>	ATCC 29543
<i>Helicobacter cinaedi</i>	ATCC 35683	<i>Yersinia enterocolitica</i>	CI

B. Studi sierologici

Sieri provenienti da pazienti con positività culturale o sierologica per le seguenti malattie non hanno dimostrato alcuna reazione crociata con il test ImmunoCard *H. pylori*.⁴

Anticorpi anti-nucleo	Infezione da Cytomegalovirus	Artrite reumatoide	Rosolia
Lupus eritematoso sistemico	Toxoplasmosi	Influenza A	Coccidioidomicosi
Istoptosmosi	Mononucleosi infettiva	Herpes Simplex	Criptococcosi

FRANÇAIS



Test Immuno-enzymatique Rapide Pour la Détection des IgG Dirigées Contre *Helicobacter pylori*, dans le Sérum, le Plasma et le Sang Total Humain

REF 710030

IVD

Rx Only

BUT DE LA METHODE

Le test immuno-enzymatique (ELISA) ImmunoCard *H. pylori* est une procédure in vitro qualitative pour la détection des IgG dirigées contre *H. pylori* dans le sérum, le plasma et le sang total humain. Les résultats du test sont destinés à aider au diagnostic des infections à *H. pylori*. Le test ImmunoCard *H. pylori* peut être réalisé dans les laboratoires cliniques ou au cabinet du praticien.

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 gastro-intestinaux 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.^{3,7,11,13,14}

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 agressive. La deuxième approche, non agressive, implique la détection des anticorps produits en réaction à la présence de *H. pylori* ou par la détection de l'uréease de cet organisme.^{8,9,22}

La méthode agressive 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.^{1,3,19}

Le test de détection respiratoire à l'urée marquée (en utilisant de l'urée marquée au ¹³C (UBT) est une méthode non agressive, qui permet de détecter *H. pylori* en s'appuyant sur sa haute activité uréase.^{3,8,10} L'approche non agressive 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. Son principal avantage est sa rapidité et sa grande sensibilité.^{5,18,21}

Le test ImmunoCard *H. pylori* est un test immuno-enzymatique qui détecte les anticorps IgG dirigés contre *H. pylori*. Les résultats sont interprétés par une observation d'un changement visuel de coloration dans les 7 minutes après l'addition de l'échantillon.

PRINCIPE DU TEST

Le test détecte les anticorps IgG dirigés contre *H. pylori* par immunoessai enzymatique. Chaque carte de test consiste en un support en plastique et une membrane de fibre qui sert de support solide pour l'ELISA. Il y a deux larges orifices ECHANTILLON et deux petits orifices REACTION. L'orifice REACTION de gauche sert de **CONTROLE** et a des anticorps IgG humains immobilisés sur la membrane de fibre. L'orifice REACTION droit est l'orifice **TEST** et contient des antigènes *H. pylori* immobilisés.

Le sérum, plasma ou sang total du patient est ajouté à chacun des deux orifices ECHANTILLON. Après avoir laissé l'échantillon pénétrer dans le système, et migrer le long de la membrane jusqu'aux orifices REACTION, le conjugué anti-IgG humaines-phosphatase alcaline est ajouté aux orifices REACTION et pénètre dans le système. Le tampon de lavage et le substrat sont alors ajoutés à chacun des orifices REACTION. Les orifices REACTION sont ensuite examinés pour détecter le développement de la coloration bleue.

Le développement de la couleur bleue dans l'orifice réaction **TEST** indique un résultat positif. L'absence de coloration bleue dans l'orifice réaction **TEST** suppose un résultat de test négatif. L'orifice réaction **CONTROLE** sert de contrôle de la procédure. Le développement de la coloration confirme que les réactifs fonctionnent et que la procédure est correcte.

MATERIEL FOURNI

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

- Cartes de test** - Cartes sous emballage individuel contenant des antigènes *H. pylori* immobilisés (orifice réaction TEST) et des IgG humaines (orifice réaction CONTROL).
- Contrôle positif** - Sérum humain contenant des anticorps IgG dirigés contre *H. pylori* dans un tampon (pH 7,3) avec 0,1% d'azide de sodium.
- Contrôle négatif** - Sérum humain non réactif dans un tampon (pH 7,3) avec de l'azide de sodium.
- Conjugué enzymatique** - Anti-IgG humaines monoclonales marquées à la phosphatase alcaline dans un tampon (pH 7,5) contenant 0,1% d'azide de sodium.
- Tampon de lavage** - Tampon (pH 7,2) contenant 9,5% (p/v) d'hydrochlorure de guanidine.
- Réactif substrat** - Tampon (pH 9,8) contenant du 5-bromo 4 chloro-3 indolyl phosphate et 0,1% d'azide de sodium.
- Diluant échantillon pour sang total** - Tampon (pH 7,0) contenant du sodium dodecyl sulfate et 0,1% d'azide de sodium.
- Pipettes de transfert**

MATERIEL NON FOURNI

- Minuteur
- Tubes à essai (pour le sang total seulement)
- Tubes capillaires (pour le sang total seulement)

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
- Les concentrations des réactifs, les temps d'incubation et les températures (22-27 C) ont été déterminés pour optimiser la sensibilité et la spécificité. Les meilleurs résultats sont obtenus en respectant ces spécifications. Lorsque le dosage est lancé, effectuer toutes les étapes suivantes sans interruption.**

- Les échantillons de patient et le contrôle positif peuvent contenir des agents infectieux. Le contrôle positif et le contrôle négatif contiennent du sérum humain qui a été testé pour les HBsAg et les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 et a été trouvé négatif. Cependant, aucune méthode de test n'offre l'assurance totale que le sang humain ne transmettra pas le VIH, l'hépatite ou d'autres agents infectieux. Ainsi, les échantillons de patients, le contrôle positif, les cartes de test usagées et tout autre matériel potentiellement infectieux doivent être manipulés avec précaution (Biosafety niveau 2, CDC/NIH manual "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories").
- Tous les réactifs et les échantillons de patients doivent être ramenés à température ambiante (22-27 C) avant utilisation. De plus, tous les réactifs doivent être ôtés du support en mousse, et mélangés soigneusement avant utilisation.**
- Ne pas mélanger les réactifs de coffrets de lots différents et ne pas utiliser de réactifs périmés.
- Tenir les flacons de réactifs et les pipettes de transfert verticalement pour assurer une bonne calibration des gouttes. Ne pas laisser l'extrémité du flacon ou de la pipette entrer en contact avec l'échantillon ou les orifices de réactions.
- Remettre les bouchons colorés sur les réactifs correspondants.
- La solution de substrat est sensible à la lumière et ne doit pas être exposée à un éclairage excessif. La solution de substrat doit rester incolore. Si ce réactif présente une coloration bleue, il doit être jeté.
- Utiliser une seule pipette de transfert par contrôle ou par échantillon. Jeter après usage. Ne pas réutiliser.
- Ne tenir aucun compte des réactions de coloration dans les orifices échantillons (inférieurs). Les résultats sont déterminés par le développement de la coloration dans les orifices réactions (supérieurs).

ATTENTION: Certains réactifs de ce coffret contiennent de l'azide de sodium qui est un irritant de la peau. Eviter tout contact avec la peau. L'élimination de réactifs contenant de l'azide de sodium dans des canalisations en cuivre ou en plomb peut provoquer la formation d'azides métalliques explosifs. Ceci peut être évité en rinçant à grande eau lors d'une telle élimination.

DANGER ET MISES EN GARDE

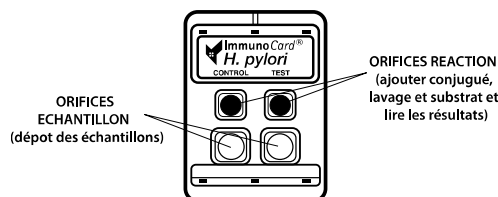
A notre connaissance, il n'y a pas de risque connu associé à ce produit.

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration est indiquée sur l'étiquette du coffret. Conserver à 2-8 C et remettre au réfrigérateur immédiatement après utilisation.

REMARQUES SUR LA PROCEDURE

- La carte de test ImmunoCard *H. pylori* se présente comme ci-dessous:



- Il est possible de traiter autant d'échantillons ou de contrôles que l'on souhaite dans la mesure où, pour chaque carte de test, les étapes, les séquences d'addition des réactifs et les temps d'incubation sont respectés.
- Le côté **CONTROL** (gauche) de chaque carte fournit un contrôle de la méthode pour chaque échantillon. Ceci permet de vérifier la dilution de l'échantillon et les performances des réactifs.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

- Le sérum, le plasma et le sang total peuvent être utilisés dans ce test. Le sodium héparine, lithium héparine, citrate de sodium et EDTA sont des anticoagulants acceptables. Les performances du test ImmunoCard *H. pylori* avec du plasma obtenu en utilisant d'autres anticoagulants ne sont pas connues. Les échantillons doivent être recueillis en utilisant les procédures de routine du laboratoire.
- Le sérum et le plasma peuvent être conservés au réfrigérateur à 2-8 C pendant 5 jours. Si le test doit être effectué plus tard, les échantillons doivent être congelés. Eviter les congélations et décongélations répétées. Les échantillons de plasma/sérum troubles ou contenant des particules de matière dévont être centrifugés avant le test.
- Le sang total contenant un anticoagulant peut être utilisé sans centrifugation. Le sang total avec du lithium héparine, de l'EDTA ou du citrate de sodium peut être conservé à 2-8 C pendant 72 heures.
- Pour la sang total obtenu à partir d'une piqûre du doigt, remplir complètement un tube capillaire et tester immédiatement.

