

# NADAL<sup>®</sup> H. pylori Ag Test (test cassette)

REF 262002



<b>DE</b>	Gebrauchsanweisung	2	<b>PL</b>	Sposób użycia	17
<b>EN</b>	Instruction for use	5	<b>PT</b>	Instruções de Utilização	20
<b>FR</b>	Instructions d'utilisation	8		Symbols	23
<b>ES</b>	Instrucciones de uso	11		Our Teams	24
<b>IT</b>	Istruzioni per l'uso	14			

### 1. Verwendungszweck oder Anwendungsbereich

Der NADAL® H. pylori Ag Test (Stuhl) ist ein schneller visueller Immunoassay für den qualitativen Nachweis von *Helicobacter pylori*-Antigenen in humanen Stuhlproben. Der NADAL® H. pylori Ag Test dient als Hilfsmittel bei der Diagnose von *Helicobacter pylori*-Infektionen.

### 2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

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

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

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

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

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

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

### 3. Testprinzip

Der NADAL® H. pylori Ag Schnelltest (Stuhl) wurde konzipiert, um *Helicobacter pylori* durch visuelle Interpretation einer Farbentwicklung auf dem internen Teststreifen nachzuweisen. *H. pylori*-Antikörper sind im Testlinienbereich der Membran immobilisiert. Während des Testablaufs reagiert die Stuhlprobe mit farbigen *H. pylori*-Antikörper-kolloidales Gold-Konjugaten, welche auf dem Sample Pad des Tests vorbeschichtet sind. Durch Kapillarkraft läuft das Gemisch die Membran entlang und interagiert mit Reagenzien auf der Membran. Wenn in der Probe ausreichend *H. pylori*-Antigene vorhanden sind, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich (T) der Membran. Das Vorhandensein dieser farbigen Linie weist auf ein positives Ergebnis hin, während ihre Abwesenheit auf ein negatives Ergebnis hindeutet.

Weiterhin muss im Kontrolllinienbereich (C) des Tests immer eine farbige Linie erscheinen. Sie dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probe hinzugefügt wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

### 4. Bestandteile der Testpackung

- 20 einzeln verpackte Testkassetten
- 20 Probensammelröhrchen mit Puffer
- 1 Gebrauchsanweisung

### 5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer
- Patientenkarten
- ggf. Zentrifuge
- ggf. Mikropipette

### 6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Testkassette kann bei 2-30°C bis zum auf dem Folienbeutel aufgedruckten Haltbarkeitsdatum gelagert werden. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel bleiben. Nicht einfrieren. Achten Sie darauf, dass die Komponenten des Testkits vor Verschmutzung geschützt werden. Verwenden Sie den Test nicht, wenn es Anzeichen für eine mikrobielle Kontamination oder einen Niederschlag gibt. Biologische Kontamination von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien kann zu falschen Testergebnissen führen.

### 7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Den Test nicht nach Ablauf der Haltbarkeit verwenden. Test nicht verwenden, wenn die Folienverpackung beschädigt ist. Nur zum Einmal-Gebrauch.
- Dieses Testkit enthält Produkte tierischen Ursprungs. Zertifiziertes Wissen über den Ursprung und/oder den Gesundheitsstatus der Tiere garantieren nicht die vollständige Abwesenheit von übertragbaren pathogenen Agenzien. Daher wird empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu behandeln und diese nur unter Einhaltung der gewöhnlichen Sicherheitsvorkehrungen zu verwenden (z. B. nicht einnehmen oder einatmen).
- Vermeiden Sie Kreuzkontamination der Proben, indem Sie für jede Probe einen neuen Probenbehälter und ein neues Probensammelröhrchen verwenden.
- Lesen Sie die ganze Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben oder Testkits umgegangen wird. Behandeln Sie alle Proben als potentiell infektiös. Während des gesamten Tests bewährte Vorsichtsmaßnahmen gegen mikrobiologische Gefahren beachten und bei der Probenentsorgung Standardverfahren einhalten.
- Tragen Sie Schutzkleidung wie Laborkittel, Einweghandschuhe und Schutzbrillen während der Testdurchführung.
- Feuchtigkeit und hohe Temperaturen können das Testergebnis negativ beeinflussen.
- Die benutzten Testmaterialien sind entsprechend der örtlichen Bestimmungen zu entsorgen.



## 8. Probennahme, -vorbereitung und Lagerung

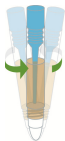
- Der NADAL® H. pylori Ag Test (Stuhl) ist nur für den Gebrauch mit humanen Stuhlproben konzipiert worden.
- Führen Sie den Test sofort nach der Probensammlung durch. Lassen Sie die Proben nicht über längere Zeit bei Raumtemperatur stehen. Proben können bei 2-8°C bis zu 72 Stunden gelagert werden.
- Bringen Sie die Proben vor dem Testen auf Raumtemperatur.
- Verpacken Sie die Proben unter Beachtung der geltenden Vorschriften für Transport von ätiologischen Krankheitserregern, falls sie versendet werden sollen.

## 9. Testdurchführung

**Vor der Testdurchführung bringen Sie die Tests, die Proben, den Puffer und/oder die Kontrollen auf Raumtemperatur (15-30°C).**

### Probensammlung und -vorbereitung:

- Verwenden Sie die im Testkit vorhandenen Probensammelröhrchen für die Probenaufnahme. Beste Ergebnisse werden erreicht, wenn der Test innerhalb von 6 Stunden nach der Probensammlung durchgeführt wird.
- Schrauben Sie die Verschlusskappe des Probensammelröhrchens auf und entnehmen Sie den Applikator. Achten Sie darauf, dass keine Lösung aus dem Röhrchen verschüttet oder verspritzt wird. Sammeln Sie die Proben, indem Sie den Applikator in mindestens 3 verschiedene Stellen des Stuhls stechen, um ungefähr 50 mg des Stuhls (äquivalent zu 1/4 einer Erbse) aufzunehmen.
- Geben Sie den Applikator zurück in das Röhrchen und schrauben Sie die Verschlusskappe fest zu. Achten Sie darauf, die Spitze des Probensammelröhrchens nicht abzubringen.
- Schütteln Sie das Probensammelröhrchen kräftig, um die Probe gut mit dem Extraktionspuffer zu vermischen.



### Testdurchführung:

- Entnehmen Sie die NADAL® H. pylori Ag Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und legen Sie sie auf eine saubere und ebene Oberfläche. Markieren Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation. Um ein optimales Ergebnis zu erhalten, sollte der Test innerhalb einer Stunde durchgeführt werden.
- Brachen Sie die Spitze des Probensammelröhrchens unter Verwendung eines Papiertuchs ab. Halten Sie das Röhrchen aufrecht und tropfen Sie 2 Tropfen der Lösung in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Vermeiden Sie das Entstehen von Luftblasen in der Probenvertiefung (S). Tropfen Sie keinerlei Lösung in das Ergebnisfenster. Sobald der Test anfängt zu laufen, sehen Sie, wie sich die Farbe die Membran entlang bewegt.



- Warten Sie auf das Erscheinen der farbigen Linie(n). Das Ergebnis sollte nach 10 Minuten abgelesen werden. Nach 20 Minuten sollte keine Interpretation mehr stattfinden.

**Bemerkung:** Falls die Probe nicht wandert (Anwesenheit von Partikeln), zentrifugieren Sie die extrahierte Probe im Probensammelröhrchen. Geben Sie 80 µl des Überstandes in die Probenvertiefung (S) einer neuen Testkassette und beginnen Sie erneut, indem Sie den oben erwähnten Anweisungen folgen.

## 10. Testauswertung

### Positiv:

Zwei farbige Linien erscheinen auf der Membran: eine im Kontrolllinienbereich (C), die andere im Testlinienbereich (T).



### Negativ:

Nur eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). Im Testlinienbereich (T) ist keine farbige Linie sichtbar.



### Ungültig:

Erscheint im Kontrolllinienbereich (C) keine Linie, so liegt ein Fehler vor. Die Ergebnisse von dem Test, bei dem die Kontrolllinie zur festgelegten Ableszeit nicht ausgebildet ist, sollten verworfen werden. Verfahrensablauf überprüfen und den Test mit einer neuen Testkassette durchführen. Falls das Problem weiterbesteht, das Testkit ab sofort nicht weiterverwenden und sich mit Ihrem Distributor in Verbindung setzen.



### Bemerkung:

Die Farbintensität im Testlinienbereich (T) kann stark von der in der Probe vorhandenen Konzentration der Analyten abhängen. Deshalb sollte jeder Farbton im Testlinienbereich als ein positives Ergebnis angesehen werden. Beachten Sie, dass dies ein qualitativer Test ist und er daher nicht die Konzentration der Analyten in der Probe feststellen kann. Unzureichendes Probenvolumen, inkorrekte Testdurchführung oder abgelaufene Tests sind die häufigsten Gründe für das Fehlen der Kontrolllinie.

## 11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

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

Externe Kontrollen werden nicht mit dem Testkit geliefert. Es empfiehlt sich, Positiv- und Negativkontrollen im Rahmen der Guten Laborpraxis durchzuführen, um die Testdurchführung und die Testleistung zu überprüfen.

## 12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® H. pylori Ag Test (Stuhl) ist für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch konzipiert und sollte nur für den qualitativen Nachweis von *Helicobacter pylori* verwendet werden.
- Während bestimmter Antibiotika-Behandlungen, kann die Konzentration des *H. pylori*-Antigens so abnehmen, dass sie unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt. Daher sollte die Diagnose während einer Antibiotika-Behandlung mit Vorsicht gemacht werden.
- Genau wie bei allen diagnostischen Tests sollte eine endgültige klinische Diagnose nicht auf den Ergebnissen eines einzigen Tests basieren, sondern erst nach der Evaluierung aller klinischen und labortechnischen Befunde vom Arzt gestellt werden.

