



CERTEST *H. pylori*
Jednostopniowy test kasetkowy do wykrywania antygenu *Helicobacter pylori*

CERTEST

H. pylori

Jednostopniowy test kasetkowy do jednoczesnego wykrywania antygenu *H. pylori*

CERTEST BIOTEC S.L.



PRZEZNACZENIE

CerTest H. pylori Card jest jednostopniowym testem immunochromatograficznym do jakościowego wykrywania antygenu H. pylori w próbkach kału. CerTest H. pylori Card oferuje szybki i łatwy w wykonaniu przesiew mający na celu wstępną diagnozę infekcji H. pylori.

INFORMACJE OGÓLNE

Helicobacter pylori (H. pylori) jest bakterią o spiralnym kształcie przebywającą w błonie śluzowej układu pokarmowego i przy nabłonku żołądka. Jest on przyczyną ponad 90 % wrzodów dwunastniczych, oraz ponad 80 % wrzodów żołądka.

Znaczenie jakie ma testowanie H. pylori znacznie wzrosło z powodu silnej korelacji jaką dają obecność tej bakterii, oraz występowanie takich chorób jak zapalenia układu pokarmowego, choroba wrzodowa, czy nowotwory układu pokarmowego.

ZASADA TESTU

CerTest H. pylori Card jest jakościowym, immunochromatograficznym testem do wykrywania antygenu H. pylori w próbkach kału. Membrana testu została pokryta w rejonie testowym mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciw antygenowi H. pylori.

Membrana paska została pokryta w rejonie testowym mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciw H. pylori, oraz króliczymi przeciwciałami poliklonalnymi w rejonie kontrolnym. Na drodze przeprowadzanej analizy, próbka reaguje z barwnym koniugatem (przeciwciała przeciw H. pylori z cząsteczkami czerwonego latexu). Powstała mieszanina wędruje na zasadzie sił kapilarnych do rejonu odczytu.

W przypadku próbki pozytywnej antygenu H. pylori łączą się z barwnymi koniugatami opłaszczonymi na nitrocelulozowych powierzchniach i migrują w dół paska zabierając ze sobą kompleksy antygenów i barwnych koniugatów. Dotarwszy do rejonu próbkowego z opłaszczonymi przeciwciałami reagują z nimi wytwarzając barwne czerwone prążki. Na membranie powstanie barwny czerwony prążek z kompleksów antygenu H. pylori, monoklonalnych przeciwciał i czerwonego polistyrenu.

W przypadku próbki negatywnej, antygeny H. pylori będą w próbce nieobecne, lub obecne w stężeniu poniżej poziomu detekcji testu i w efekcie nie wytworzą się żadne barwne kompleksy z opłaszczonymi na membranach przeciwciałami.

Bez względu na pozytywność, lub negatywność wyniku, powstała mieszanina wędruje na zasadzie sił kapilarnych do rejonu kontrolnego z opłaszczonymi specyficznymi proteinami gdzie zawsze w wyniku analizy powinien pojawić się zielony prążek kontrolny świadczący o: 1) wystarczającej objętości naniesionej na test próbki, 2) prawidłowym przepływie, 3) wewnętrznej kontroli stabilności odczynnika.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Test należy przechowywać w temperaturze 2 – 30°C w oryginalnym opakowaniu i użyć przed upłynięciem daty ważności. Po upłynięciu daty ważności producent nie gwarantuje poprawnego działania testu. Gwarancją nie są objęte również kasetki, których zewnętrzne opakowanie zostało uszkodzone.

Nie zamrażać.

ZASTRZEŻENIA

- Tylko do profesjonalnego użytku in vitro.
- Nie używać po upłynięciu daty ważności.
- Traktować wszystkie próbki i materiały, które weszły z nimi w kontakt jako potencjalnie zakaźne. Ze względu na zagrożenie zanieczyszczeniem, nie wykorzystywać jednej kasetki do dwóch różnych próbek.
- Po zużyciu, utylizować w sposób odpowiedni dla materiałów biologicznych.
- Odczynniki zawierają konserwant (<0,1 % azodyku sodu). Unikać kontaktu ze skórą i błonami śluzowymi. Zapoznać się z dostępną na życzenie kartą charakterystyki substancji niebezpiecznej.
- Nie mieszać komponentów zestawu z innymi zestawami.
- Obecność żółtego prążka w oknie wyników przed rozpoczęciem analizy jest zupełnie normalna i nie oznacza degradacji testu ani jego uszkodzenia.
- Przestrzegać zasad GLP przy pracy.