PROCEDURE DU TEST

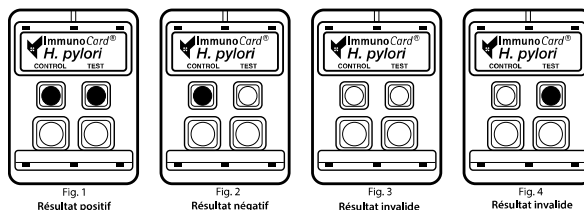
PLASMA, SERUM ET CONTROLES

- Sortir de leur emballage le nombre de cartes de test nécessaire. Les identifier de manière appropriée. Utiliser une carte pour chaque contrôle ou échantillon à tester. Les cartes de test doivent être maintenues en position horizontale pendant toute la durée du test.
- A l'aide d'une pipette de transfert, distribuer 2 gouttes de sérum ou de plasma à chacun des orifices échantillon.
Contrôles en option: le contrôle positif est testé en ajoutant directement 2 gouttes à chacun des orifices échantillon de la carte. Le contrôle négatif peut être testé de la même manière sur une carte séparée.
- Attendre 1 minute après que les échantillons ou les contrôles aient été ajoutés à chacun des orifices inférieurs.
- Ajouter 2 gouttes de conjugué enzymatique à chacun des orifices supérieurs.
- Dès l'absorption complète du conjugué enzymatique, ajouter 2 gouttes de tampon de lavage à chacun des orifices supérieurs.
- Dès l'absorption complète du tampon de lavage, ajouter 2 gouttes de solution substrat à chacun des orifices supérieurs.
- Attendre 5 minutes.**
- Sans attendre, lire visuellement les orifices supérieurs pour la présence ou l'absence de coloration bleue, dans le même ordre que l'addition du substrat a été réalisée.**

SANG TOTAL ET CONTROLES

- Sortir de leur emballage le nombre de cartes de test nécessaire. Les identifier de manière appropriée. Utiliser une carte pour chaque contrôle ou échantillon à tester. Les cartes de test doivent être maintenues en position horizontale pendant toute la durée du test.
- Ajouter 4 gouttes de diluent échantillon pour sang total dans des tubes à essai marqués.
- A l'aide d'une pipette de transfert, distribuer 2 gouttes de sang total dans les tubes à essai.
Remarque: pour le sang prélevé au bout du doigt, remplir complètement un tube capillaire de sang total. Ajouter la totalité à un tube à essai contenant 4 gouttes de diluant échantillon pour sang total.
Contrôles en option: le contrôle positif est testé en ajoutant directement 2 gouttes à chacun des orifices échantillon de la carte. Le contrôle négatif peut être testé de la même manière sur une carte séparée.
- A l'aide d'une nouvelle pipette de transfert, distribuer 2 gouttes de sang total dilué à chacun des orifices échantillon inférieurs.
- Attendre 3 minutes après l'addition des échantillons et des contrôles.
Attention : certains échantillons de sang total peuvent obstruer la membrane. Si l'échantillon n'humidifie pas complètement les orifices réaction TEST et CONTROL, le test est invalide.
- Ajouter 2 gouttes de conjugué enzymatique à chacun des orifices supérieurs.
- Dès l'absorption complète du conjugué enzymatique, ajouter 2 gouttes de tampon de lavage à chacun des orifices supérieurs.
- Dès l'absorption complète du tampon de lavage, ajouter 2 gouttes de solution substrat à chacun des orifices supérieurs.
- Attendre 5 minutes.
- Sans attendre, lire visuellement les orifices supérieurs pour la présence ou l'absence de coloration bleue, dans le même ordre que l'addition du substrat a été réalisée.**

INTERPRETATION DES RESULTATS



LIRE SEULEMENT LES ORIFICES REACTIONS SUPERIEURS POUR INTERPRETER LES RESULTATS

Résultat du test positif: Coloration bleue visible à l'œil nu dans les **DEUX orifices réactions** (Figure 1). Une réaction positive du test pourra parfois apparaître sous la forme d'un dégradé bleu du bas de l'orifice vers le haut. Un tel résultat devra être interprété comme positif. Un résultat positif indique la présence d'IgG dirigées contre *H. pylori*.

Résultat du test négatif: Coloration bleue visible à l'œil nu dans l'orifice réaction **CONTROL** (orifice supérieur gauche) seulement. L'**orifice réaction TEST** (orifice supérieur droit) doit être incolore ou gris très clair (Figure 2). L'orifice réaction **TEST** (orifice supérieur droit) peut parfois présenter un soupçon de coloration bleue du côté gauche ou droit de l'orifice étant incolore. Un tel résultat devra être interprété comme négatif. Un résultat non réactif indique soit l'absence d'IgG dirigées contre *H. pylori* soit un taux inférieur à la limite de détection du test.

Résultat du test invalide: Aucune coloration visible dans l'orifice réaction **CONTROL** (orifice supérieur gauche; Figures 3 et 4). Les résultats du test invalide peuvent être dus à un problème de réactif ou de carte test, à une erreur de procédure, ou une obstruction de la membrane par l'échantillon. Le test doit être répété.

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.

Les contrôles Positif et Négatif doivent être testés à chaque nouveau lot de coffret livré ou à chaque nouvelle livraison et donner les résultats suivants:

- Contrôle positif:** coloration bleue visible dans les deux orifices réaction (orifices supérieurs) (figure 1).
- Contrôle négatif:** coloration bleue visible dans l'orifice réaction **CONTROL** seulement (orifice supérieur gauche). L'orifice réaction **TEST** doit être incolore (figure 2).

Le contrôle interne présent dans le puits supérieur gauche de chaque carte de test, permet de vérifier la dilution de l'échantillon et les performances des réactifs. L'absence de coloration bleue du contrôle interne avec un échantillon ou le contrôle positif est le signe d'un test interprétable qui doit être répété.

Lors de chaque utilisation, les composants du kit doivent être examinés visuellement à la recherche de signes de contamination, de congélation ou de fuites. Il est recommandé de conserver les résultats de chaque vérification des réactifs dans un cahier de laboratoire afin de maintenir une qualité élevée des procédures de test. Le contrôle de procédure présent dans la portion supérieure gauche de chaque carte de test permet de vérifier la réactivité des réactifs.

Si la procédure, le contrôle positif ou négatif ne produit pas les résultats appropriés et attendus, le test est invalide et les résultats ne doivent pas être rapportés. Si les réactions attendues ne sont pas observées et si les réactifs n'ont pas dépassé leur date de péremption, la première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests 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 test ImmunoCard *H. pylori* détecte la présence des anticorps IgG dirigés contre *H. pylori* dans le sérum, le plasma et le sang total. 43,2% de sérums provenant d'une population asymptomatique ont été trouvés positifs par l'ImmunoCard *H. pylori*. Une corrélation de 99,1% à été trouvée dans une population générale d'individus symptomatiques et asymptomatiques entre les résultats obtenus sur du sang total et ceux obtenus sur des sérums. 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, des méthodes de collection, de manipulation, et de transport des échantillons, du test employé et de l'état sanitaire de la population de patients étudiée.

LIMITES DU TEST

- Les résultats du test ImmunoCard *H. pylori* doivent être utilisés conjointement avec les informations cliniques disponibles sur le patient et d'autres procédures diagnostiques.
- Ce test doit être utilisé sur des patients présentant des symptômes évidents d'une maladie gastro-intestinale. Le test ImmunoCard *H. pylori* n'est pas destiné à être utilisé sur des patients asymptomatiques.
- Un résultat de test positif ne permet pas de différencier une infection active d'une colonisation par *H. pylori*.
- L'ImmunoCard *H. pylori* est un test qualitatif qui indique seulement la présence des anticorps IgG dirigés contre *H. pylori*. Ce test ne donne pas d'indication sur la présence d'une maladie gastro-intestinale.
- Un résultat de test négatif indique l'absence d'anticorps IgG dirigés contre *H. pylori* ou que le taux d'IgG est en-dessous de la limite de détection du test.
- Le test ImmunoCard *H. pylori* n'a pas été testé sur des populations pédiatriques. Ainsi, les performances du test n'ont pas été établies pour ce groupe.
- Les interférences éventuelles de taux élevé d'hémoglobine, de lipide et de bilirubine ont été évaluées sur le test ImmunoCard *H. pylori*. Aucune interférence n'a été observée à partir d'échantillons de patients positifs ou négatifs pour les anticorps dirigés contre *H. pylori*. Les échantillons de sang total n'ont pas été évalués en ce qui concerne les interférences avec ces composés.
- Les échantillons de sang total ayant un hémocritre > 61% du volume, n'ont pas été évalués et peuvent obstruer la membrane.

PERFORMANCES DU TEST

Le test ImmunoCard *H. pylori* a été évalué dans deux hôpitaux et un laboratoire gastro-entérologique.⁴ 362 échantillons ont été obtenus à partir de patients ayant des troubles gastro-intestinaux. Tous les patients ont subi une endoscopie. Le test ImmunoCard *H. pylori* a été comparé aux résultats obtenus par le test rapide à l'uréase à partir du matériel de biopsie.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Test à l'urée sur biopsie	
	Positif	Négatif
Positif	115	50
Négatif	2	215

n= 382
sensibilité = 98.2% (94.0-99.5)*
spécificité = 81.1% (76.0-85.4)
corrélation = 86.4% (82.5-89.5)

*L'intervalle de confiance à 95% a été calculé par la méthode exacte.

47 échantillons négatifs par le test uréase/positifs en ImmunoCard *H. pylori*, ont été trouvés positifs par un test ELISA microplaque commercial, 46 de ces échantillons étaient positifs par coloration histologique et/ou le diagnostic pathologique était associé avec la maladie à *H. pylori*. Des informations complémentaires indiquent que 47 des échantillons supposés faussement positifs étaient finalement des vrais positifs en anticorps mais qui n'étaient pas positifs avec le test à l'urée. Les deux échantillons positifs par le test à l'urée/négatifs en *H. pylori* étaient négatifs avec le test ELISA commercial, indiquant que ces résultats supposés faussement négatifs étaient en fait des vrais négatifs en anticorps.

Le test ImmunoCard *H. pylori* a été comparé à un test ELISA microplaque commercial pour la détection des IgG contre *H. pylori*:

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Test ELISA		
	Positif	Négatif	I
Positif	161	4	0
Négatif	5	211	1

n= 382
sensibilité relative = 97.0% (93.1-98.7)*
spécificité relative = 98.1% (95.3-99.3)
corrélation relative = 97.6% (95.6-98.7)

Un échantillon ELISA négatif/ImmunoCard *H. pylori* positif était positif par le test à l'urée. 3 échantillons ELISA négatifs/ImmunoCard *H. pylori* positifs étaient négatifs par le test à l'urée. Les 5 échantillons ImmunoCard *H. pylori* négatifs/ELISA positifs étaient négatifs par le test à l'urée. L'échantillon indéterminé en ELISA/ImmunoCard *H. pylori* négatif était négatif par le test à l'urée.