## 13. Leistungsmerkmale des Tests

Der NADAL® H. pylori Ag Schnelltest vs. Biopsie/ Histologie/ RUT

Biopsie/ Histologie/ RUT	NADAL® H. pylori Ag Schnelltest			
		+	-	Total
	+	132	0	132
	-	0	154	154
	Total	132	154	286

Relative Sensitivität: >99,9% (97,3% - 100,0%)\*

Relative Spezifität: >99,9% (97,6% - 100,0%)\*

Allgemeine Übereinstimmung: >99,9% (98,7% - 98,8%)\*

\*95% Konfidenzintervall

### Kreuzreaktivität:

Die Kreuzreaktivität des NADAL® H. pylori Ag Test wurde mit folgenden Organismen bei einer Konzentration von 10<sup>5</sup> Organismen/ml untersucht. Es wurde keine Kreuzreaktivität mit diesen Organismen bei dem NADAL® H. pylori Ag Test beobachtet:

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Group <i>C. Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
Group <i>B Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

## 14. Referenzen

1. Marshall, BJ, McGeachie, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Australia. (1985), 149: 439-44.
2. Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. New England J. Med. (1990), 322: 909-16.
3. Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Amer. J. Gastroenterology. (1987), 82(4): 292-96.
4. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. Am j. Med. 1996; 100:355-415.
5. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 1996;91:1112-1115.

Rev. 1, 2014-08-05 OM/UJ

## 1. Intended Use

The NADAL® H. pylori Ag Test (Faeces) is a rapid visual immunoassay for the qualitative presumptive detection of *Helicobacter pylori* antigens in human faecal specimens. The NADAL® H. pylori Ag Test is intended to be used as an aid in the diagnosis of *H. pylori* infection.

## 2. Introduction and Clinical Significances

*Helicobacter pylori*, also known as *Campylobacter pylori*, is a spiral-shaped, gram-negative bacterium with typical flagella. The bacterium infects the gastric mucosa by secreting the vacuolating cytotoxin A (VacA) and causes several gastroenteric diseases such as non-ulcerous dyspepsia, active gastritis or gastric and duodenal ulcer. *H. pylori* is classified as carcinogen agent type I and can increase the risk of stomach adenocarcinoma.

Many *H. pylori* strains have been isolated. The one expressing the cytotoxin associated gene A (CagA) antigen is found to be highly immunogenic and is of utmost clinical importance because of its association with cytotoxic factors. It is widely reported in the specialist literature that infected patients possessing antibodies against CagA are at five times higher risk of gastric cancer than the reference group infected with a CagA negative bacterial strain. The presence of the CagA antibodies determines the persistence of *H. pylori* infection and ulceration.

CagA antigen associated to others, such as CagII and CagC seems to act as a starting agent of a sudden inflammatory response, which may provoke peptic ulceration, allergic episodes and decrease the efficacy of therapy.

At present several invasive and non-invasive methods are available to detect *H. pylori* infection. Invasive methods which require endoscopy of the gastric mucosa with a histologic, cultural and urease investigation are cost- and time-consuming.

Non-invasive methods include classical ELISA, immunoblotting assays and breath tests. But the latter are extremely complicated and highly unselective.

## 3. Principle of the Test

The NADAL® H. pylori Ag Test (Faeces) is designed to detect *Helicobacter pylori* through visual interpretation of colour development on the internal strip. *H. pylori* antibodies are immobilised in the test line region of the membrane. During the test, the specimen reacts with coloured *H. pylori* antibody colloidal gold conjugates which are precoated on the sample pad of the test. The mixture then moves along the membrane by capillary action and interacts with reagents on the membrane.

If there are enough *H. pylori* antigens in the specimen, a coloured line appears in the test line region (T) of the membrane. This coloured line indicates a positive result, while its absence indicates a negative result. A coloured line should always appear in the control line region (C) and serves as a procedural control indicating that sufficient volume of sample has been added and that membrane wicking has occurred.

## 4. Reagents and Materials Supplied

- 20 individually packed test cassettes
- 20 specimen dilution tubes with buffer

- 1 package insert

## 5. Additional Required Materials

- Timer
- Patient cards
- Centrifuge (if necessary)
- Micropipette (if necessary)

## 6. Storage & Stability

The test cassette can be stored at 2-30°C until the expiry date printed on the sealed pouch. The test cassette must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze. Care should be taken to protect the components of the test kit from contamination. Do not use the test if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to false results.

## 7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Do not use the test after the expiration date indicated on the package. Do not use the test if the foil pouch is damaged. Do not reuse tests.
- This test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore, recommended that these products be treated as potentially infectious and handled by observing usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection container for each specimen obtained.
- Read the entire procedure carefully prior to testing.
- Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens and kits are handled. Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions against microbiological hazards throughout the procedure and follow standard procedures for the proper disposal of specimens.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are assayed.
- Humidity and temperature can adversely affect results.
- Used testing materials should be discarded according to local regulations.

## 8. Specimen Collection and Preparation

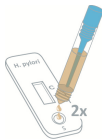
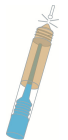
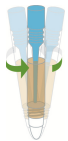
- The NADAL® H. pylori Ag Test (Faeces) is intended only for use with human faecal specimens.
- Perform testing immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time. Specimens can be stored at 2-8°C for up to 72 hours.
- Bring specimens to room temperature prior to testing.
- Pack specimens in compliance with applicable regulations for transportation of etiological agents, in case they need to be shipped.

## 9. Procedure of the Test

**Bring tests, specimens, buffer and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.**

**Specimen collection and pre-treatment:**

1. Use the specimen dilution tubes provided in the test kit for specimen collection. Best results will be obtained if the assay is performed within 6 hours after collection.
2. Unscrew and remove the dilution tube applicator. Be careful not to spill or spatter solution from the tube. Collect specimens by inserting the applicator stick into at least 3 different sites of the faeces to collect approximately 50 mg of faeces (equivalent to 1/4 of a pea).
3. Place the applicator back into the tube and screw the cap tightly. Be careful not to break the tip of the dilution tube.
4. Shake the specimen dilution tube vigorously to mix the specimen and the extraction buffer.

**Testing**

1. Remove the NADAL® H. pylori Ag test cassette from the sealed pouch and place it on a clean, level surface. Label the test cassette with patient or control identification. To obtain the best result, the assay should be performed within one hour.
2. Using a piece of tissue paper, break the tip of the dilution tube. Hold the tube vertically and dispense 2 drops of the solution into the specimen well (S) of the test cassette. Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S). Do not drop any solution into the result window. As the test begins to work, you will see colour moving along the membrane.
3. Wait for the coloured line(s) to appear. The result should be read at 10 minutes. Do not interpret the result after 20 minutes.

**Note:** If the specimen does not migrate (presence of particles), centrifuge the extracted specimens in the tubes. Collect 80 µL of supernatant, dispense it into the specimen well (S) of a new test cassette and start afresh following the instructions mentioned above.

**10. Interpretation of the Results****Positive:**

Two coloured lines appear on the membrane. One line appears in the control line region (C) and the other line appears in the test line region (T).

**Negative:**

Only one coloured line appears in the control line region (C). No coloured line appears in the test line region (T).

**Invalid:**

The control line fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat the test with a



new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

**Note:**

The intensity of colour in the test line region (T) may vary depending on the concentration of analytes present in the specimen. Therefore, any shade of colour in the test line region should be considered as positive result. Note that this is a qualitative test only and cannot be used to determine the concentration of analytes in the specimen.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for control line failure.

**11. Quality Control**

An internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

External controls are not supplied with this test kit. It is recommended that positive and negative controls be tested as a *Good Laboratory Practice* to confirm the test procedure and to verify proper test performance.

**12. Limitations**

- The NADAL® H. pylori Ag Test (Faeces) is for professional *in-vitro* diagnostic use and should be used for the qualitative detection of *Helicobacter pylori* only.
- During certain antibiotic treatments, the concentration of *H. pylori* antigens can decrease below the minimum detection level of the test. Therefore, diagnosis should be made with caution during antibiotic treatment.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

**13. Performance Characteristics**

The NADAL® H. pylori Ag Test vs. Biopsy/Histology/RUT

Biopsy/ Histology/ RUT	NADAL® H. pylori Ag Test		
	+	-	Total
+	132	0	132
-	0	154	154
Total	132	154	286

Relative Sensitivity: >99.9% (97.3% - 100.0%)\*

Relative Specificity: >99.9% (97.6% - 100.0%)\*

Overall Agreement: >99.9% (98.7% - 98.8%)\*

\*95% Confidence Interval

**Cross-reactivity:**

Cross-reactivity of the NADAL® H. pylori Ag Test has been studied with the following organisms at 10<sup>9</sup> organisms/ml. No cross-reactivity was observed with these organisms when tested with the NADAL® H. pylori Ag Test (Faeces).

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Group <i>C Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
Group <i>B Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

#### 14. References

1. Marshall, BJ, McGeachie, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Australia. (1985), 149: 439-44.
2. Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. New England J. Med. (1990), 322: 909-16.
3. Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Amer. J. Gastroenterology. (1987), 82(4): 292-96.
4. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. Am j. Med. 1996; 100:355-415.
5. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 1996;91:1112-1115.

Rev. 1, 2014-08-05 OM/UJ

### 1. Domaine d'application

Le test rapide NADAL® H. pylori Ag (selles) est un test par immunodosage à lecture visuelle pour la détection qualitative de l'antigène de *H. pylori* dans des échantillons de selles. Ce test est une aide au diagnostic d'une infection par *H. pylori*.