POBIERANIE PRÓBKII I JEJ PRZYGOTOWANIE

Próbki kału powinny być pobierane do czystego pojemnika, a pomiar powinien być wykonany jak najszybciej. Można próbki przechowywać w lodówce (2-8°C) przez 1-2 dni. W celu dłuższego przechowywania (maksymalnie 1 rok) należy próbkę zamrozić w -20°C. W tym przypadku przed użyciem próbkę należy całkowicie rozmrozić i sprowadzić do temperatury pokojowej.

- (1) Odkręcić nasadkę i użyć załączonego patyczka (aplikatora) do pobrania próbki (1). Pobierać poprzez zanurzenie patyczka w przynajmniej czterech różnych miejscach (ok. 50 mg) (2). Większa ilość może prowadzić do nieprawidłowych wyników. W przypadku próbek ciekłych użyć mikropipety i pobrać 125 µl.
- (2) Zamknąć aplikator na powrót w próbówce i wymieszać zawartość wytrząsając energicznie w celu całkowitego rozpuszczenia próbki w buforze (3).



Próbówka na próbkę



(1) Odkręcić nasadkę z patyczkiem



(2) Pobrać próbkę



(3) Wytrząsając próbkę w próbówce

SKŁADNIKI ZESTAWU

- 20 kasetek pakowanych osobno,
- 20 próbek z aplikatorami i buforem do rozcieńczenia,
- instrukcja dla użytkownika.
- kontrola pozytywna (tylko w zestawie P280001VC)

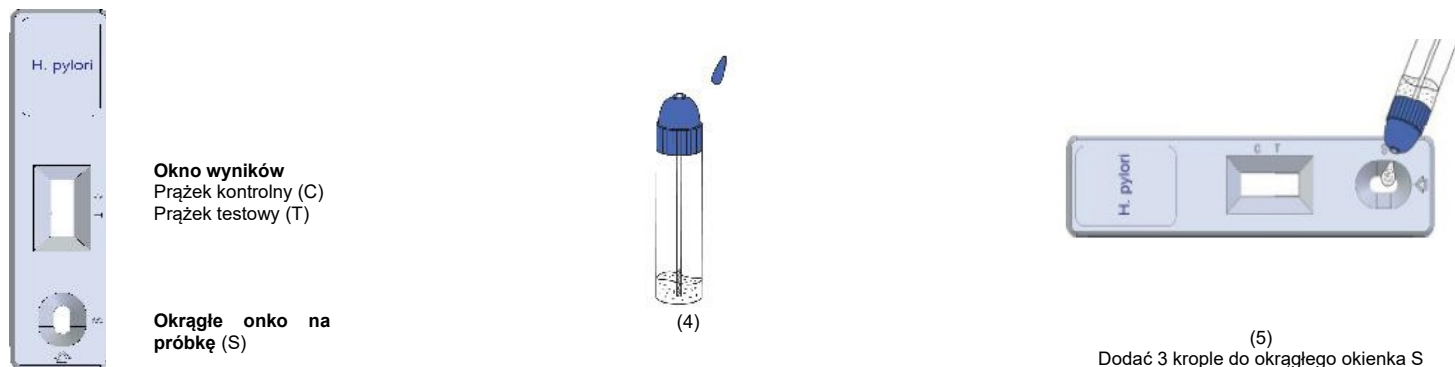
WYMAGANE MATERIAŁY NIEDOŁĄCZONE

- Pojemnik na próbkę,
- Rękawiczki jednorazowe,
- Minutnik.

PROCEDURA TESTU

Przed użyciem próbek, sprowadzić kasetki do temperatury pokojowej (15 – 30°C). Kasetki należy wyjąć z opakowań przed samym rozpoczęciem procedury.