Une étude sur les matrices des échantillons a évalué des échantillons de sang total recueillis sur lithium héparine, EDTA et citrate de sodium obtenus à partir de 108 personnes symptomatiques et asymptomatiques. La comparaison relative entre le sang total et le sérum ne peut être reliée aux résultats de biopsie. La corrélation entre les résultats pour le sang total, quelque soit l'anticoagulant (30 positifs) et pour les sérums (31 positifs), est de 99,1% (IC 95% = ± 1,8%).

Une comparaison entre les résultats obtenus pour des échantillons de sang total obtenus au bout du doigt et pour des sérums, sur 77 patients, indique une corrélation de 100% (15 positifs et 62 négatifs). Les résultats des échantillons ne peuvent être reliés aux résultats de la biopsie.

REPRODUCTIBILITE DU TEST

Deux sites cliniques ont testé un échantillon négatif, un échantillon faiblement positif et un échantillon fortement positif, 10 fois par jour pendant trois jours. Les contrôles positif et négatif ont été testés trois fois par jour au cours de la même période. Trois sites cliniques ont testé les contrôles négatif et positif ainsi que 4 échantillons négatifs et quatre échantillons de sérum positifs, trois fois par jour pendant trois jours. Au total, 450 tests ont été réalisés sur tous les sites cliniques. La reproductibilité inter et intra-essai de l'ImmunoCard *H. pylori*; avec tous les échantillons, était de 100%.⁴

SPECIFICITE DU TEST

A. Etudes bactériennes

Des études d'adsorption ont montré que le test ImmunoCard *H. pylori* ne pose pas de problèmes de réactions croisées avec les isolats cliniques (CI) ou les souches ATCC suivantes.⁴

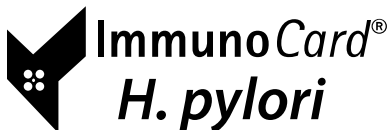
<i>Campylobacter coli</i>	CI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	AMC 13883
<i>Campylobacter fetus</i>	CI	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	ATCC 29543	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33292	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	CI
<i>Campylobacter lari</i>	CI	<i>Salmonella sp</i>	CI
<i>Campylobacter rectus</i>	ATCC 35217	<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 3551
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Shigella flexneri</i>	CI
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Shigella sonnei</i>	CI
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I)	ATCC 12598
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13407	<i>Streptococcus faecalis</i>	CI
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Wolinella succinogenes</i>	ATCC 29543
<i>Helicobacter cinaedi</i>	ATCC 35683	<i>Yersinia enterocolitica</i>	CI

B. Etude sur des sérums

Des sérums de patients qui ont été trouvés positifs en culture ou avaient des évidences sérologiques des maladies citées à la suite, n'ont pas réagi lorsqu'ils ont été testés avec le test ImmunoCard *H. pylori*.⁴

Anticorps anti-nucléaires	Cytomegalovirus	Facteur rhumatoïde	Rubéole
Lupus érythémateux	Toxoplasma	Influenza A	Coccidioides
Histoplasma	Mononucléose	Herpes Simplex Virus	Cryptococcus

ESPAÑOL



Un Test de Immunoensayo Enzimático para la Detección de IgG Contra *Helicobacter pylori* en Suero Humano, Plasma y Sangre Total

REF 710030

IVD

R_x Only

USD INDICADO

El test de inmunoensayo enzimático (EIA) ImmunoCard *Helicobacter pylori* es un procedimiento cualitativo e in vitro para la detección de anticuerpos de tipo IgG contra *Helicobacter pylori* en suero humano, plasma o sangre total. Los resultados de la prueba tienen como objeto ayudar a diagnosticar la infección por *H. pylori*. El test ImmunoCard *H. pylori* puede ser realizado en laboratorios clínicos y en consultorios médicos.

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

La importancia del *Helicobacter pylori* en las enfermedades gastrointestinales ha aumentado considerablemente desde que Marshall y Warren descubrieron la presencia de organismos semejantes a campylobacter en la mucosa antral de pacientes con evidencia histológica de gastritis del antro y úlceras pépticas, especialmente duodenales.^{3, 15} A pesar de que la causa aún no ha sido completamente establecida, la estrecha correlación entre la presencia de *H. pylori* y la gastritis confirmada por histología, enfermedad de úlcera péptica y carcinoma gástrico es indiscutible.^{3, 11, 20}

El lugar de localización en el humano parece estar restringido al estómago y al duodeno. Los pacientes con son portadores del organismo están divididos en dos grupos básicos: los primeros, son aquellos que se dice están "colonizados" por el mismo; estos pacientes tienen el organismo, y sin embargo, no tienen signos de enfermedad gastrointestinal. Aquellos con síntomas y *H. pylori* se considera que están infectados. El mecanismo por el cual un individuo colonizado desarrolla infección aún no se conoce. Además, el proceso mediante el cual los pacientes son colonizados también se está investigando.^{3, 7, 11, 13, 14}

Las estrategias diagnósticas para la determinación de infección por *H. pylori* han sido desarrolladas de dos maneras: la primera involucra la detección del organismo, y hasta la fecha, es una técnica invasiva. La segunda, una técnica no invasiva, involucra la detección de anticuerpos contra *H. pylori* o la detección de la ureasa del microorganismo.^{8, 9, 22} El método invasivo requiere que se tome una biopsia del tracto gastrointestinal superior. Luego, la presencia de *H. pylori* es confirmada mediante la determinación microscópica o el cultivo del organismo en el material de la biopsia. Esta estrategia tiene la ventaja de que puede detectar infecciones activas al tiempo que es altamente específica y tiene un valor predictivo altamente positivo. Las dificultades asociadas con esta determinación son el riesgo y malestar ocasionados al paciente. Además, *H. pylori* tiende a colonizar en un patrón "en parches" y puede no ser detectado en el lugar en que la biopsia es tomada. El cultivo de *H. pylori* a partir del material de biopsia tiende a ser difícil y demorado. Consecuentemente, estas dificultades técnicas tienden a dar resultados negativos falsos.¹³⁻¹⁹

El test del aliento con úrea es un método no invasivo que detecta la presencia de *Helicobacter pylori* por su reacción característica de gran actividad de la enzima ureasa.^{3, 8, 10} El método no invasivo más común para la detección de *H. pylori* es la identificación serológica de anticuerpos específicos en pacientes infectados. Haciendo un enfoque indirecto, la correlación que existe entre la gastritis diagnosticada histológicamente, la presencia de *H. pylori* y la seropositividad es bastante fuerte. Las desventajas de estas pruebas son que la mayoría requieren instrucción para ser interpretadas y que muchas tienen una especificidad menor, debido a la reactividad cruzada con otros organismos. Su mayor ventaja consiste en que son rápidas y que tienen una sensibilidad alta.^{5, 18, 21}

El test ImmunoCard *H. pylori* es una prueba de inmunoensayo enzimática que está contenida y es realizada en una tarjeta, en la cual se detectan anticuerpos de tipo IgG contra *H. pylori*. Los resultados son interpretados observando un cambio de color a los siete minutos de haber añadido la muestra.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

El test detecta anticuerpos de tipo IgG contra *H. pylori* mediante el uso de un inmunoensayo enzimático (EIA). Cada Tarjeta del Test consiste de un empaque plástico y una membrana de fibra que proporciona el soporte sólido para el EIA. Hay dos puertos grandes para Muestra y dos puertos pequeños de Reacción. El puerto izquierdo de reacción sirve de CONTROL y contiene anticuerpos de tipo IgG humanos inmovilizados en la membrana de fibra. El puerto de reacción derecho es el puerto de TEST que contiene antígenos inmovilizados de *H. pylori*.

El suero del paciente, plasma o la sangre total es añadido a cada uno de los dos puertos de Muestra. Después de permitir que el suero penetre la Tarjeta y migre a través de la membrana hacia los puertos de reacción, el conjugado de IgG anti-humana ligado a fosfatasa alcalina es añadido a los puertos de reacción y se deja que entre a la Tarjeta. Enseguida, se añaden Tampón de Lavado y Substrato a cada uno de los puertos de reacción, y se observan para determinar la aparición de un color azul en los mismos.

La aparición de un color azul en el puerto de reacción de TEST indica un resultado positivo de la prueba. De otro modo, la ausencia de un color azul en el puerto de reacción de TEST indica un resultado negativo de la prueba. El puerto de reacción de CONTROL sirve como un control del procedimiento. El desarrollo de color confirma que los reactivos están funcionando y que el procedimiento fue realizado correctamente.

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

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

- Tarjetas de test** — Tarjetas individualmente empaquetadas que contienen antígenos inmovilizados de *H. pylori* (puerto de reacción de TEST) e IgG humana (puerto de reacción de CONTROL).
- Control Positivo** — Suero Humano con anticuerpos de tipo IgG contra *H. pylori* en una solución tampón (pH 7,3) con azida de sodio al 0,1%.
- Control Negativo** — Suero Humano No Reactivo en una solución tampón (pH 7,3) con 0,1% de azida de sodio.
- Conjugado enzimático** — anticuerpo monoclonal IgG anti-humana marcada con fosfatasa alcalina en una solución tampón (pH 7,5) que contiene 0,1% de azida de sodio
- Tampón de Lavado** — Tampón (pH 7,2) que contiene 9,5% (p/v) de hidrocloreuro de guanidina.
- Reactivo de Substrato** — Tampón (pH 9,8) que contiene 5-bromo-4 cloro-3 indolil fosfato y 0,1% de azida de sodio.
- Diluyente para Muestras de sangre total** — Tampón (pH 7,0) que contiene dodecil sulfato de sodio y 0,1% de azida de sodio.
- Pipetas de Transferencia**

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

- Cronómetro
- Tubos de ensayo (sólo para sangre total)
- Tubos capilares (sólo para sangre total)