### 2. Introduction et signification clinique

*Helicobacter pylori* (connu autrefois sous le nom de *Campylobacter* bactérie) est une bactérie hélicoïdale munie de flagelles. Elle est Gram négative et provoque des inflammations de la muqueuse gastrique. Elle est à l'origine de différentes maladies gastriques comme la dyspepsie, des ulcères gastriques et duodénaux ou des gastrites et peut alors augmenter le risque de développer des adénocarcinomes, la classifiant ainsi comme agent cancérigène de type I.

Diverses souches d'*Helicobacter* ont été isolées, se différenciant par leur virulence. Les souches les plus virulentes sont surtout caractérisées par la présence de la cytotoxine vacuolante (VacA) et de l'îlot de pathogénicité des gènes associés à la cytotoxine (de l'anglais : cytotoxin associated genes) cag. Ces facteurs liés à l'infiltration de la muqueuse gastrique sont souvent associés à la persistance de l'infection et sont considérés comme l'un des déclencheurs cliniquement importants d'inflammations soudaines, du développement d'ulcères (ulcères gastriques et duodénaux), de réactions allergiques et de la diminution de l'efficacité de traitements.

La protéine CagA, fortement immunogène et sécrétant dans les cellules gastriques par un mécanisme spécifique, est particulièrement importante. Dans divers ouvrages spécialisés, on décrit que des patients infectés, ayant des anticorps dirigés contre le produit génique de CagA, présente un risque cinq fois plus grand de développer un cancer de l'estomac qu'un groupe de référence infecté par une souche bactérienne négative à CagA.

Il existe pour le moment différentes méthodes invasives ou non-invasives afin de déterminer l'état de l'infection.

Les méthodes invasives requièrent une endoscopie de la muqueuse gastrique avec une analyse histologique, une détection bactérienne et un test de l'uréase qui sont coûteux et qui prennent un certain temps avant d'obtenir un diagnostic correct. Les méthodes non-invasives sont aussi une possibilité comme un test respiratoire à l'urée marquée qui est très compliqué et coûteux, ou des tests classiques comme ELISA ou l'immunoblotting.

### 3. Principe du test

Le test rapide NADAL® H. pylori Ag (selles) permet de détecter *H. pylori* par l'interprétation de l'apparition ou non de lignes colorées. Des anticorps anti-*H. pylori* sont immobilisés sur la membrane au niveau de la zone de test. Lors du test, l'échantillon réagit avec les conjugués anticorps anti-*H. pylori* marqués à l'or colloïdal et recouvrant le tampon à l'extrémité de la membrane. Le mélange va ensuite migrer le long de la membrane par capillarité et interagir avec les réactifs présents sur la membrane.

Si l'échantillon testé contient assez d'antigènes *H. pylori*, une ligne colorée apparaît dans la zone de test. L'apparition de cette ligne colorée indique un résultat positif, son absence indique un résultat négatif. Une ligne colorée doit toujours

apparaître dans la zone de contrôle. Cette procédure de contrôle indique qu'un volume suffisant d'échantillon a été ajouté et que la migration le long de la membrane s'est correctement effectuée.

### 4. Composants de l'emballage

- 20 Cassettes emballées séparément
- 20 Tubes collecteurs avec solution de dilution
- 1 Mode d'emploi

### 5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Centrifugeuse
- Chronomètre
- Carte patient
- Micropipettes

### 6. Péremption et conservation des réactifs

Le test doit être conservé à 2-30°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur son emballage.

Ne pas congeler.

Conservé le test dans son emballage jusqu'à utilisation.

Protéger les réactifs de toute contamination. Ne pas utiliser si une contamination microbienne est constatée ou en cas de précipitation. Une contamination biologique du matériel, des réceptifs ou des réactifs peut entraîner de faux résultats.

### 7. Précautions et mesures de sécurité

- Uniquement pour une utilisation professionnelle *in-vitro*.
- Ne pas utiliser après expiration de la date de conservation. Ne pas utiliser le test si son emballage est endommagé. Produit à usage unique.
- Le kit contient des produits d'origine animale. La certification de l'origine et du statut sanitaire des animaux ne peut garantir l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Considérer le kit comme potentiellement infectieux et suivre les bonnes pratiques de laboratoires (ne pas ingérer, ne pas inhaler).
- Éviter toute contamination croisée des échantillons en utilisant pour chaque échantillon un nouveau tube collecteur.
- Lire attentivement l'ensemble de la procédure avant de commencer le test.
- Ne pas fumer, ni manger ni boire sur le lieu d'exécution du test. Manipuler les échantillons de la même manière qu'un agent infectieux. Respecter les bonnes pratiques de laboratoires et jeter le test dans un conteneur adapté après la manipulation. Porter des vêtements de protection lors de l'exécution du test : blouse de laboratoire, lunettes de protection et gants jetables.
- L'humidité et la température peuvent affecter les résultats du test.
- Après utilisation, éliminer le test selon les directives locales.

### 8. Recueil et conservation des échantillons

- Le test rapide NADAL® H. pylori Ag (selles) doit être réalisé uniquement sur des échantillons de selles humaines.
- Effectuer le test immédiatement après la collecte de l'échantillon. Ne pas conserver l'échantillon à température ambiante pendant une période prolongée. L'échantillon peut être conservé en milieu réfrigéré (2-8°C) pendant 72 heures.



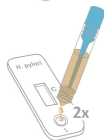
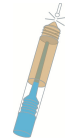
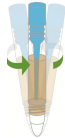
- Ramener l'échantillon à température ambiante avant l'exécution du test.
- Si l'échantillon doit être expédié, le conditionnement doit respecter la législation locale relative au transport d'agents étiologiques.

### 9. Exécution du test

**Ramener le test, l'échantillon, la solution de dilution et les éventuels contrôles à température ambiante (15-30°) avant utilisation.**

#### Collecte et préparation de l'échantillon

1. Utiliser le tube collecteur fourni dans le kit pour recueillir les prélèvements. Afin d'obtenir de meilleurs résultats, veiller à exécuter le test dans les 6 heures qui suivent le prélèvement des selles.
2. Ouvrir le tube collecteur en dévissant le bouchon et sortir l'appliqueur. S'assurer qu'aucun fluide ne sorte ni n'éclabousse en dehors du tube. Planter l'appliqueur à 3 endroits différents dans les selles et collecter environ 50 mg de matière fécale.
3. Insérer l'appliqueur à nouveau dans le tube et bien visser le bouchon. S'assurer de ne pas casser l'embout du tube collecteur.
4. Agiter vigoureusement afin d'homogénéiser la solution de dilution et l'échantillon.



#### Réalisation du test

1. Sortir le test de son emballage et le placer sur une surface plane et propre. Identifier le test avec les données du patient. De meilleurs résultats sont obtenus si le test est réalisé dans l'heure suivant l'ouverture.
2. Casser l'embout du tube collecteur à l'aide d'un papier absorbant. Déposer 2 gouttes de la solution dans le puits de dépôt (S) de la cassette. Eviter la formation de bulles d'air et ne pas déposer la solution dans la fenêtre de lecture. Lancer le chronométrage. Au début de la réaction, le liquide coloré commence à se déplacer le long de la membrane.
3. Attendre l'apparition des lignes colorées. Lire le résultat après 10 minutes. Ne pas interpréter après 20 minutes.

**Remarque:** Si l'échantillon ne migre pas correctement (présence de particules), centrifuger la solution. Collecter et déposer 80 µL du surnageant dans le puits de dépôt (S) d'une nouvelle cassette.

### 10. Interprétation des résultats

#### Positif

Deux lignes colorées apparaissent. En plus de la ligne rouge dans la zone de contrôle (C), une ligne rouge apparaît dans la zone de test (T).



#### Négatif

Une ligne rouge apparaît dans la zone de contrôle (C). Aucune ligne rouge n'est visible dans la zone de test (T).



#### Invalide

Si aucune ligne n'apparaît dans la zone de contrôle, le résultat de test n'est pas concluant et doit être interprété comme invalide. Ceci peut indiquer qu'une erreur est survenue lors de l'exécution du test ou alors que les échantillons ne sont plus utilisables. Recommencer l'analyse avec un nouveau test. Suivre alors les instructions à la lettre. Si le problème persiste, contacter le fabricant.



**Remarque:** L'intensité de la ligne de test (T) peut varier selon la concentration des analytes dans l'échantillon. Toute ligne apparue doit être considérée comme un résultat positif. Ce test est un test qualitatif, la concentration en analytes dans l'échantillon ne peut pas être déterminée.

Les principales raisons d'une absence de ligne de contrôle (C) sont un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou un test arrivé à date de péremption.

### 11. Contrôle qualité

Une procédure de contrôle interne est incluse dans le test. Une ligne colorée doit toujours apparaître dans la zone de contrôle (C). Cette procédure de contrôle indique qu'un volume suffisant d'échantillon a été ajouté et que la migration le long de la membrane s'est correctement effectuée.

Les contrôles externes standards ne sont pas fournis avec ce test. Cependant selon les bonnes pratiques de laboratoire, il est recommandé d'effectuer des contrôles positifs et négatifs pour valider les performances du test.

### 12. Limites du test

- Le test rapide NADAL® H. pylori Ag (selles) est réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel. Le test ne doit être utilisé que pour la détection qualitative de *H. pylori*.
- Lors de certains traitements antibiotiques, la concentration des antigènes *H. pylori* peut descendre en-dessous du seuil de détection du test. Il est donc important de prendre en compte cette remarque lors de diagnostic réalisé durant un traitement antibiotique.
- Comme pour tout autre test rapide, ce test ne doit pas être utilisé comme seul critère de diagnostic et le médecin doit s'appuyer sur l'ensemble des résultats et données cliniques à sa disposition pour établir le diagnostic.