- 1) Kontynuować mieszanie próbek w probówce z aplikatorem by osiągnąć jej pełną dyspersję.
- 2) Wyjąć kasetkę z opakowania.
- 3) Odciać końcówkę probówki (4). Zakropić 3 krople rozcieńczonej próbki do okrągłego okienka S (5). Nie dodawać do okienek stałych cząstek.
- 4) Odczytać wynik po 10 minutach od zakończenia analizy. Nie odczytywać wyników po upływie dłuższego czasu.



PROCEDURA KONTROLI POZYTYWNEJ (tylko w zestawie P820001VC)

Kontrola pozytywna CerTest H pylori Positive Control jest zewnętrznym urządzeniem kontrolnym do sprawdzania prawidłowości wykonania ekstrakcji, oraz testu. Kontrola pozytywna zawiera nieaktywne antygeny H. pylori zasuszone na wymazówce wraz ze środkiem konserwującym. Wykorzystać wymazówkę w przeciągu 2 godzin od otwarcia aluminiowej folii. Nie wykorzystywać wymazówki jeśli jej opakowanie było uszkodzone.

Przed użyciem sprowadzić kontrolę pozytywną do temperatury pokojowej (15 – 30°C). Wymazówkę należy wyjąć z opakowania przed samym rozpoczęciem procedury.

- 1) Dodać do załączonej probówki testowej 15 kropli diluentu i natychmiast wprowadzić wymazówkę do środka.
- 2) Mieszać wymazówką roztwór silnie dociskając ją do ścianek probówki testowej przez przynajmniej 1 minutę. Wyekstrahować z wymazówki tak dużo cieczy jak to możliwe, poprzez dociskanie jej do ścianek podczas wyjmowania z probówki. Usunąć wymazówkę.
- 3) Wyjąć kasetkę z opakowania.
- 4) Przy użyciu załączonej pipetki przenieść i zakropić 3 krople wyekstrahowanej kontroli pozytywnej do okrągłego okienka S. Nie dodawać do okienek stałych cząstek.
- 5) Odczytać wynik po 10 minutach od zakończenia analizy. Nie odczytywać wyników po upływie dłuższego czasu.

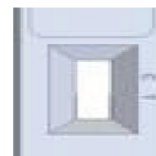
OCENA I INTERPRETACJA WYNIKÓW



Jeden zielony prążek w polu kontrolnym C – Wynik negatywny na obecność antygeny H. pylori



Dwa barwne prążki. Jeden zielony w polu kontrolnym i jeden czerwony w polu testowym – Wynik pozytywny na obecność antygeny H. pylori



Brak zielonego prążka w polu kontrolnym – Wynik nieważny

Wynik nieważny: Nie pojawił się zielony prążek w polu kontrolnym C. Taka sytuacja jest spowodowana najczęściej: niedostateczną objętością próbki, błędnym wykonaniem testu, lub utratą stabilności odczynników. Należy raz jeszcze przeczytać instrukcję, oraz wykonać oznaczenie ponownie przy użyciu nowego testu. Jeśli problem się powtórzy należy skontaktować się z dostawcą.

UWAGI DO INTERPRETACJI WYNIKÓW

Intensywność koloru czerwonego prążka w polu testowym jest zależna od stężenia antygeny H. pylori w próbce i można spodziewać się większego natężenia w przypadku większych ilości antygeny H. pylori.

KONTROLA JAKOŚCI

Test został wyposażony w wewnętrzną kontrolę jakości. Zielony prążek, który musi pojawić się w polu kontrolnym C, aby test był ważny, potwierdza wzięcie do oznaczenia odpowiedniej ilości próbki, oraz prawidłową procedurę testu.