PRECAUCIONES

- Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
- La concentración de los reactivos, los tiempos de incubación y las temperaturas (22-27 C) han sido optimizados para garantizar la sensibilidad y especificidad del procedimiento. Ciñéndose a estas especificaciones se obtienen mejores resultados. Una vez que el ensayo ha comenzado, los pasos subsiguientes deben ser completados sin interrupción.
- Las muestras de los pacientes y los controles pueden contener agentes infecciosos. Los controles positivo y negativo contienen suero humano que fue analizado para determinar la presencia del antígeno australiano (HBsAg) de la hepatitis B, y de anticuerpos contra el virus HIV, y los resultados de estas pruebas fueron negativos. Sin embargo, como no existe ningún método que ofrezca certeza absoluta de que la sangre no va a transmitir el VIH, hepatitis u otros agentes infecciosos, las Tarjetas de Test usadas y otros materiales potencialmente infecciosos deben ser manejados a un nivel de Bioseguridad 2, tal y como se recomienda en el manual CDC/NIH (Centro para el Control de Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud de los EE.UU.) "Seguridad Biológica en Laboratorios de Microbiología, y Biomedicina".
- Todos los reactivos y muestras de los pacientes deben estar a temperatura ambiente (22-27 C) antes de ser utilizados. Además, todos los reactivos deben ser sacados de su envoltorio de espuma y agitados antes de su utilización
- No deben intercambiarse reactivos provenientes de distintos lotes de kits, ni tampoco usarse reactivos después de que éstos hayan expirado.
- Sujete los viales de los reactivos verticalmente, para asegurarse de que éstos dispensen gotas de tamaño adecuado. No permita que las puntas de los viales o de las pipetas toquen los puertos de Reacción o de la Maestra.
- Asegúrese de colocar correctamente las tapas de color en los viales que les corresponden.
- El reactivo de Substrato puede ser sensible a la luz y no debe ser expuesto a iluminación excesiva. Si este reactivo presenta un color azul, debe descartarse.
- Utilice sólo una pipeta por cada muestra, y deséchela después de usarla. No intente reutilizar la pipeta.
- Ignore cualquier reacción de color en los puertos inferiores de la muestra. Los resultados tan sólo deben determinarse basándose en el desarrollo de color en los puertos de reacción superiores.

ADVERTENCIA: Algunos reactivos presentes en este kit contienen azida de sodio que resulta irritante para la piel. Por favor, evite el contacto con estos reactivos. Al desechar reactivos que contienen azida de sodio en tuberías de plomo o de cobre, pueden formarse compuestos explosivos de azidas metálicas. Esto puede evitarse enjuagando con cantidades copiosas de agua los desagües, durante el momento en que se desechan estos reactivos.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

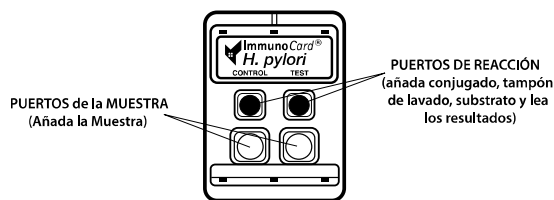
No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de expiración está indicada en el rótulo del kit. Almacene el kit entre 2-8 C y después de usarlo, colóquelo rápidamente en el refrigerador.

NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

- El diagrama que se muestra abajo corresponde al formato de la Tarjeta de Test ImmunoCard *H. pylori*



- Es posible correr una serie de muestras o controles siempre y cuando se mantenga precisión en la secuencia de adición de los reactivos y los tiempos de incubación, y en la lectura de cada tarjeta.
- El **CONTROL** (al lado izquierdo de cada tarjeta) proporciona un control interno para el funcionamiento de los reactivos, y también detecta muestras problemáticas.

MANEJO DE LAS MUESTRAS

- Suero, plasma, o sangre total pueden usarse en esta prueba. Heparina de sodio, heparina de litio, citrato de sodio y EDTA son anticoagulantes aceptables para la recolección de la muestra. No se conoce el funcionamiento del test ImmunoCard *H. pylori* con muestras de sangre obtenidas con otros anticoagulantes. Las muestras deben ser recolectadas mediante procedimientos de laboratorio previamente establecidos.
- Las muestras de suero y de plasma pueden ser almacenadas en el refrigerador entre 2-8 C por un término de hasta cinco días. En caso de que las muestras deban analizarse después de este tiempo, éstas deben congelarse. Evite ciclos repetitivos de congelamiento-descongelamiento. Una muestra de suero o de plasma turbia, o una que contiene partículas puede ser centrifugada antes de ser analizada.
- Puede usarse sangre total anticoagulada y sin centrifugar. Las muestras de sangre total anticoaguladas con heparina de litio, EDTA o citrato de sodio pueden almacenarse entre 2-8 C por un término hasta de 72 horas.
- Para sangre total obtenida por punción capilar, llene el tubo capilar por completo y realice la prueba inmediatamente.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

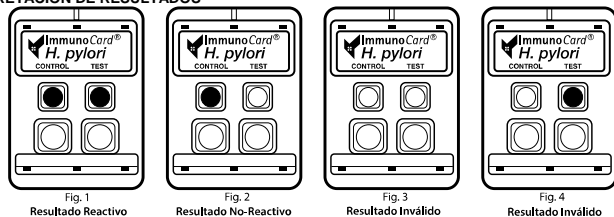
PLASMA, SUERO Y CONTROLES

- Remueva el número apropiado de Tarjetas de Test de los sobres que las contienen. Marque las tarjetas con la identificación apropiada, y use una tarjeta por cada control o muestra que va a analizarse. Las Tarjetas de Test deben mantenerse en posición horizontal durante todo el procedimiento.
- Utilizando una pipeta de transferencia, añada dos gotas de suero o plasma a los Puertos de Muestra inferiores.
Controles Opcionales: el Control Positivo se corre añadiendo dos gotas directamente a los dos Puertos de Muestra inferiores de una tarjeta. El Control Negativo puede correrse de la misma manera en otra tarjeta aparte.
- Espera un minuto después de que la muestra o el control haya sido añadido a ambos puertos inferiores.
- Añada dos gotas de Conjugado Enzimático a ambos puertos superiores.
- Tan pronto como el Conjugado Enzimático se haya absorbido completamente, añada dos gotas de Tampón de Lavado a ambos puertos superiores.
- Apenas el Tampón de Lavado se haya absorbido completamente, añada dos gotas de Solución de Sustrato a ambos puertos superiores.
- Espera cinco minutos.**
- Sin demora, observe y lea los puertos superiores y determine en presencia o ausencia de color azul en el mismo orden en que la Solución de Sustrato fue añadida.**

SANGRE TOTAL Y CONTROLES

- Remueva el número apropiado de Tarjetas de Test de los sobres que las contienen. Marque las tarjetas con la identificación apropiada, y use una tarjeta por cada muestra que va a analizarse. Las Tarjetas de Test deben mantenerse en posición horizontal durante todo el procedimiento.
- Añada cuatro gotas de Sangre Total o de Diluyente para Muestra a un tubo de ensayo marcado.
- Usando una pipeta de transferencia, añada dos gotas de sangre total al tubo de ensayo.
NOTA: para el procedimiento con sangre obtenida por punción capilar, llene completamente un tubo capilar con sangre total. Añada todo el contenido del mismo a un tubo de ensayo que contenga cuatro gotas de Diluyente para Muestra de Sangre Total.
- Controles Opcionales:** los controles Positivo y Negativo son probados añadiendo dos gotas al tubo de ensayo que contiene cuatro gotas de Diluyente para Muestra de Sangre Total.
- Utilizando una pipeta nueva, añada dos gotas de la sangre total diluida, a de los controles, a los dos Puertos de Muestra inferiores.
- Espera tres minutos después de que la muestra o el control ha sido añadido a ambos puertos inferiores.
ADVERTENCIA: algunas muestras de sangre total pueden taponar la membrana. Si la muestra no humedece por completo los puertos de reacción de Test y de Control, la prueba no se considera válida.
- Añada dos gotas de Conjugado Enzimático a ambos puertos superiores.
- Tan pronto como el Conjugado Enzimático se haya absorbido por completo, añada dos gotas de Tampón de Lavado a ambos puertos superiores.
- Tan pronto como el Tampón de Lavado se haya absorbido por completo, añada dos gotas de Solución de Sustrato a ambos puertos superiores.
- Espera cinco minutos.
- Sin demora, observe y lea los puertos superiores y determine la presencia o ausencia de color azul en el mismo orden en que la Solución de Sustrato fue añadida.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



LEA SÓLO LOS PUERTOS SUPERIORES DE REACCIÓN PARA INTERPRETAR LOS RESULTADOS

Resultado Positivo del Test: color azul visible en **AMBOS** puertos de reacción. Ocasionalmente, una reacción positiva en el Test puede presentarse como un gradiente de color azul desde el fondo hacia la parte superior del puerto. Esta reacción debe considerarse positiva. Un resultado positivo en la prueba indica la presencia de IgG contra *H. pylori*.

Resultado Negativo del test: color azul visible en el puerto de reacción **CONTROL** (superior izquierdo) solamente. El puerto de reacción del **TEST** (superior derecho) debe ser **incoloro** o **gris claro**. Ocasionalmente, el puerto de reacción de **TEST** puede presentar un indicio de color azul en la parte derecha o izquierda del puerto, y el resto del puerto permanece incoloro. Esta reacción debe considerarse negativa. Un resultado negativo indica que la presencia de IgG contra *H. pylori* está ausente, o por debajo del nivel de detección del ensayo.

Resultado del test Inválido: no hay color detectable en el puerto de reacción **CONTROL**. Los resultados inválidos pueden deberse a un problema de reactivo/Tarjeta de test ImmunoCard, a un error en el procedimiento, o al taponamiento de la membrana con muestra; repita el test.

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

Los Controles Positivo y Negativo deben ser probados con cada lote nuevo o con cada embarque y deben dar el siguiente resultado. Estos deben generar los siguientes resultados:

- Control Positivo: color azul en ambos puertos de reacción superiores (Figura 1).
- Control Negativo: color azul detectable sólo en el puerto de reacción de CONTROL (superior izquierdo). El puerto de reacción de TEST (superior derecho) debe ser incoloro (Figura 2).

El control del procedimiento presente en el puerto superior izquierdo de cada Tarjeta de Test prueba cada muestra individualmente al igual que el funcionamiento de los reactivos. La ausencia de un color azul en el Control del Procedimiento con cualquier suero o reactivo control es indicativa de que la prueba no es válida, y ésta debe ser repetida.