### 13. Performances du test

Tableau: Test NADAL® H. pylori Ag (selles)—Biopsie/Histologie/ RUT

Biopsie/ Histologie/ RUT	NADAL® H. pylori Ag (selles)		
	+	-	Total
+	132	0	132
-	0	154	154
Total	132	154	286

Sensibilité relative >99,9% (97,3% - 100,0%)\*

Spécificité relative >99,9% (97,6% - 100,0%)\*

Concordance >99,9% (98,7% - 98,8%)\*

\*95% Intervalle de confiance

#### Réactions croisées

La réactivité croisée des substances suivantes a été étudiée avec une concentration de 10<sup>9</sup> organismes/ml. Les substances suivantes n'entraînent pas de réactions croisées avec le test rapide NADAL® H. pylori Ag (selles):

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Group C Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

#### 14. Bibliographie

1. Marshall, BJ, McGeachie, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Australia. (1985), 149: 439-44.
2. Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. New England J. Med. (1990), 322: 909-16.
3. Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Amer. J. Gastroenterology. (1987), 82(4): 292-96.
4. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. Am j. Med. 1996; 100:355-415.
5. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 1996;91:1112-1115.

Rev. 1, 2014-08-05 PF

### 1. Uso previsto

El test NADAL® H. pylori Ag es un ensayo inmunocromatográfico para detectar el antígeno *Helicobacter pylori* en muestras fecales. Este kit está diseñado para ayudar al diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

### 2. Introducción y significado clínico

El *Helicobacter pylori* (también conocido como *Campylobacter pylori*) es una bacteria Gram negativa de forma espiral con flagelo que infecta la mucosa gástrica. Causa muchas enfermedades gastrointestinales como la dispepsia no-ulcerosa, úlcera gástrica y duodenal, gastritis activa, y puede incluso incrementar el riesgo de adenocarcinoma estomacal. Por eso está clasificada como un agente carcinógeno de tipo I.

Se han aislado muchas variedades de *H. pylori*: entre ellas, la variedad que expresa el antígeno Cag A, altamente inmunogénica, y, por lo tanto, de gran importancia clínica ya que está asociada al factor citotóxico. Tal como se puede leer en muchos artículos, en los casos de pacientes infectados con anticuerpos contra el gen Cag A, el riesgo de cáncer gástrico es hasta 5 veces mayor que en el grupo de referencia infectado con una variedad de bacteria negativa Cag A.

La sola presencia de este gen determina la persistencia de la infección, la ulceración y la proteína asociada. La toxina Vac A es en muchos casos la causa principal de infiltraciones en la mucosa gástrica.

Este antígeno, asociado a otros, como el CAPII y el Cag C, parece actuar como agente iniciador de una respuesta inflamatoria repentina que puede provocar ulceración (úlceras pépticas), episodios alérgicos, y una disminución de la eficacia de la terapia.

Actualmente hay disponibles muchos métodos invasivos y no invasivos para detectar este estado de la infección.

Las metodologías invasivas requieren una endoscopia de la mucosa gástrica con una investigación histológica, bacteriológica y de ureasa, lo cual supone un elevado coste y requiere demasiado tiempo hasta alcanzar un diagnóstico correcto final.

Alternativamente existen los métodos no invasivos, como el Test de Respiración, que es extremadamente complicado y no muy selectivo, o el ELISA clásico y los ensayos inmunogénicos.

### 3. Principio del test

El test NADAL® H. pylori Ag es un ensayo de flujo lateral, rápido, preciso y de fácil utilización.

Esta prueba rápida (en heces) ha sido diseñada para detectar *Helicobacter pylori* mediante la interpretación visual del desarrollo de color en la tira interna.

Este test contiene anticuerpos específicos contra el antígeno *H. pylori*, que están inmovilizados en la membrana reactiva. Si el *H. pylori* está presente en la muestra fecal, el antígeno reacciona con el anticuerpo conjugado con partículas de oro coloidal. La mezcla se desplazará a lo largo de la membrana por acción capilar, reaccionando con los reactivos presentes en la misma. Si los antígenos de *H. pylori* son suficientes, aparecerá una línea coloreada (T) en la región de test de la membrana, indicando un resultado positivo. La ausencia de esta línea (T) indicará un resultado negativo. En ambos casos,

positivo y negativo, debe aparecer una línea coloreada en la región de control (C), indicando que el volumen de muestra ha sido suficiente y que se ha producido la reacción de la membrana.

### 4. Reactivos y materiales provistos

- 20 test casetes envasados individualmente
- 20 tubos de disolución amortiguadora (búfer)
- 1 manual de instrucciones

### 5. Otros materiales necesarios

- Cronómetro
- Fichas de los pacientes
- Centrifugadora
- Micropipeta

### 6. Almacenamiento y conservación

Conservar el kit a 2-30°C hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

No lo congele

Mantenga el dispositivo en la bolsa sellada hasta su uso.

Asegúrese de proteger los componentes del kit de la contaminación.

No utilice el test si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del equipo dispensado, recipientes o reactivos puede producir resultados falsos.

### 7. Advertencias y precauciones

- Solo para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- No utilice el dispositivo después de la fecha de caducidad indicada en el envase. Tampoco lo utilice si la bolsa está dañada. No lo reutilice en ningún caso.
- El kit contiene productos de origen animal. Se tiene un conocimiento certificado del origen y/o el estado sanitario de los animales pero no se puede garantizar completamente la ausencia de agentes patógenos transmisibles. Por lo tanto, se recomienda que estos productos sean tratados como potencialmente infecciosos y manejados mediante la observación de las precauciones normales de seguridad (por ejemplo, no ingerir o inhalar).
- Evite la contaminación cruzada de las muestras mediante el uso de un recipiente de recogida nuevo para cada muestra obtenida.
- Lea todo el procedimiento con cuidado antes de realizar la prueba.
- No coma, beba o fume en el área de trabajo mientras se esté realizando el análisis. Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Tenga en cuenta las instrucciones establecidas contra peligros microbiológicos y siga las pautas relativas a la eliminación de muestras.
- Utilice ropa protectora como bata, guantes desechables y gafas de protección cuando las muestras estén siendo analizadas.
- Las altas temperaturas o la humedad pueden afectar adversamente a los resultados del test.
- Los materiales usados en los ensayos deben ser desechados de acuerdo a las normas locales.

## 8. Toma de muestras y preparación

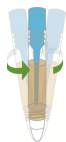
- El test NADAL® H. pylori Ag está indicado solo para utilizarse con muestras fecales humanas.
- Realice la prueba inmediatamente después de la recogida de las muestras.
- No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos prolongados. Las muestras pueden almacenarse de 2 a 8° C durante un máximo de 72 horas.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba.
- Empaquete las muestras bajo las normas aplicables para el transporte de agentes etiológicos, en caso de que las muestras tengan que ser transportadas.

## 9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, tampones y/o controles a temperatura ambiente (15-30° C) antes de su uso.

### Recogida y tratamiento previo

- Use los tubos de disolución proporcionados con el kit de prueba para la obtención de la muestra. Los mejores resultados se obtendrán si el ensayo se realiza dentro de 6 horas después de la recogida.
- Desenrosque y retire el aplicador del tubo de disolución. Tenga cuidado de no derramar o salpicar solución del tubo. Recoja las muestras insertando el aplicador en al menos 3 sitios diferentes de las heces para recoger aproximadamente 50 mg de muestra (equivalente a 1/4 de un guisante).
- Coloque el aplicador en el tubo y cierre girando la tapa. Tenga cuidado de no romper la punta del tubo de disolución.
- Agite el tubo de recogida de la muestra enérgicamente para mezclar la muestra y el tampón de extracción.



### Procedimiento

- Retire el test de su bolsa sellada y colóquelo sobre una superficie limpia y plana. Etiquételo con el nombre del paciente o su identificación de control. Para obtener un mejor resultado, el test debe realizarse antes de una hora desde la recogida de la muestra.
- Utilizando un pañuelo de papel, rompa la punta del tubo de disolución. Mantenga el tubo vertical y dispense 2 gotas de la solución en la ventana para la muestra (S) del dispositivo de test. Evite que queden atrapadas burbujas de aire en la ventana (S) y asegúrese de que no caiga parte de la muestra en la ventana de resultados. A medida que la muestra se desplace, podrá observar que el color de la membrana cambia.
- Espera a que aparezca la(s) línea(s) coloreada(s). Debe leer el resultado a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



**Nota:** si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue la muestra extraída en el tubo. Recoja 80 µl de sobrenadante, deposítelo en la ventana para la muestra (S) de un

nuevo dispositivo de test y empiece el procedimiento de nuevo siguiendo las instrucciones mencionadas anteriormente.

## 10. Interpretación de resultados

### Positivo:

Aparecen 2 líneas coloreadas. Una línea aparece en la región de control (C) y otra en la región del test (T).



### Negativo:

En la ventana de lectura solo aparece 1 línea en la región de control (C). No aparecerá ninguna línea en la región del test (T).



### No válido:

La línea de control no aparece. Los resultados de cualquier prueba donde no aparezca una línea en la región de control (C) deben ser desechados. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo. Si el problema persiste, deje de utilizar ese kit inmediatamente y contacte a su distribuidor local.



**Nota:** la intensidad del color en la región de test (T) puede variar dependiendo de la concentración de los analitos presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de test debe ser considerado resultado positivo. Tenga en cuenta que este ensayo solamente es cualitativo, y no puede determinar la concentración de analitos en la muestra.

Las razones más frecuentes por las que no aparece la línea de control del test pueden ser un volumen insuficiente de muestra, un procedimiento incorrecto o la utilización de test caducados.