OGRANICZENIA METODY

1. Test należy przeprowadzić w przeciągu 2 godzin od wyjęcia kasetki z opakowania.
2. Nadwyżka próbki może spowodować zafałszowanie wyniku w postaci zabarwienia obszaru testowego.
3. Intensywność koloru prążka próbkowego jest zależna od stężenia antygeny w próbce i może wahać się od silnej w przypadku wysokich stężeń do bladej w przypadku stężeń na granicy progu detekcji.
4. CerTest H. pylori Card jest zwalidowany wyłącznie dla próbek ludzkiego kału. Nie sprawdzano innych próbek. Jakość wyniku jest wprost proporcjonalna do jakości próbki. Stosować zwalidowane i sprawdzone metody pobierania i przechowywania próbki.
5. Wynik pozytywny oznacza obecność H. pylori w próbce. Należy go jednak potwierdzić innymi metodami analitycznymi (endoskopia), a ostateczną diagnozę powinien postawić lekarz w oparciu o wyniki dostępnych badań i wszystkie wskazania kliniczne.
6. Wynik negatywny niekoniecznie oznacza brak obecności antygeny H. pylori w próbce. Możliwe jest, że stężenie antygenów nie przekracza limitu detekcji testu. W przypadku wyniku negatywnego otrzymanego dla próbki od pacjenta z objawami infekcji, należy powtórzyć badanie czulszą metodą analityczną taką jak hodowla, lub techniki inwazyjne.
7. próbki z zawartością krwi mogą zawierać składniki nieswoiście reagujące z testem. Każdy wynik pozytywny dla próbki z zawartością krwi, powinien być powtórzony innymi technikami diagnostycznymi, w celu potwierdzenia.



CERTEST *H. pylori*
Jednostopniowy test kasetkowy do wykrywania antygenu *Helicobacter pylori*

8. Próbkę z zawartością śluzu mogą zawierać składniki nieswoicie reagujące z testem. Każdy wynik pozytywny dla próbki z zawartością śluzu, powinien być powtórzony innymi technikami diagnostycznymi, w celu potwierdzenia.

WARTOŚCI SPODZIEWANE

Badania wykazały, że ponad 90 % pacjentów cierpiących na chorobę wrzodową dwunastnicy, oraz 80 % pacjentów cierpiących na wrzody żołądka, jest zainfekowanych bakterią *H. Pylori*. Poniższy test został sprawdzony pod kątem skuteczności względem takich metod jak hodowla, testy oddechowe i ureazowe osiągając ponad 92 % dokładności.

PARAMETRY

Czułość analityczna

Czułość diagnostyczna testu CerTest *H. pylori* Card została sprawdzona i określona na poziomie 0,78 ng/ml – 0,09 ng/ml zewnętrznego rekombinowanego białka błonowego (ROMP).

Czułość i swoistość diagnostyczna

Czułość diagnostyczna testu CerTest *H. pylori* Card została sprawdzona w porównaniu do testu qPCR (VIASURE *Helicobacter pylori* Real Time Detection kit, CerTest). Próbkę pobrano od pacjentów przyjętych na oddział gastroenterologii hiszpańskiego szpitala z objawami wskazującymi na infekcję *H. Pylori*. Wyniki podsumowano w tabeli niżej:

		VIASURE <i>Helicobacter pylori</i> Real Time Detection kit, CerTest	
		+	-
Test immunochromatograficzny CerTest <i>H. pylori</i> Card	+	54	1
	-	1	60
Czułość		98,2 % (90,3 – 100,0 %)	
Swoistość		98,4 % (91,2 – 100,0 %)	
PPV		98,2 % (90,3 – 100,0 %)	
NPV		98,4 % (91,2 – 100,0 %)	

Reaktywność krzyżowa

Sprawdzono i wykazano brak reaktywności krzyżowej testu CerTest *H. pylori* Card dla poniższych patogenów układu pokarmowego mogących występować w próbkach kału:

<i>Campylobacter coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella boydii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

BIBLIGRAFIA

1. Bruce E. Dunn, Hartley Cohen & Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori*. Clin. Microbiol. Rev. 10 (4), 720-741, Oct. (1997).
2. Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori and gastric diseases*. BMJ; 316: 1507-1510 (1998).
3. John L. Telford, Antonello Covacci, Rino Rappuoli & Paolo Ghiara. *Immunobiology of Helicobacter pylori infections*. Current Opinion in Immunology, 9; 498-503 (1997).