En el momento de ser usados, los componentes del kit deben ser examinados para determinar la presencia de signos obvios de contaminación, congelamiento o derrame. Es recomendable que los resultados de cada prueba de control de calidad sean registrados en un libro apropiado para esto, con el objeto de mantener una calidad alta de los registros de las pruebas. El Control Positivo resalta el límite de detección del ensayo. El Control interno del Procedimiento que se encuentra en la porción superior izquierda de cada tarjeta de Prueba verifica la reactividad de cada reactivo.

En caso de que los controles del procedimiento, positivo o negativo no generen los resultados apropiados y esperados, la prueba se considerará inválida y los resultados del paciente no deben ser reportados. Si los resultados esperados para el control no son observados, repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian Bioscience, al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.

VALORES ESPERADOS

Los estudios epidemiológicos de *H. pylori* han demostrado que este organismo está presente en todo el mundo.^{12, 16}

La gastritis por *H. pylori* ha demostrado estar correlacionada con la edad, el ancestro étnico, el tamaño de la familia y la clase socio-económica.^{8, 10} A medida que los estudios epidemiológicos de la infección o colonización por *H. pylori* aumentan, la ruta por la cual los individuos adquieren el organismo hasta el momento se desconoce.^{3, 7, 11, 13, 14}

Los estudios indican que la incidencia de la infección en los EE.UU. puede aumentar anualmente entre un 1-2%.¹⁰ No es raro ver tasas de positividad del 50% en pacientes que tienen 60 o más años de edad. Sin embargo, la frecuencia de infección por *H. pylori* que ha sido demostrada en pacientes diagnosticados con úlceras duodenales en todos los grupos de edades ha sido aproximadamente del 80%.¹² Los niveles de positividad para *H. pylori* que han sido vistos, claramente dependen de la población de muestra, y de cómo se define dicha población.

El Test ImmunoCard *H. pylori* detecta la presencia de anticuerpos de tipo IgG contra *H. pylori* en suero, plasma y sangre total. Los sueros de una población general sintomática tuvieron una incidencia de positividad de 43,2% en el Test ImmunoCard *H. pylori*. En una población general de individuos sintomáticos y asintomáticos hubo una correlación del 99,1%, entre los resultados obtenidos en sangre total y en suero. Los valores esperados para tiro población determinada deben ser determinados por cada laboratorio. La tasa de positividad puede variar, dependiendo de la localización geográfica, del método de recolección, almacenamiento y transporte de la muestra, del test empleado, y del entorno de salud general de la población de pacientes que está siendo estudiada.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Los resultados del Test ImmunoCard *H. pylori* deben ser usados en conjunto con la información disponible al respecto de la evaluación clínica del paciente, y con los resultados de otros procedimientos diagnósticos.
- Este test tan sólo debe usarse en pacientes que presenten síntomas que sugieren enfermedad gastrointestinal. El Test ImmunoCard *H. pylori* no está indicado para usar en pacientes asintomáticos.
- Un resultado positivo no distingue una infección activa de una colonización por *H. pylori*.
- ImmunoCard *H. pylori* es un test cualitativo que sólo indica la presencia de anticuerpo de tipo IgG contra *H. pylori*. Este test no indica que hay enfermedad gastrointestinal presente.
- Un test negativo en la prueba indica la ausencia de anticuerpo de tipo IgG contra *H. pylori*, o que el nivel de la IgG está por debajo del límite de detección del test.
- ImmunoCard *H. pylori* no ha sido estudiado en pacientes pediátricos, y por lo tanto, no se han establecido características de funcionamiento para este grupo de pacientes.
- ImmunoCard *H. pylori* fue evaluado para determinar la presencia de posibles interferencias por niveles altos de hemoglobina, lípidos y bilirrubina. En muestras de suero que eran positivas o negativas para la presencia de anticuerpos contra *H. pylori* no se observó interferencia por parte de estos compuestos.
- Muestras de sangre total con niveles de hematocrito por encima de > 61% (volumen) no han sido evaluadas y pueden taponar la membrana.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

El Test ImmunoCard *H. pylori* fue evaluado en dos hospitales y en un laboratorio de gastroenterología.⁴ Un total de 382 muestras de suero fueron obtenidas de pacientes que presentaban quejas gastrointestinales. Todos los pacientes fueron sometidos a endoscopia. Los resultados obtenidos con el test ImmunoCard *H. pylori* fueron comparados con aquellos obtenidos en el test de ureasa con material de biopsia.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Test de Ureasa en el material de biopsia	
	Positivo	Negativo
Positivo	115	50
Negativo	2	215

n= 382
Sensibilidad = 98.2% (94.0-99.5)*
Especificidad = 81.1% (76.0-85.4)
Concordancia = 86.4% (82.5-89.5)

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

Cuarenta y siete biopsias Ureasa negativa/ImmunoCard *H. pylori* positiva dieron resultado positivo en otra prueba comercial de EIA en micropocillos. Entre éstas, 46 fueron positivas en tinción histológica y/o su diagnóstico patológico fue asociado con enfermedad por *H. pylori*. La información adicional indica que 47 de las 50 muestras con resultado positivo falso relativo, en realidad fueron anticuerpos positivos verdaderos que no fueron positivos no el test de ureasa en la biopsia. Las dos muestras con resultado ureasa positivo/ImmunoCard *H. pylori* negativo dieron un resultado negativo al ser examinadas con otra prueba comercial de EIA en micropocillos, indicando, por tanto, que en realidad estos resultados negativos falsos relativos, fueron anticuerpos negativos verdaderos.

El test ImmunoCard *H. pylori* fue comparado con otra prueba comercial de EIA en micropocillos para de detección de IgG contra *H. pylori*.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Test EIA Comercial		
	Positivo	Negativo	Ind.
Positivo	161	4	0
Negativo	5	211	1

n= 382			
Sensibilidad Relativa	=	97.0%	(93.1-98.7)*
Especificidad Relativa	=	98.1%	(95.3-99.3)
Concordancia Relativa	=	97.6%	(95.6-98.7)

Una muestra EIA negativa/ImmunoCard *H. pylori* positiva dio resultado positivo en la prueba de Ureasa en material de biopsia. Tres muestras con resultado EIA negativo/ImmunoCard *H. pylori* positivo dieron resultado negativo en el test de Ureasa en material de biopsia. Todas las cinco muestras ImmunoCard *H. pylori* negativas/EIA positiva dieron resultado negativo en el test de Ureasa en material de biopsia. La única muestra EIA indeterminada/ImmunoCard *H. pylori* negativo dio resultado negativo en el test de Ureasa en material de biopsia.

Un estudio de las matrices de la muestra evaluó sangre total recolectada en heparina de litio, EDTA y citrato de sodio, y suero recolectado a partir de 108 individuos sintomáticos y asintomáticos. La comparación relativa de sangre total a suero no pudo trazarse hasta los resultados de biopsia. Hubo una concordancia del 99,1% (IC de 95% = ± 1,8%) entre los resultados de sangre total (independiente del tipo de anticoagulante) (30 positivos) y los de suero (31 positivos).

La comparación entre los resultados obtenidos con muestras de sangre capilar obtenida por punción con lanceta y aquellos obtenidos con suero en 77 individuos indicó una concordancia del 100%; 15 positivos y 62 negativos. Los resultados de las muestras no pudieron ser trazados hasta los resultados de las biopsias.

REPRODUCIBILIDAD

Dos sitios de estudio en centros clínicos corrieron una muestra de suero negativa, positiva baja y positiva alta diez veces al día, durante tres días. Los controles Positivo y Negativo fueron corridos tres veces al día durante este período de pruebas. Tres sitios de estudio en centros clínicos corrieron los controles Positivos y Negativos, y cuatro muestras de suero negativas y cuatro positivas, tres veces al día, durante tres días. Un total de 450 ensayos fueron realizados en todos los sitios de estudio. La reproducibilidad entre prueba y prueba, y dentro de la misma prueba, del test ImmunoCard *H. pylori* con todas las muestras fue equivalente al 100%.⁴

ESPECIFICIDAD DEL ENSAYO

A. Estudios Bacterianos

Los estudios de adsorción demostraron que el test ImmunoCard *H. pylori* no tiene problemas de reactividad cruzada con las siguientes cepas de aislados clínicos (CI) o cepas ATCC.⁴

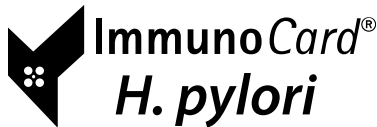
<i>Campylobacter coli</i>	CI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	AMC 13883
<i>Campylobacter fetus</i>	CI	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	ATCC 29543	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33292	<i>Pseudomonas fluorescencia</i>	CI
<i>Campylobacter lari</i>	CI	<i>Salmonella sp</i>	CI
<i>Campylobacter rectus</i>	ATCC 35217	<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 3551
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Shigella flexneri</i>	CI
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Shigella sonnei</i>	CI
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I)	ATCC 12598
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13407	<i>Streptococcus faecalis</i>	CI
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Wolinella succinogenes</i>	ATCC 29543
<i>Helicobacter cinaedi</i>	ATCC 35683	<i>Yersinia enterocolitica</i>	CI

B. Estudios en Suero

Los sueros de pacientes que tenían cultivos positivos o evidencia serológica de las siguientes enfermedades no dieron reacciones de reactividad cruzada al ser analizados con el test ImmunoCard *H. pylori*.⁴

Anticuerpos anti-nucleares	Citomegalovirus	Factor reumatoide	Rubella (sarampión alemán)
Lupus eritematoso	Toxoplasma	Influenza A	Coccidiosis
Histoplasma	Mononucleosis	Virus del Herpes simplex	Cryptococcus

DEUTSCH



Elisa-Schnelltest zum Nachweis von IgG Gegen *Helicobacter pylori* in Humanem Serum, Plasma, und Vollblut