## 11. Control de calidad

El test NADAL® H. pylori Ag incluye un control interno del procedimiento. En la región de control (C) aparece una línea coloreada que actúa como un procedimiento de control interno positivo, confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento es correcto.

No se suministran controles externos con este kit. En el marco de las *Buenas Prácticas de Laboratorio*, se recomienda realizar controles positivos y negativos para confirmar el correcto procedimiento y verificar el rendimiento de la prueba.

## 12. Limitaciones

- El test NADAL® H. pylori Ag está indicado para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*, y se debe utilizar únicamente para la detección cualitativa de *Helicobacter pylori*.
- Después de ciertos tratamientos con antibióticos, la concentración de antígenos de *H. pylori* puede verse disminuida hasta estar por debajo del punto de corte del test. Por lo tanto, el diagnóstico debe hacerse con precaución durante el tratamiento con antibióticos.



- Como con todas las pruebas de diagnóstico, nunca debe basarse un diagnóstico clínico definitivo en los resultados de un único ensayo, sino que debe ser establecido por el médico después de evaluar todos los datos clínicos y de laboratorio.

13. Características de rendimiento

Tabla: el test NADAL® H. pylori Ag vs. Biopsia/Histología/RUT

Biopsia/ Histología/ RUT	Test NADAL® H. pylori Ag		
		+	-
	+	132	0
	-	0	154
Total		132	154

Sensibilidad relativa: >99.9% (97.3% - 100.0%)\*

Especificidad relativa: >99.9% (97.6% - 100.0%)\*

Acuerdo general: >99.9% (98.7% - 98.8%)\*

\*95% Intervalo de confianza

Especificidad:

Las reacciones cruzadas de los siguientes patógenos se probaron en concentraciones de 10<sup>9</sup> organismos/ml. Los siguientes organismos resultaron negativos cuando se analizaron con el test NADAL® H. pylori Ag (Heces):

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Grupo <i>C Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella choleraesius</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
Grupo <i>B Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

14. Referencias

1. Marshall, BJ, McGeachie, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Australia. (1985), 149: 439-44.

2. Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. New England J. Med. (1990), 322: 909-16.

3. Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Amer. J. Gastroenterology. (1987), 82(4): 292-96.

4. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. Am j. Med. 1996; 100:355-415.

5. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 1996;91:1112-1115.

Rev. 1, 2014-08-05 MP

### 1. Uso Previsto

Il test rapido NADAL® H. pylori Ag (Feci) è un immunodosaggio visivo per la determinazione qualitativa e preventiva degli antigeni dell'*Helicobacter pylori* in campioni di feci umane. Il kit è stato concepito come aiuto nella diagnosi di infezioni causate dal batterio dell'*H. pylori*.

### 2. Introduzione

L' *Helicobacter pylori* (noto anche come *Campylobacter pylori*) è un batterio gram negativo flagellato acidofilo, il cui habitat ideale è il muco gastrico situato nello stomaco umano. Il batterio attacca la mucosa gastrica attraverso la secrezione della citotossina vacuolizzante A (VacA). Esso provoca diverse patologie gastrointestinali quali dispepsia organica, ulcera gastrica e duodenale, gastrite acuta e può anche aumentare il rischio di adenocarcinoma gastrico, in questo caso classificandosi come agente carcinogeno di tipo I.

Molti dei ceppi di *H. pylori* sono stati isolati, tra questi: il ceppo che possiede l'antigene CagA è fortemente immunogenico e per questo clinicamente importante, in quanto è associato a fattori citotossici. Molti articoli di letteratura documentano ampiamente come in pazienti infetti che risultino positivi agli anticorpi anti CagA il rischio di cancro gastrico sia fino a cinque volte maggiore rispetto a un gruppo infetto dal ceppo CagA-negativo. La presenza stessa del gene determina la persistenza dell'infezione, dell' ulcerazione e della proteina associata. L'antigene CagA è in grado di legarsi ad altri antigeni quali CagI e CagC provocando una repentina risposta infiammatoria che potrebbe culminare in ulcere gastriche ed allergie diminuendo l'efficacia della terapia.

Al momento sono disponibili diversi approcci invasivi e non invasivi per poter determinare questo stato infettivo. Le metodologie invasive quali endoscopia della mucosa gastrica analisi istologica, culturale e dell'ureasi, sono convenienti ma richiedono molto tempo per una corretta diagnosi finale.

In alternativa sono disponibili metodi non invasivi come il classico test ELISA, l'immunoblotting o il breath test, che però è estremamente complicato e non altamente rigoroso.

### 3. Principio del Test

Il Test rapido NADAL® H. pylori Ag (Feci) è stato creato per l'individuazione di *Helicobacter pylori* attraverso l'interpretazione visiva di sviluppi di colore sulla striscia interna del dispositivo. La membrana situata nella regione del test contiene anticorpi anti-*H. pylori*. Durante il test, il campione reagisce con il coniugato di anticorpi colloidal oro anti-*H. pylori* presenti nella zona di raccolta del campione. Il composto migra sulla membrana attraverso azione capillare ed interagisce con i reagenti presenti su di essa. Se il campione contiene una quantità sufficiente di antigeni *H. pylori*, una linea colorata comparirà nella zona (T) del Test. La presenza di questa linea colorata indica un risultato positivo, la sua assenza invece indica un risultato negativo. La comparsa di una linea colorata nella zona di controllo (C) del test serve come procedura di controllo; essa indica che è stato utilizzato il volume sufficiente di campione ed è avvenuta la migrazione sulla membrana.

### 4. Reagenti e Materiali Forniti

- 20 Test confezionati singolarmente
- 20 contenitori per la diluizione del campione con tampone

- 1 Istruzioni per l'uso

### 5. Altri materiali necessari

- Centrifuga
- Timer
- Carta del paziente
- Micropipette

### 6. Conservazione e stabilità

Il kit dovrebbe essere conservato ad una temperatura tra 2-30°C fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

Non congelare.

Il test va conservato nella sua confezione.

Proteggere i componenti del kit da contaminazioni esterne. Non utilizzare in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare all'ottenimento di falsi risultati.

### 7. Avvertenze e precauzioni

- Solo per uso professionale di diagnostica *in-vitro*.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sulla confezione. Non utilizzare il test se la confezione è danneggiata. Non ri-utilizzare il test.
- Il kit contiene prodotti di origine animale. Conoscenza certificata dell'origine di provenienza e/o stato sanitario degli animali non garantiscono completamente l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si consiglia pertanto di considerare tale prodotto come potenzialmente infettivo, e maneggiarlo seguendo le normali pratiche di sicurezza (non ingerire o inalare).
- Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando ogni volta un nuovo contenitore di raccolta del campione per ogni campione.
- Prima di utilizzare il test leggere attentamente l'intera procedura.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui si trovano i campioni ed i kit. Maneggiare i campioni considerandone la componente infettiva. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Indossare abiti protettivi come camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi durante lo svolgimento del test.
- Umidità e sbalzi di temperatura possono compromettere i risultati del test.
- Smaltire i materiali secondo le regolamentazioni locali.

### 8. Raccolta e preparazione del campione

- Il test rapido NADAL® H. pylori Ag (Feci) può essere utilizzato solo su campioni di feci umane.
- Svolgere il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per un periodo di tempo prolungato. I campioni dovrebbero essere conservati a temperature comprese tra 2-8°C fino ad un massimo di 72 ore.
- Portare i campioni a temperatura ambiente prima di svolgere il test.

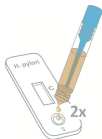
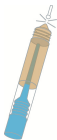
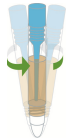
- Nel caso in cui si desideri spedire i campioni, confezionarli seguendo le adeguate norme per il trasporto di agenti eziologici.

## 9. Procedura del Test

**Prima dell'utilizzo portare i test, campioni, tamponi e/o controlli ad una temperatura contenuta tra (15-30°C).**

### Raccolta del campione e preparazione:

1. Utilizzare il contenitore per la diluizione del campione fornito nel kit seguendo le istruzioni su di essa. Al fine di ottenere i risultati migliori si consiglia di effettuare il test nell'arco di 6 ore dalla raccolta.
2. Svitare e rimuovere l'applicatore del flacone di diluizione. Evitare la fuoriuscita di soluzione dal flacone. Raccogliere il campione inserendo l'applicatore in almeno tre punti differenti del campione di feci al fine di raccogliere circa 50 mg di feci.
3. Inserire nuovamente l'applicatore nel contenitore ed avvitare bene. Fare attenzione a non danneggiare l'estremità del flacone di diluizione.
4. Agitare energicamente il flacone di raccolta del campione e mescolare adeguatamente.



### Procedura del Test

1. Estrarre il test dalla confezione e posizionarlo su una superficie piana pulita. Etichettare il test con l'identificativo del paziente. Per ottenere risultati concreti, il campione dovrebbe essere analizzato entro un'ora dalla raccolta.
2. Utilizzando un fazzoletto di carta rompere la punta del flacone di raccolta. Mantenere il flacone in posizione verticale e versare due gocce di soluzione nel pozzetto di raccolta del campione (S). Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto di raccolta del campione (S) e non aggiungere alcuna soluzione nella zona del risultato del test. Appena il test inizia a funzionare, il colore si muoverà lungo la membrana.
3. Attendere che la linea colorata appaia. Si consiglia di leggere i risultati dopo 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo 20 minuti.

**Nota Bene:** Se il campione non migra sulla membrana (presenza di particelle) si consiglia di centrifugare il campione estratto. Raccogliere 80 µL di supernatante, versarlo nel pozzetto di raccolta del campione (S) di un nuovo test e cominciare da capo seguendo le istruzioni sopra menzionate.

## 10. Interpretazione dei risultati

### Positivo

Due linee colorate appaiono sulla membrana. Una nella zona (C) di controllo del test e l'altra nella zona (T) del test.



### Negativo

Appare solo una linea colorata nella zona (C) di controllo del test. Nessuna linea apparirà nella zona (T) del test.



### Non valido

La linea di controllo non appare. I risultati di qualsiasi test in cui la linea (C) di controllo del test non appare non vanno presi in considerazione. In tal caso rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo dispositivo. Se il problema persiste interrompere l'utilizzo del kit e contattare il proprio fornitore.



### Nota Bene:

L'intensità di colore della linea nella zona (T) del test può variare in relazione alla concentrazione di analiti presenti nel campione. Pertanto qualsiasi ombra di colore nella zona (T) del test va considerata positiva. Notare che questo è un test qualitativo e non può determinare la concentrazione di analiti nel campione.

Volume di campione insufficiente, procedura operativa scorretta o test scaduti sono tra le ragioni più comuni della non apparizione della linea di controllo (C).

## 11. Controllo di qualità

Procedure interne di controllo sono incluse nel test. La comparsa di una linea colorata nella zona (C) di controllo del test è da intendersi come procedura interna di controllo a conferma dell'utilizzo di una quantità di campione sufficiente e della corretta procedura di svolgimento del test.

Controlli esterni non sono forniti con questo kit. Si consiglia di testare controlli positivi e negativi come buona pratica di laboratorio al fine di confermare la procedura del test e verificarne il corretto funzionamento.

## 12. Limiti del Test

- Il test rapido H. pylori Antigeni (feci) è da intendersi esclusivamente per uso professionale di diagnostica *in-vitro*, e va utilizzato solo per l'individuazione qualitativa di *H. pylori*.
- Cure antibiotiche possono determinare un abbassamento dei livelli di antigeni H. pylori al di sotto dei limiti minimi rilevabili dal test. Pertanto si consiglia di procedere con cautela alla formulazione di una diagnosi durante trattamenti antibiotici.
- Come con tutti i test di diagnostica, la diagnosi clinica finale non dovrebbe basarsi solo sui risultati di un singolo test, ma dovrebbe essere fatta da un fisico dopo che tutte le necessarie indagini cliniche e di laboratorio siano state valutate.

## 13. Performance

Test NADAL® H. pylori Ag vs. Biopsia/Istologia/RUT

Biopsia/ Istologia/ RUT	Test NADAL® H. pylori Ag		
	+	-	Total
+	132	0	132
-	0	154	154
Total	132	154	286

Sensibilità relativa: >99.9% (97.3% - 100.0%)\*

Specificità relativa: >99.9% (97.6% - 100.0%)\*

Accordo globale: >99.9% (98.7% - 98.8%)\*

\*95% Intervallo di sicurezza

#### Reattività incrociata:

Le reazioni incrociate con i seguenti organismi sono state studiate a 10<sup>9</sup> organismi/ml. Non sono stati rilevati episodi di reattività incrociata per tali organismi se analizzati con il test rapido NADAL®H. pylori Ag (Feci).

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Group C <i>Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
Group B <i>Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

#### 14. Bibliografia

1. Marshall, BJ, McGeachie, DB, Rogers, PAR and Gancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Australia. (1985), 149: 439-44.
2. Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. New England J. Med. (1990), 322: 909-16.
3. Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Amer. J. Gastroenterology. (1987), 82(4): 292-96.
4. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. Am j. Med. 1996; 100:355-415.
5. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 1996;91:1112-1115.

Rev. 1, 2014-08-05 BN



### 1. Zastosowanie

Test kasetowy NADAL® H. pylori Ag (kał) jest szybkim wizualnym testem immunochromatograficznym do jakościowego wykrywania antygenów *Helicobacter pylori* w ludzkich próbkach kału. Test służy jako środek pomocniczy przy diagnozowaniu infekcji *Helicobacter pylori*.

### 2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

*Helicobacter pylori*, znana także jako *Campylobacter pylori* jest spiralnie zakręconą bakterią gram-ujemną z charakterystyczną wicią. Bakteria infekuje błonę śluzową żołądka, w której produkuje wakuolizującą cytotoksynę A (VacA). Wywołuje różne choroby żołądka, jak np. dyspepsja, nieżyt żołądka i dwunastnicy. *H. pylori* została zakwalifikowana jako czynnik rakotwórczy (typ I) i może podwyższyć ryzyko kształtowania się gruczolakoraka żołądka.

Wyizolowano wiele szczepów *Helicobacter*. Szczep, który produkuje gen A związany z cytotoksyną (CagA), działa silnie immunogennie i ma szczególne znaczenie kliniczne na przyczynę swojego powiązania z czynnikami cytotoksycznymi. Literatura fachowa podaje, że zainfekowani pacjenci, którzy posiadają przeciwciała przeciwko CagA, wykazują pięciokrotnie wyższe ryzyko zachorowania na raka żołądka, niż grupa referencyjna, która jest zainfekowana negatywnym szczepem bakterii CagA. Obecność przeciwciał CagA decyduje o trwałości infekcji i ma wpływ na powstawanie wrzodów.

Antygen CagA poprzez swoje powiązanie z innymi antygenami, takimi jak CagI i CagC, jest rozpatrywany jako czynnik wywołujący nagłe reakcje zapalne, które mogą powodować owrzedzenia żołądka, reakcje alergiczne i osłabienie skuteczności terapii.

Obecnie, znane są różne inwazyjne i nieinwazyjne metody wykrywania infekcji *H. pylori*.

Metody inwazyjne, które wymagają endoskopii błony śluzowej żołądka z badaniem histologicznym i wykryciem bakterii oraz testu ureazowego, są drogie i wymagają dużego nakładu czasu.

Metody nieinwazyjne obejmują klasyczne testy ELISA, immunoblot i testy oddechowe. Te ostatnie są bardzo skomplikowane i mało selektywne.

### 3. Zasada działania testu

Szybki test kasetowy NADAL® H. pylori Ag (kał) został stworzony w celu wykrywania *Helicobacter pylori* poprzez wizualną interpretację zmiany koloru na wewnętrznym pasku testowym.

Przeciwciała przeciwko *H. pylori* są unieruchomione w obszarze linii testowej na membranie. Podczas testowania próbka kału reaguje z barwnym koniugatem złota koloidalnego z przeciwciałami *H. pylori*, które są umieszczone na polu na próbkę. Za pomocą sił kapilarnych mieszanina przemieszcza się wzdłuż membrany i reaguje z odczynnikami na membranie. Jeżeli w próbce znajduje się wystarczająca ilość antygenów *H. pylori*, na membranie w obszarze linii testowej (T) pojawia się kolorowa linia. Obecność tej kolorowej linii wskazuje wynik pozytywny, podczas gdy jej nieobecność wskazuje wynik negatywny.

Ponadto, w obszarze linii kontrolnej (C) testu musi zawsze pojawić się kolorowa linia. Służy ona jako kontrola procedury

i wskazuje, że dodano wystarczającą ilość próbki i że nastąpiło prawidłowe nasiąknięcie membrany.

### 4. Części składowe zestawu

- 20 pojedynczo pakowanych testów kasetowych
- 20 próbek do pobierania próbki z buforem
- 1 instrukcja obsługi

### 5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper
- Karty pacjenta
- Wirówka (opcjonalnie)
- Mikropipeta (opcjonalnie)

### 6. Data ważności i przechowywanie

Test powinien być przechowywany w temperaturze 2-30°C do daty ważności nadrukowanej na opakowaniu. Do momentu użycia powinien pozostać w zamkniętym opakowaniu. Nie zamrażać. Nie należy dopuścić do zabrudzenia poszczególnych komponentów testu. Nie należy używać testu, jeżeli istnieje podejrzenie mikrobiologicznego zanieczyszczenia lub osadu. Zanieczyszczenie biologiczne pochodzące z pojemników lub odczynników może prowadzić do fałszywych wyników.

### 7. Uwagi i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Nie stosować po upływie terminu przydatności do użycia. Nie używać testu, jeśli opakowanie foliowe testu jest uszkodzone. Tylko do jednorazowego użytku.
- Zestaw zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Wiedza o pochodzeniu i/lub stanie zdrowia zwierząt nie gwarantuje całkowitego braku zakaźnych patogennych zarazków. Z tego powodu radzi się, aby te produkty traktować jako potencjalnie zakaźne i używać mając na uwadze środki ostrożności (nie zażywać, nie wdychać).
- Unikać zanieczyszczenia krzyżowego próbek. Używać dla każdej próbki nowego pojemnika i nowej próbki.
- Dokładnie przeczytać instrukcję obsługi przed przeprowadzeniem testu.
- W pobliżu przeprowadzania testu nie jeść, nie pić ani nie palić. Wszystkie próbki należy traktować jako potencjalnie niebezpieczne. Podczas przeprowadzania testu należy przestrzegać obowiązujących środków ostrożności dotyczących zagrożeń mikrobiologicznych a przy usuwaniu próbek stosować się do standardowych procedur.
- Podczas przeprowadzania testu używać odzieży ochronnej, takiej jak fartuch laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne.
- Wilgoć i wysokie temperatury mogą wpływać na wyniki testu.
- Po użyciu testu odpady powinny być usuwane zgodnie z lokalnymi przepisami.

### 8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

- Szybki test NADAL® H. pylori Ag (kał) jest przeznaczony tylko do analizy ludzkich próbek kału.
- Test należy przeprowadzić natychmiast po pobraniu próbki. Nie należy pozostawiać próbek na dłuższy okres czasu w temperaturze pokojowej. Do 72 godzin próbki można przechowywać w temperaturze 2-8°C.