REF 710030

IVD

Rx Only

VERWENDUNGSZWECK

Der ImmunoCard *H. pylori* Enzymimmunoassay (ELISA) ist ein qualitativer in vitro-Schnelltest zum Nachweis von IgG gegen *Helicobacter pylori* in menschlichem Serum, Plasma oder Vollblut. Die Testergebnisse sollen die Diagnose der *H. pylori*-Infektion unterstützen. Der ImmunoCard *H. pylori*-Test kann in Kliniklabors und Arztpraxen durchgeführt werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Die Bedeutung von *Helicobacter pylori* für gastrointestinale Erkrankungen ist stark angestiegen, seit Marshall und Warren das Vorkommen von Campylobacter-artigen Organismen in der Antrum-Mucosa von Patienten mit histologisch nachgewiesener Antrum-Gastritis oder peptischem Ulcus, insbesondere Ulcus duodeni, beschrieben.³ Obwohl ein Kausalzusammenhang bisher noch nicht vollständig hergestellt werden konnte, kann die deutliche Korrelation zwischen dem Vorkommen von *H. pylori* und der histologisch gesicherten Gastritis, dem peptischen Ulcus und dem Magenkarzinom nicht länger abgestritten werden.^{3,11,20}

Die ökologische Nische beim Menschen scheint auf den Magen und das Duodenum beschränkt zu sein. Patienten, die den Erreger tragen, teilen sich in zwei Gruppen. Bei den Patienten der ersten Gruppe spricht man von "Besiedlung," sie tragen den Erreger, zeigen jedoch keine Symptome gastrointestinaler Erkrankungen. Diejenigen mit Symptomen werden als infiziert betrachtet. Unklar bleibt, wodurch ein besiedeltes zu einem infizierten Individuum wird. Auch der Besiedlungsvorgang ist noch Gegenstand der Forschung.^{3,7,11,13,14}

Zur Bestimmung von *H. pylori* wurden zwei diagnostische Strategien entwickelt: Die erste beinhaltet den direkten Nachweis des Erregers und ist—bis heute—invasiv. Beim zweiten, nichtinvasiven Ansatz, werden die Antikörper gegen *H. pylori* oder die Urease des Erregers nachgewiesen.^{8,9,22}

Der invasive Weg bedarf einer Gewebeentnahme aus dem oberen Gastrointestinal-Trakt. Das Vorkommen von *H. pylori* wird dann direkt mikroskopisch oder durch Kultivierung des Erregers aus dem Biopsiematerial bestätigt. Diese Strategie hat den Vorteil, aktive Infektionen nachzuweisen und ist dabei hochspezifisch mit einem sehr hohen positiven prädiktiven Wert. Das Risiko und die Beschwerden für den Patienten sind bei dieser Strategie problematisch. Hinzu kommt, daß *H. pylori* dazu neigt, sich nur stellenweise anzusiedeln und so bei der Biopsienahme ganz verfehlt werden kann. Die Kultivierung von *H. pylori* aus Biopsiematerial ist eher schwierig und zeitaufwendig. Diese technischen Schwierigkeiten können zu falsch negativen Ergebnissen führen.^{1-3,19} Der Harnstoff-Atmetest ist eine nicht-invasive Methode, die *H. pylori* unter Ausnutzung seiner hohen Urease-Aktivität^{8,10} nachweist. 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 nur nach genauer Anweisung interpretiert werden können und daß viele aufgrund von Kreuzreaktionen mit anderen Erregern eine niedrigere Spezifität haben, Ihre Hauptvorteile sind die schnelle Durchführung und ihre hohe Sensitivität.^{5,16,21}

Der ImmunoCard *H. pylori* ist ein Enzymimmunoassay, der ohne weiteres Zubehör IgG-Antikörper gegen *H. pylori* nachweist. Die Ergebnisse werden durch einen sichtbaren Farbumschlag innerhalb von 7 Minuten nach der Probenzugabe abgelesen.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Der Test weist IgG-Antikörper gegen *H. pylori* nach dem Prinzip eines ELISA nach. Jede Testkarte besteht aus einem Plastikmantel und einer Fasermembran, die den festen Träger des ELISA darstellt. Es gibt zwei große Probenfenster und zwei kleine Reaktionsfenster. Das linke Reaktionsfenster dient als Kontrolle und enthält auf der Fasermembran gebundene menschliche IgG Antikörper. Das rechte Reaktionsfenster ist das Test-Fenster und enthält gebundene *H. pylori*-Antigene.

In jedes der beiden Probenfenster wird Patienten-Serum, -Plasma oder -Vollblut gegeben, nachdem die Probe in die Karte eingegeben ist und entlang der Membran in die Reaktionsfenster gewandert ist, wird ein Konjugat von anti-humanem IgG markiert mit alkalischer Phosphatase in die Reaktionsfenster gegeben, das man in die Karte einzeln lässt. Waschpuffer und Substrat werden dann in jedes der Reaktionsfenster gegeben. Die Entwicklung von blauer Farbe in den Reaktionsfenstern wird beobachtet.

Die Entwicklung von blauer Farbe im TEST-Reaktionsfenster zeigt ein positives Testergebnis an. Wenn sich keine blaue Farbe in TEST-Reaktionsfenster entwickelt, ist das Testergebnis negativ. Das KONTROLL-Reaktionsfenster dient als Verfahrenskontrolle. Ein Farbumschlag bestätigt, daß die Reagenzien in Ordnung sind und die Testdurchführung korrekt war.

REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN

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

1. Testkarten: einzeln in Folie verpackte Karten, die fest gebundene *H. pylori*-Antigene (TEST-Reaktionsfenster) und menschliches IgG (KONTROLL-Reaktionsfenster) enthalten
2. Positiv-Kontrolle: menschliches Serum mit IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* in einem Puffer (pH 7,3) mit 0,1% Natriumazid
3. Negativ-Kontrolle: nichtreaktives humanes Serum in einem Puffer (pH 7,3) mit 0,1% Natriumazid
4. Enzymkonjugat: monoklonales anti-humanes IgG, markiert mit alkalischer Phosphatase in einem Puffer (pH 7,25) mit 0,1% Natriumazid
5. Waschpuffer: Puffer (pH 7,2) mit 9,5% (Gew./Vol.) Guanidinhydrochlorid
6. Substrat-Reagenz: Puffer (pH 9,8) mit 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-Phosphat und 0,1% Natriumazid
7. Vollblut-Probenverdünnungspuffer: Puffer (pH 7,0) mit Natriumdodecylsulfat und 0,1% Natriumazid
8. Transfer-Pipetten

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Stopp-Uhr
2. Reagenzröhrchen (nur für Vollblut)
3. Kapillarröhrchen (nur für Vollblut)

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Reagenzien-Konzentrationen, Inkubationszeiten und Temperaturen (22-27 °C) wurden bezüglich Sensitivität und Spezifität optimiert. Die besten Resultate werden bei Einhaltung dieser Vorgaben erzielt. Wenn der Test einmal begonnen wurde, sollten alle weiteren Schritte ohne Unterbrechung vollendet werden.
3. Patientenproben und Kontrollen können infektiös sein. Die positiven und negativen Kontrollen enthalten humanes Serum, das auf HBsAg und Antikörper gegen HIV untersucht und für negativ befunden wurde. Kein Test kann jedoch mit absoluter Sicherheit ausschließen, daß HIV, Hepatitis- oder andere Erreger mit menschlichem Blut übertragen werden. Daher sollten Patientenproben, Kontrollen, benutzte Testkarten sowie anderes potentiell infektiöses Material nach dem Biosafety Level 2 — Richtlinien - wie in dem CDC/NIH Handbuch "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories," beschrieben - gehandhabt werden.
4. Alle Reagenzien und Patientenproben sollten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (22-27 °C) erwärmt werden. Zusätzlich sollten alle Reagenzien aus der Kiverpackung genommen und vor Gebrauch gemischt werden.
5. Reagenzien aus Testkits mit unterschiedlicher Chargennummer sollten nicht ausgetauscht werden. Abgelaufene Reagenzien nicht verwenden.
6. Reagenzien-Flaschen senkrecht halten, um eine sorgfältige Zugabe von Tropfen der richtigen Größe zu erzielen. Mit den Spitzen der Flaschen oder Pipetten weder die Proben- noch die Reaktionsfenster berühren. Die Flaschen mit den richtigen Deckeln wiederverschließen.
7. Das Substrat-Reagenz kann lichtempfindlich sein und sollte nicht einer übermäßigen Belichtung ausgesetzt werden. Wenn dieses Reagenz eine Blaufärbung zeigt, sollte es verworfen werden.
8. Pro Probe jeweils eine Transferpipette benutzen. Nach Gebrauch wegwerfen. Auf keinen Fall wiederverwenden.
9. Farbreaktionen in den (unteren) Probenfenstern nicht beachten. Die Ergebnisse werden durch die Farbentwicklung in den (oberen) Reaktionsfenstern bestimmt.

WARNING: Einige Reagenzien dieses Testkits enthalten Natriumazid, das hautreizend wirkt. Hautkontakt mit den Reagenzien vermeiden. Das Entsorgen von Natriumazid-haltigen Reagenzien in Blei- oder Kupferrohren kann zur Bildung explosiver Metallazide führen. Dies kann durch Spülen mit großen Wassermengen während des Entsorgens vermieden werden.

GEFÄHREN UND SICHERHEITSHINWEISE

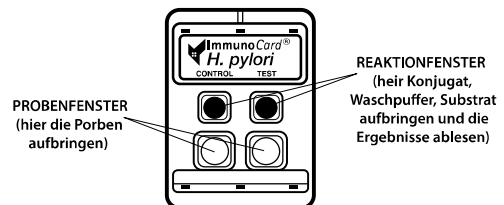
Es gibt keine bekannten Gefahren die mit diesem Produkt verbunden sind.

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Haltbarkeitsdatum ist auf dem Testkit-Etikett angegeben. Den Kit bei 2-8 °C lagern und sofort nach jedem Gebrauch in den Kühlschrank zurücklegen.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

1. Das Format der ImmunoCard *H. pylori* Testkarte ist unten abgebildet :



2. Die Analyse von Series von Proben oder Kontrollen ist möglich, vorausgesetzt, daß für jede Testkarte alle Arbeitsschritte und die Inkubationszeiten eingehalten werden.
3. Die (linke) KONTROLL-Seite jeder Karte dient als Verfahrenskontrolle zur Identifizierung problematischer Proben und zur Überprüfung der Reagenzien-Qualität.

PROBENNAHME UND VORBEREITUNG

- Serum, Plasma oder Vollblut kann in diesem Test verwendet werden. Natriumheparinat, Lithiumheparinat, Natriumcitrat und EDTA sind geeignete Antikoagulantien. Bisher liegen keine Erkenntnisse über die Qualität der Testergebnisse des ImmunoCard *H. pylori* - Tests vor, wenn andere Antikoagulantien verwendet werden. Die Proben müssen nach Standard-Labormethoden gewonnen werden.
- Serum und Plasma kann im Kühlschrank bei 2-8 °C bis zu 5 Tage aufbewahrt werden. Wenn der Test erst später durchgeführt werden soll, sollten die Proben eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden. Eine Serum-/Plasma-Probe, die trübe ist oder Partikel enthält, kann vor dem Test zentrifugiert werden.
- Vollblut mit Antikoagulant kann ohne Zentrifugation verwendet werden. Mit Lithiumheparinat, EDTA oder Natriumcitrat können Blutproben bei 2-8 °C bis zu 72 Stunden aufbewahrt werden.
- Bei Vollblut aus der Fingerbeere sollte das Kapillarröhrchen vollständig gefüllt und sofort analysiert werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

PLASMA; SERUM UND KONTROLLEN

- Die benötigte Anzahl von Testkarten aus ihren Verpackungen nehmen. Zur Identifizierung kennzeichnen. Nur eine Karte für jede Kontrolle oder jede zu analysierende Probe benutzen. Die Testkarten müssen während der Testdurchführung horizontal gehalten werden.
- Mit einer Transferpipette zwei Tropfen Serum oder Plasma in beide unteren Fenster geben. **Kontrollen (nicht zwingend):** die Positiv-Kontrolle kann durch direkte Zugabe von je zwei Tropfen in beide oberen Fenster einer Karte getestet werden. Die Negativ-Kontrolle kann in derselben Art auf einer eigenen Karte getestet werden.
- Eine Minute, nachdem die Probe oder Kontrolle in die beiden unteren Fenster gegeben wurde, warten.
- Zwei Tropfen des Enzymkonjugats in die beiden oberen Fenster geben.
- Sobald das Enzymkonjugat vollständig aufgesaugt ist, zwei Tropfen Waschpuffer in die beiden oberen Fenster geben.
- Sobald der Waschpuffer vollständig aufgesaugt ist, zwei Tropfen der Substratlösung in beide oberen Fenster geben.
- Fünf Minuten warten.**
- Sofort in den oberen Fenstern nur das Auftreten oder Ausbleiben der Blaufärbung ablesen, und zwar in derselben Reihenfolge, in der die Substratlösung zugegeben worden war.**

VOLLBLUT UND KONTROLLEN

- Die benötigte Anzahl von Testkarten aus ihren Verpackungen nehmen. Zur Identifizierung kennzeichnen. Nur eine Karte für jede Kontrolle oder jede zu analysierende Probe benutzen. Die Testkarten müssen während der Testdurchführung horizontal gehalten werden.
- Vier Tropfen Vollblut-Probenverdünnungspuffer in ein beschriftetes Glas-Reagenzröhrchen geben. Mit einer Transferpipette zwei Tropfen Vollblut in das Reagenzröhrchen geben. **Achtung:** bei Abnahme aus der Fingerbeere, das Kapillarröhrchen vollständig mit Vollblut füllen. Den gesamten Inhalt in ein Reagenzröhrchen geben, das vier Tropfen Vollblut-Probenverdünnungspuffer enthält. **Kontrollen (nicht zwingend):** die Positiv- und Negativ-Kontrollen werden durch Zugabe von je zwei Tropfen in ein Reagenzröhrchen, das vier Tropfen Vollblut-Probenverdünnungspuffer enthält, getestet.
- Mit einer neuen Transfer-Pipette zwei Tropfen des verdünnten Vollbluts oder der Kontrollen in die beiden unteren Probenfenster geben.
- Drei Minuten, nachdem die Proben oder die Kontrollen in die beiden unteren Fenster gegeben wurden, warten. **VORSICHT:** manche Vollblutproben können die Membran verstopfen. Wenn die Probe die Test- und Kontroll-Reaktionsfenster nicht vollständig befeuchtet, ist der Test ungültig.
- Zwei Tropfen des Enzymkonjugats in die beiden oberen Fenster geben.
- Sobald das Enzymkonjugat vollständig aufgesaugt wurde, zwei Tropfen Waschpuffer in die beiden oberen Fenster geben.
- Sobald der Waschpuffer vollständig aufgesaugt ist, zwei Tropfen der Substratlösung in beide oberen Fenster geben.
- Fünf Minuten warten.
- Sofort in den oberen Fenstern nur das Auftreten oder Ausbleiben der Blaufärbung ablesen, und zwar in derselben Reihenfolge, in der die Substratlösung zugegeben worden war.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

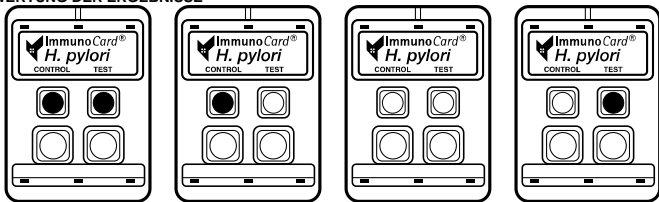


Abb. 1 Positives Ergebnis
Abb. 2 Negatives Ergebnis
Abb. 3 Ungültiges Ergebnis
Abb. 4 Ungültiges Ergebnis

NUR DIE OBEREN REAKTIONSFENSTER ZUR INTERPRETATION DER ERGEBNISSE ABLESEN

Positives Testergebnis: deutlich sichtbare Blaufärbung in **BEIDEN** Reaktionfenstern (Abb.1). Gelegentlich kann ein positives Ergebnis eine Abstufung der blauen Farbe vom unteren bis zum oberen Rand des Reaktionsfensters zeigen. Dies sollte als positives Ergebnis angesehen werden. Ein positives Testergebnis zeigt das Vorhandensein von IgG gegen *H. pylori* an.

Negatives Testergebnis: Deutlich sichtbare Blaufärbung nur im **KONTROLL**-Reaktionsfenster (oben links). Das **TEST**-Reaktionsfenster (oben rechts) sollte farblos bis schwach grau sein (Abb. 2). Gelegentlich kann das TEST-Reaktionsfenster (oben rechts) auf der linken oder rechten Seite eine Spur blauer Farbe zeigen, während der Rest des Fensters farblos bleibt. Dies sollte als negatives Testergebnis angesehen werden. Negative Testergebnisse zeigen entweder an, daß keine IgG gegen *H. pylori* vorliegen, oder daß die Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests liegt.

Ungültiges Testergebnis: Keine erkennbare Farbe im **KONTROLL**-Reaktionsfenster (oben links; Abb. 3 und 4). Ungültige Testergebnisse können auf ein Problem der Reagenzien des ImmunoCard[®]-Tests, auf einen Verfahrensfehler oder auf das Verstopfen der Membran durch die Probe zurückzuführen sein; den Test wiederholen.

QUALITÄTSKONTROLLE

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

Jede neue Kitcharge oder jede neue Lieferung soll mit den positiven und negativen Kontrollen überprüft werden mit folgenden Ergebnissen:

- Positiv-Kontrolle: sichtbare blaue Farbe in beiden (oberen) Reaktionsfenstern (Abb.1)
- Negativ-Kontrolle: sichtbare blaue Farbe nur im KONTROLL-Reaktionsfenster (oben links). Das TEST-Reaktionsfenster (oben rechts) sollte farblos sein (Abb.2).

Die Verfahrenskontrolle im linken oberen Fenster jeder Testkarte überprüft die einzelnen Proben und das Funktionieren der Reagenzien. Wenn die Verfahrenskontrolle weder mit einer Probe noch mit dem Kontroll-Reagenz eine Blaufärbung aufweist, zeigt dies einen ungültigen Test an, der wiederholt werden sollte.

Bei jedem Gebrauch sollten die Testbestandteile auf offensichtliche Zeichen von mikrobiellem Befall, Vereinigungen oder Undichtigkeiten untersucht werden. Die Ergebnisse jeder Qualitätskontrolle sollten in einem geeigneten Laborjournal aufgezeichnet werden, um einen hohen Standard der Testdokumentation aufrecht zu erhalten. Die Positivkontrolle überprüft den Test am Cut-Off-Punkt. Die Verfahrenskontrolle im oberen linken Teil einer jeden Testkarte überprüft die Reaktivität von jedem Reagenz.

Wenn die Verfahrens- die Positiv- oder Negativ-Kontrolle nicht die richtigen oder erwarteten Ergebnisse bringt, ist der Test ungültig und die Ergebnisse der Patienten sollten nicht weitergegeben werden. Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, zur Ermittlung der Ursache des Versagens als Erstes die Kontrolltests wiederholen. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Distributor.

ERWARTETE WERTE

Epidemiologiestudien über *H. pylori* haben gezeigt, daß dieser Erreger 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 die Besiedlung stetig wachsen, ist der Infektionsweg zur Zeit unbekannt.^{3, 7, 11, 13, 14}

Studien zeigen, dass die Inzidenz der Intektion in den USA mit jedem Lebensjahr um 1-2% steigen kann.¹⁰ Positivraten von 50% sind nicht ungewöhnlich bei Personen mit 60 Jahren oder mehr. Die Häufigkeit von *H. pylori*-Intektionen bei Patienten mit diagnostiziertem Ulcus duodeni liegt jedoch in jeder Altersgruppe bei ungefähr 80%.¹² Die Positivrate von *H. pylori* ist klar abhängig von der Population, aus der die Proben genommen wurden, und davon, wie diese Population definiert ist.