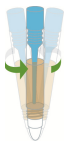
- Przed przeprowadzeniem testu należy doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej.
- Jeżeli próbki muszą zostać przetransportowane, należy je zapakować zgodnie z obowiązującymi przepisami odnośnie transportu czynników etiologicznych.

### 9. Przeprowadzanie testu

Przed przeprowadzeniem testu, kasety testowej, próbki, bufor i/lub kontrole należy doprowadzić do temperatury pokojowej (15-30°C).

#### Pobranie i przygotowanie próbki

1. Do pobrania próbki należy użyć probówek do pobierania próbek. Najlepsze wyniki osiąga się, jeżeli test zostaje przeprowadzony w ciągu 6 godzin po pobraniu próbki.
2. Odkręcić nakrętkę probówki. Należy przy tym uważać, aby nie rozlać roztworu. Za pomocą szpatułki z probówki należy nakłuć próbkę kału w minimum 3 różnych miejscach i pobrać ok. 50 mg kału (porównywalnie ¼ ziarna grochu).
3. Włożyć aplikator spowrotem do probówki i zakręcić nakrętkę. Należy przy tym uważać, aby nie złamać końcówki probówki.
4. Wstrząsnąć energicznie probówką, aby dokładnie wymieszać próbkę z buforem.



#### Przeprowadzanie testu:

1. Wyjąć test z zamkniętego opakowania i położyć na czystej i równej powierzchni. Oznaczyć test nazwiskiem lub numerem identyfikacyjnym pacjenta. W celu otrzymania optymalnego wyniku, test powinien zostać przeprowadzony w przeciągu jednej godziny.
2. Odtłamać końcówkę probówki używając do tego papierowej chusteczki. Trzymać probówkę pionowo w dół i nanieść 2 krople roztworu do okienka na próbkę (S) na kasce testowej. Należy unikać powstawania pęcherzyków powietrza w okienku na próbkę (S) i nie nakrapiać roztworu na okno wyników. Gdy tylko test zacznie działać, będzie widoczne jak kolorowa ciecz przemieszcza się wzdłuż membrany.
3. Począekać do pojawienia się kolorowej/kolorowych linii. Wynik powinien zostać odczytany dokładnie po upływie 10 minut. Nie należy interpretować wyniku po upływie 20 minut.



**Uwaga:** W przypadku, gdy próbka się nie przemieszcza (obecność cząsteczek), należy odwirować pobraną próbkę, która zawarta jest w probówce. Pobrać 80 µL supernatantu i nanieść do okienka na próbkę (S) na nowej kasce testowej i kontynuować procedurę testową opisaną powyżej.

### 10. Interpretacja wyników

#### Pozytywny

Pojawią się dwie kolorowe linie: jedna w obszarze linii kontrolnej (C), druga w obszarze linii testowej (T).



#### Negatywny

Tylko jedna linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C). W obszarze linii testowej (T) nie pojawia się czerwona linia.



#### Nieważny

Jeżeli w obszarze linii kontrolnej (C) nie pojawia się linia, oznacza to, że wystąpił błąd. Wyniki testu, w którym nie pojawiła się linia kontrolna w podanym okresie czasu, powinny zostać wyrzucone. W takim przypadku należy sprawdzić przebieg testu i przeprowadzić badanie przy użyciu nowej kasety testowej. Jeżeli problem się powtarza, należy zaprzestać używania testu i skontaktować się z dystrybutorem.



#### Uwaga:

Intensywność linii w obszarze linii testowej (T) może silnie zależeć od koncentracji analitów obecnych w próbce. Z tego powodu, każde zabarwienie w polu testowym należy uznawać za wynik pozytywny. Należy pamiętać, że ten test jest testem jakościowym i z tego powodu nie jest w stanie określić koncentracji analitów w próbce. Niewystarczająca ilość próbki, nieprawidłowe przeprowadzenie testu lub upływanie terminu przydatności testu są najczęstszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

### 11. Kontrola jakości

Kaseta testowa zawiera wewnętrzną kontrolę procedury:

Kolorowa linia, która pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C) jest wewnętrzną kontrolą procedury i potwierdza dodanie wystarczającej ilości próbki oraz prawidłowe przeprowadzenie testu.

Kontrolę zewnętrzną nie są dostarczane w zestawie. Dobra praktyka laboratoryjna zaleca zastosowanie kontroli negatywnej i pozytywnej w celu sprawdzenia prawidłowego funkcjonowania zestawu testowego.

### 12. Ograniczenia testu

- Szybki test NADAL® H. pylori Ag (kał) jest przeznaczony do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro* i powinien być wykorzystywany tylko do jakościowego określania *Helicobacter pylori*.
- Niektóre kuracje antybiotykowe mogą tak obniżyć koncentrację antygenów *H. pylori*, że znajdzie się ona poniżej granicy wykrywalności testu. Dlatego diagnoza podczas kuracji antybiotykowej powinna być podejmowana z dużą ostrożnością.
- Jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, definitywna diagnoza kliniczna nie powinna bazować jedynie na wyniku pojedynczego testu, lecz powinna zostać

postawiona przez lekarza po dokonaniu oceny wszystkich wyników klinicznych i laboratoryjnych.

### 13. Charakterystyka testu

Szybki test NADAL® H. pylori Ag w porównaniu do metody Biopsja/Histologia/RUT

Biopsja/ Histologia/ RUT	Szybki test NADAL® H. pylori Ag			
		+	-	Total
	+	132	0	132
	-	0	154	154
	Total	132	154	286

Relatywna czułość: >99.9% (97.3% - 100.0%)\*

Relatywna swoistość: >99.9% (97.6% - 100.0%)\*

Ogólna zgodność: >99.9% (98.7% - 98.8%)\*

\*95% Przedział ufności

Reakcje krzyżowe testu NADAL® H. pylori Ag zostały przetestowane z następującymi zarazkami chorobotwórczymi w koncentracji 10<sup>3</sup> organizmów/ml. Używając testu NADAL® H. pylori Ag nie zaobserwowano reakcji krzyżowych z następującymi organizmami:

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Group C Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

### 14. Bibliografia

1. Marshall, BJ, McGeachie, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Australia. (1985), 149: 439-44.
2. Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. New England J. Med. (1990), 322: 909-16.
3. Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Amer. J. Gastroenterology. (1987), 82(4): 292-96.
4. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. Am j. Med. 1996; 100:355-415.
5. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 1996;91:1112-1115.

Rev. 1, 2014-08-05 AM/MW

## 1. Uso Previsto

O teste NADAL® H. pylori Ag (fezes) é um imunoenensaio visual rápido para a detecção qualitativa e presuntiva de antígenos de *Helicobacter pylori* em amostras fecais humanas. O teste NADAL® H. pylori Ag destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico da infecção por *H. pylori*.

## 2. Introdução e Significado Clínico

*Helicobacter pylori*, também conhecido como *Campylobacter pylori*, é uma bactéria gram-negativa em forma de espiral com flagelos típicos. A bactéria infecta a mucosa gástrica por segregação da citotoxina vacuolante A (VacA) e provoca várias doenças gastroentéricas tais como dispepsia não ulcerosa, gastrite activa ou úlcera gástrica e duodenal. *H. pylori* é classificado como agente cancerígeno tipo I e pode aumentar o risco de adenocarcinoma de estômago.

Muitas estirpes de *H. pylori* foram isoladas. O que expressa o antígeno associado à citotoxina gene A (CagA) verifica-se que é altamente imunogénico e é de extrema importância clínica devido à sua associação com factores citotóxicos. É amplamente referido na literatura especializada que os doentes infectados possuindo anticorpos contra CagA têm um risco cinco vezes maior de cancro gástrico do que o grupo de referência infectado com uma estirpe bacteriana CagA negativa. A presença dos anticorpos CagA determina a persistência da infecção por *H. pylori* e ulceração.

O antígeno CagA associado a outros, tais como CagI e CagC parece actuar como um agente inicial de uma resposta inflamatória súbita, que pode provocar ulceração péptica, episódios alérgicos e diminuir a eficácia da terapia.

Actualmente, existem vários métodos invasivos e não invasivos para detectar a infecção por *H. pylori*. Métodos invasivos que requerem endoscopia da mucosa gástrica com uma investigação histológica, cultural e ureática são custosos e demorados.

Métodos não invasivos incluem ELISA clássico, ensaios de imunotransferência e testes de respiração. Mas estes últimos são extremamente complicados e altamente não seletivos.

## 3. Princípio do teste

O teste NADAL® H. pylori Ag (fezes) é destinado para detectar *Helicobacter pylori* através da interpretação visual do desenvolvimento de cor na tira interna. Anticorpos *H. pylori* estão imobilizados na membrana na região da linha de teste. Durante o teste, a amostra reage com conjugados de ouro coloidal de anticorpos de *H. pylori* coloridos que são pré-revestidos na almofada de amostra do teste. A mistura migra ao longo da membrana por ação capilar e interage com reagentes na membrana.

Se existirem antígenos de *H. pylori* suficientes na amostra, aparecerá uma linha colorida na região da linha de teste (T) da membrana. A presença desta linha colorida indica um resultado positivo, enquanto a sua ausência indica um resultado negativo. Uma linha colorida deverá aparecer sempre na região da linha de controlo (C), e serve de controlo de procedimento, indicando que foi adicionado o volume suficiente de amostra e que ocorreu a absorção da membrana.

## 4. Reagentes e Material Fornecido

- 20 testes cassete embalados individualmente

- 20 tubos de diluição de amostra com solução tampão
- 1 manual de utilização

## 5. Material adicional necessário

- Cronómetro
- cartões de paciente
- Centrifugadora (se necessário)
- Micro pipeta (se necessário)

## 6. Armazenamento e Estabilidade

O kit deverá ser conservado entre 2-30°C até à data de validade impressa na embalagem. O teste cassete deve permanecer na embalagem selada até à sua utilização. Não congelar. Os componentes do kit de teste devem ser cuidadosamente protegidos de contaminação. Não utilizar o de teste se existir evidência de contaminação microbiana ou humidade. Contaminação biológica de equipamentos de distribuição, recipientes ou dos reagentes pode conduzir a falsos resultados.