Der ImmunoCard *H. pylori* Test weist das Vorkommen von IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* im Serum, Plasma und Vollblut nach. 43,2% der Seren einer Population mit allgemeiner Symptomatik waren mit ImmunoCard *H. pylori* Antikörper-positiv. Es gab eine 99,1 %ige Korrelation zwischen den Ergebnissen mit Vollblut und mit Serum bei einer allgemeinen Population mit symptomatischen und asymptomatischen Personen. Erwartungswerte für eine gegebene Population sollten für jedes Labor bestimmt werden. Die Rate positiver Ergebnisse kann mit der Region, der Methode der Probenabnahme, -handhabung und des -transports, mit dem angewendeten Test und den allgemeinen Gesundheitsbedingungen der untersuchten Population variieren.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Die Ergebnisse von ImmunoCard *H. pylori* sollten in Verbindung mit klinischen Befunden des Patienten und anderen diagnostischen Ergebnissen bewertet werden.
- Dieser Test sollte nur bei Patienten angewendet werden, deren Symptomatik eine gastrointestinale Erkrankung nahe legen. Der ImmunoCard *H. pylori* -Test ist nicht zur Anwendung bei asymptomatischen Patienten vorgesehen.
- Ein positives Testergebnis unterscheidet nicht zwischen einer aktiven Infektion und einer Kolonisierung mit *H. pylori*.
- ImmunoCard *H. pylori* ist ein qualitativer Test, der nur das Vorkommen von IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* anzeigt. Er weist nicht das Vorkommen einer gastrointestinalen Erkrankung nach.
- Ein negatives Testergebnis zeigt an, daß keine IgG-Antikörper gegen *H. pylori* vorliegen, oder daß die IgG-Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests liegt.
- ImmunoCard *H. pylori* wurde bisher nicht in pädiatrischen Populationen getestet. Daher wurde kein Leistungsprofil für diese Gruppe erstellt.
- ImmunoCard *H. pylori* wurde auf mögliche Störungen durch hohe Hämoglobin-, Lipid- und Bilirubin-Spiegel untersucht. Es wurden keine Interferenzen beobachtet in Serumproben, die entweder positiv oder negativ bezüglich der Antikörper gegen *H. pylori* waren. Vollblutproben wurden nicht auf Interferenzen durch diese Stoffe untersucht.
- Vollblutproben mit einem Hämatokritwert > 61 % wurden nicht untersucht und können die Membran verstopfen.

LEISTUNGSMERKMALE

Der ImmunoCard *H. pylori* Test wurde in zwei Krankenhäusern und einem gastroenterologischen Labor bewertet.⁴ Insgesamt wurden 382 Serum-Proben von Patienten mit gastrointestinalen Beschwerden getestet. Alle Patienten unterzogen sich einer Endoskopie. Der ImmunoCard *H. pylori* Test wurde mit Ergebnissen verglichen, die aus Biopsiematerial mit Biopsie-Urease-Schnelltests erzielt wurden.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Biopsie-Urease Test	
	Positiv	Negativ
Positiv	115	50
Negativ	2	215

n= 382		
Sensitivität	= 98.2%	(94.0-99.5)*
Spezifität	= 81.1%	(76.0-85.4)
Übereinstimmung	= 86.4%	(82.5-89.5)

*95% Vertrauensintervalle berechnet mit der Normalmethode in Klammern

47 Proben die im Biopsie-Urease-Test negativ und im ImmunoCard *H. pylori* Test positiv waren, waren auch in einem Konkurrenz-Mikrotiter-ELISA positiv. 46 dieser Proben waren in der histologischen Färbung positiv und/oder die pathologische Diagnose einer *H. pylori*-Erkrankung wurde assoziiert. Diese zusätzlichen Informationen belegen, dass es sich bei 47 der 50 im Vergleich falsch positiven Ergebnisse tatsächlich um Antikörper-positiven Proben handelte, die im Biopsie-Urease-Test negativ waren. Die beiden Proben, die im Urease-Test positiv und im ImmunoCard *H. pylori* Test negativ waren, waren auch in einem Konkurrenz-Mikrotiter-ELISA negativ, was belegt, dass diese im Vergleich falsch negativen Ergebnisse tatsächlich Antikörper-negative Ergebnisse waren.

Der ImmunoCard *H. pylori* Test wurde mit einem Konkurrenz-Mikrotiter-ELISA auch bezüglich des Nachweises von IgG gegen *H. pylori* verglichen.

ImmunoCard <i>H. pylori</i>	Konkurrenz ELISA		
	Positiv	Negativ	I
Positiv	161	4	0
Negativ	5	211	1

n= 382		
Relative Sensitivität	= 97.0%	(93.1-98.7)*
Relative Spezifität	= 98.1%	(95.3-99.3)
Relative Übereinstimmung	= 97.6%	(95.6-98.7)

Eine Probe, die im ELISA negativ und im ImmunoCard *H. pylori* Test positiv war, war auch im Biopsie-Urease-Test positiv. Drei Proben, die im ELISA negativ und im ImmunoCard *H. pylori* Test positiv waren, waren im Biopsie-Urease-Test negativ. Alle fünf Proben, die im ELISA positiv und im ImmunoCard *H. pylori* Test negativ waren, waren im Biopsie-Urease-Test negativ. Die eine Probe, die im ELISA unklar und im ImmunoCard *H. pylori* Test negativ war, war im Biopsie-Urease-Test negativ.

In einer Proben-Matrix-Studie wurde Vollblut, das in Lithium-Heparin, EDTA und Natriumcitrat abgenommen wurde, und Serum, das von 108 symptomatischen und asymptomatischen Personen stammte, untersucht. Der relative Vergleich von Vollblut zu Serum konnte nicht durch Biopsie-Resultate bewertet werden. Es wurde eine 99,1% (95% CI = ± 1,8%) Übereinstimmung zwischen den Vollblut-Resultaten erzielt, wenn man die Antikoagulantien- (30 positive) und die Serum-Resultate (31 positive) außer Acht lässt.

Ein Vergleich zwischen den Ergebnissen von Kapillarblut, welches aus dem Finger entnommen wurde, und dem Serum von 77 Personen zeigte eine 100% Übereinstimmung: 15 positive und 62 negative. Die Probenresultate konnten nicht durch Biopsie-Resultate bewertet werden.

REPRODUZIERBARKEIT

Zwei klinischen Zentren analysierten eine negative, eine schwach positive und eine stark positive Serum-Probe jeweils 10mal an drei Tagen. Die Positiv- und die Negativ-Kontrolle wurden während dieser Testperiode dreimal am Tag getestet. Drei klinische Zentren analysierten die Positiv- und die Negativ-Kontrollen sowie vier negative und vier positive Serumproben dreimal am Tag an drei Tagen. Insgesamt wurden 450 Tests in all diesen Testzentren durchgeführt. Die Reproduzierbarkeit des ImmunoCard *H. pylori* Tests innerhalb eines Testlaufs (intra-assay) und zwischen den Testläufen (inter-assay) mit allen Proben betrug 100%.⁴

TESTSPEZIFITÄT

A. Studien mit Bakterien

Adsorptionsstudien zeigten, dass beim ImmunoCard *H. pylori* Test keine Kreuzreaktivitäts-Probleme mit den folgenden klinischen Isolaten (CI) oder ATCC-Stämmen auftreten.⁴

<i>Campylobacter coli</i>	CI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	AMC 13883
<i>Campylobacter fetus</i>	CI	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	ATCC 29543	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33292	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	CI
<i>Campylobacter lari</i>	CI	<i>Salmonella</i> sp	CI
<i>Campylobacter rectus</i>	ATCC 35217	<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 3551
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Shigella flexneri</i>	CI
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Shigella sonnei</i>	CI
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I)	ATCC 12598
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13407	<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Wolinella succinogenes</i>	ATCC 29543
<i>Helicobacter cinaedi</i>	ATCC 35683	<i>Yersinia enterocolitica</i>	CI

B. Studien mit Serum

Seren van Patienten, deren Kulturen positiv waren oder einen serologischen Nachweis für folgende Erkrankungen zeigten, reagierten nicht bei einer Testung mit dem ImmunoCard *H. pylori* Test.⁴

Anti-nukleäre Antikörper	Zytomegalie-Virus	Rheumafaktor	Rubella-Virus
Lupus erythematoses	Toxoplasmose	Influenza A	Coccidioides
Histoplasma	Mononukleose	Herpes-simplex-Virus	Cryptococcus

REFERENCES

- Alpert LC, Graham DY, Jr Evans DJ, Yoshimura HH, Hazell SaL, Evans DG, et al. Diagnostic possibilities for *Campylobacter pylori* infection. Eur J Gastroenterol. Hepatol, 1989; 1:17-26.
- Barthel JS, Everett ED. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: The "gold standard" and the alternatives. Rev Infect Dis. 1990; 12:S107-S114.
- Buck GE. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin Microbial Rev. 1990; 3:1-12.
- Data on file, Meridian Bioscience, Inc.
- Jr Evans DJ, Evans DG, Graham DY, 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, Jr Evans DJ, et al. 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, Jr Evans DJ, Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. Lancet i: 1987; 1174-1177.
- Graham DY, Klein PD, Opekun AR, 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, Jr Evans DJ, Klein PD, 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, Sidor AE. *Helicobacter pylori* and inflammatory disease of the stomach and duodenum. Stomach and Bowel. Sept. 1991; 29-30, 35-37.
- Loffeld RJLF, Stobberingh E, Van Spreuwel JP, Flendrig JA, 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, 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, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric campylobacter. Med J Aust. 1985; 142:436-439.
- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet i: 1984; 1311-1314.
- Morris A, Nicholson G, Lloyd G, Haines D, Rogers A, Taylor D. Seroprevalence of *Campylobacter pyloridis*. N Z Med J. 1986; 99:657-659.
- Murray DM. Clinical relevance of infection by *Helicobacter pylori*. Clin Microbial Lett. 1993; 15:33-37.
- Newell 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, et al. Evaluation of diagnostic methods for *Helicobacter pylori* gastritis. Am J Clin Path. 1991; 95:769-773.
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, et al. *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, et al. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J Clin Microbiol. 1991; 29:1635-1639.
- Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA. Evaluation of a rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection. J Clin Microbiol 1988; 26:1393-1394.

INTERNATIONAL SYMBOL 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, Guia de simbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / 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 medico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	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
CE	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 échant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenverdünnung, 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 / Solamente per valutazione delle prestazioni / Reactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Solo para evaluación de funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contiene 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 / Límites 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 / Reagents / 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
R. Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Per Receta / verschreibungspflichtig	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Détection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagent

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.



SN11233

REV. 12/16

 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