## 7. Advertências e Precauções

- Apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Não utilizar o teste após expirada data de validade indicada na embalagem. Não utilizar caso a embalagem se encontre danificada. Não reutilizar os testes.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O certificado de origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendado que todos estes produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança habituais (e.g. não ingerir ou inalar).
- Evitar contaminação cruzada utilizando um recipiente de recolha de espécimen novo para cada amostra obtida.
- Ler o manual de utilização antes de iniciar o teste.
- Não comer, beber ou fumar na área de manuseamento de amostras e kits de testes. Manusear todas as amostras como potenciais agentes infecciosos. Observar as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos durante todo o procedimento e siga os procedimentos padrão para a disposição das amostras.
- Utilizar vestuário de proteção como batas laboratoriais, luvas descartáveis e proteção ocular quando o manuseamento das amostras.
- Humidade e temperatura podem afetar negativamente os resultados.
- Materiais de testes usados devem ser eliminados de acordo com as regulamentações de locais.

## 8. Recolha e Preparação da Amostra

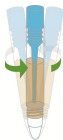
- O teste NADAL® H. pylori Ag (Fezes) destina-se apenas a ser utilizado com amostras fecais humanas.
- Executar o teste imediatamente após a recolha da amostra. Não deixar amostras à temperatura ambiente por um período de tempo prolongado. Os espécimens podem ser conservados até 72 horas, a uma temperatura entre 2-8°C.
- As amostras devem estar à temperatura ambiente quando realizar o teste.
- Embalar os espécimens de acordo com os regulamentos aplicáveis para o transporte de agentes etiológicos, caso eles precisem ser enviados.

## 9. Procedimento do teste

**Permitir que os testes, amostras, solução tampão e/ou controlos atinjam a temperatura ambiente (15-30°C) antes da sua utilização.**

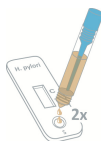
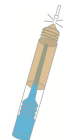
### Colheita de amostras e pré-tratamento:

1. Usar os tubos de diluição de amostra fornecidos no kit de teste para colheita de amostra. Os melhores resultados serão obtidos se o ensaio for realizado dentro de 6 horas após a colheita.
2. Desapertar e remover o aplicador do tubo de diluição. Ter cuidado para não derramar ou salpicar a solução do tubo. Recolher os espécimens, inserindo o aplicador em pelo menos 3 locais diferentes das fezes para recolher cerca de 50 mg de fezes (equivalente a 1/4 de uma ervilha).
3. Colocar o aplicador de volta no tubo e apertar firmemente a tampa. Ter cuidado para não quebrar a ponta do tubo de diluição.
4. Agitar vigorosamente a amostra diluição para misturar a amostra e a solução tampão de extracção.



### Teste

1. Remover o teste cassette NADAL® H. pylori Ag da bolsa selada e colocá-lo em uma superfície limpa e nivelada. Etiquetar o teste cassette com identificação do paciente ou de controlo. Para obter um melhor resultado, o ensaio deve ser realizado dentro de uma hora.
2. Usando um pedaço de lenço de papel, quebre a ponta do tubo de diluição. Segurar o tubo verticalmente e distribuir 2 gotas da solução no recipiente de amostra (S) do teste cassette. Evitar bolhas de ar no orifício de amostra (S). Não coloque nenhuma solução na janela de resultados. Assim que o teste começar a funcionar, existirá movimento de cor ao longo da membrana.
3. Esperar pelo aparecimento da(s) linha(s) colorida(s). O resultado deve ser lido em 10 minutos. Não interpretar os resultados após decorridos mais de 20 minutos.



10 min

**Nota:** Se a amostra não migrar (presença de partículas), centrifugar os espécimens extraídos nos tubos. Recolher 80 µL de sobrenadante, distribuí-lo no recipiente de amostra (S) de uma nova cassette de teste e começar de novo seguindo as instruções acima mencionadas.

## 10. Interpretação dos resultados

### Positivo:

Surgem duas linhas coloridas na membrana. Uma linha surge na região da linha de controlo (C), outra linha surge na região da linha de teste (T).



### Negativo:

Uma linha colorida surge na região da linha de controlo (C). Nenhuma linha colorida surge da região da linha de teste (T).



### Inválido:

Não surge qualquer linha de controlo. Resultados de qualquer teste no qual não tenha surgido uma linha de controlo deverão ser desconsiderados. Por favor, rever o procedimento e repetir o teste com um novo teste cassette. Se o problema persistir, interromper a utilização do kit e contactar o distribuidor.



### Nota:

A intensidade da cor na zona da linha de teste (T) pode variar dependendo da concentração das substâncias presentes no espécimen. Qualquer sombra de cor na zona da linha de teste (T) deve ser considerada positivo. Por favor tenha atenção que este é apenas um teste qualitativo não podendo determinar a concentração de substâncias no espécimen.

As razões mais prováveis para um resultado inválido são o volume da amostra insuficiente, erros procedurais ou testes expirados.

## 11. Controlo de qualidade

Um controlo interno de procedimento encontra-se incluído no teste cassette:

A linha colorida que surge na região da linha de controlo (C), é considerada um controlo interno de procedimento. Isto confirma um volume de amostra suficiente, uma saturação de membrana adequada e o procedimento técnico correto.

Os controlos externos não são fornecidos com este kit. no entanto, é recomendado que controlos positivos e negativos devam ser testados como Boas Práticas de Laboratório para confirmar o procedimento de teste e verificar o desempenho apropriado do teste.

## 12. Limitações

- O teste NADAL® H. pylori Ag (Fezes) destina-se ao uso profissional de diagnóstico *in-vitro* e deve ser utilizado apenas para a detecção qualitativa de *Helicobacter pylori*.
- Durante certos tratamentos com antibióticos, a concentração de antígenos de *H. pylori* pode diminuir abaixo do nível mínimo de detecção do teste. Portanto, o diagnóstico deve ser feito com cautela durante o tratamento com antibióticos.
- Um diagnóstico clínico definitivo não deve basear-se apenas nos resultados de um único teste rápido, mas deve apenas ser realizado pelo médico após todas as análises clínicas e laboratoriais serem avaliadas.

## 13. Características de Desempenho

O teste NADAL® H.pylori Ag vs. Biopsia/Histologia/RUT

Biopsia/ Histologia/ RUT	teste NADAL® H. pylori Ag		
	+	-	Total
+	132	0	132
-	0	154	154
Total	132	154	286

Sensibilidade relativa: >99,9% (97,3% - 100,0%)\*

Especificidade relativa: >99,9% (97,6% - 100,0%)\*

Concordância geral: >99,9% (98,7% - 98,8%)\*

\*95% Intervalo de confiança

#### Reação Cruzada:











A reacção cruzada do teste NADAL® H.pylori Ag foi estudada com os seguintes organismos a 10<sup>9</sup> organismos/ml. Não se observou reacção cruzada com estes organismos quando testados com o teste NADAL® H. pylori Ag (fezes).











<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Group C Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

#### 14. Referências

1. Marshall, BJ, McGeachie, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Australia. (1985), 149: 439-44.
2. Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. New England J. Med. (1990), 322: 909-16.
3. Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Amer. J. Gastroenterology. (1987), 82(4): 292-96.
4. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. Am j. Med. 1996; 100:355-415.
5. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 1996;91:1112-1115.

Rev. 1, 2014-08-05 AL

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	In-vitro-Diagnostika	In-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se bruksanvisningen	Les bruksanvisning nøye
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	In vitro - diagnostikkään tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik	In-vitro diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperaturbegränsning	Temperatuurlimiet	Temperaturbegrænsning	Temperaturbegrensning
	Código do lote	Kód řáže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchcode	Merking
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertäkäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebuje do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il l ingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrekkelig for<n> tester

## Our Teams

### Germany:

#### Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0  
Fax: +49 941 290 10-50

#### Moers

Tel: +49 2841 99820-0  
Fax: +49 2841 99820-1

#### Austria:

Tel: +49 941 290 10-29  
Free Tel: 0800 291 565  
Fax: +49 290 10-50  
Free Fax: 0800 298 197

#### UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18  
Free Tel – UK: 0808 234 1237  
Free Tel – IRE: 1800 555 080  
Fax: +49 290 10-50

#### France:

France Tel: 0800 915 240  
France Fax: 0800 909 493

### Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720  
Swiss Fax: 0800 837 476

### Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82  
Belgium Fax: 0800 747 07

### Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16  
Lux. Fax: 800 261 79

### Spain:

Tel: +49 941 290 10-759  
Free Tel: 900 938 315  
Fax: +49 941 290 10-50  
Free Fax: 900 984 992

### Italy:

Tel: +49 941 290 10-34  
Fax: +49 941 290 10-50

### Poland:

Tel: +49 941 290 10-44  
Free Tel: 00 800 491 15 95  
Fax: +49 941 290 10-50  
Free Fax: 00 800 491 15 94

### Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735  
Tel. Verde: 800 849 230  
Fax: +49 941 290 10-50  
Fax Verde: 800 849 229

### Netherlands:

Tel: +31 30 75 600  
Free Tel: 0800 0222 890  
Fax: +31 70 30 30 775  
Free Fax: 0800 024 9519

### Nordic countries (Finland, Norway, Sweden, Denmark):

Tel: +31 703075 607  
Free Tel: +45 80 88 87 53  
Tax: +31 703030 775

### Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40  
Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1