

# Helicobacter Antygen Test

Szybki, jednostopniowy test immunochromatograficzny do wykrywania antygenu *Helicobacter pylori* w ludzkim kale

REF HXHPAg10

REF HXHPAg20

REF HXHPAg25

## WSTĘP

*Helicobacter pylori* (znana również jako *Campylobacter pylori*) jest Gram-ujemną bakterią o spiralnym kształcie i wielkości od 0,5 do 5 µm, gnieźdzącą się w błonie śluzowej żołądka. Zakażenie *H. pylori* jest prawdopodobnie najczęstszą infekcją bakteryjną na świecie. Ocenia się, że w Polsce dotyczy to około 70-80% ludności.

Zakażenie wywołane *H. pylori* może powodować stany zapalne błony śluzowej, doprowadzając do choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy, a także zwiększa ryzyko powstania raka żołądka. Dlatego WHO w 1994 r. zaliczyła *H. pylori* do I klasy czynników rakotwórczych.

Najbardziej zjadliwymi szczepami *H. pylori* zwiększającymi ryzyko powstawania chorób są mikroorganizmy posiadające gen *CagA*, który koduje cytotoksynę *CagA* i gen *vacA*, kodujący cytotoksynę *VacA*. Obie te cytotoksyny mają właściwości bezpośredniego uszkodzenia komórek nabłonka, hamują syntezę DNA i proliferację tych komórek.

Do klinicznego rozpoznania zakażenia *H. pylori* służą metody inwazyjne (wymagające pobrania wycinka błony śluzowej za pomocą endoskopu) i nieinwazyjne (badanym materiałem jest krew, ślina, kał lub wydychane powietrze). Do testów inwazyjnych należą: test ureazowy, badanie mikrobiologiczne (posiew), badanie histologiczne wycinków lub badanie histologiczne łącznie z testem ureazowym (tzw. „złoty standard”) oraz PCR. Testy nieinwazyjne to testy oddechowe ze znakowanym węglem C<sup>14</sup> lub C<sup>13</sup>, badania serologiczne – oznaczanie w surowicy przeciwciał w klasie IgA, IgG i IgM oraz oznaczanie antygenów *H. pylori* w kale.

Podczas przebiegu zakażenia wywołanego przez zlokalizowane w nabłonku żołądka pałeczki *H. pylori* może dochodzić do znacznej koncentracji antygenów tej bakterii w kale. Obecność antygenów *H. pylori* w kale jest wskaźnikiem aktualnego zakażenia tymi bakteriami, natomiast ich zanik świadczy o skutecznej eradykacji drobnoustrojów.

Test jest stosowany jako pomoc w diagnozowaniu zakażenia *H. pylori*. Wynik dodatni testu powinien być potwierdzony przez inne testy.

## ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Helicobacter Antygen Test jest szybkim, jakościowym, jednostopniowym testem do wykrywania antygenu *Helicobacter pylori* w próbkach kału. Zasada działania testu oparta jest na metodzie immunochromatograficznej. Na pasek membrany umieszczony w plastikowej obudowie/plytce naniesiono specyficzne przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko bakterii *H. pylori*. W początkowym odcinku tego paska naniesiono koniugat złota koloidalnego z monoklonalnymi przeciwciałami anti-*H. pylori*. Wykonanie oznaczenia polega na wyekstrahowaniu antygenu *H. pylori* z próbki badanego kału i nakropleniu ekstraktu na płytkę testową. Jeżeli w badanej próbce obecny jest antygen *H. pylori*, to powstaje barwny kompleks: antygen *H. pylori* - przeciwciało - koniugat przeciwciała ze złotem koloidalnym i tworzy się barwny prążek testowy T. Brak barwnego prążka w strefie testowej świadczy o nieobecności bakterii *H. pylori* w badanej próbce. Ekstrakt przemieszcza się dalej wzdłuż płytki do strefy kontrolnej i tworzy się barwny prążek kontrolny C. Obecność tego prążka świadczy o prawidłowym wykonaniu i działaniu testu oraz o dobrej jakości odczynników.

## SKŁAD I PRZECHOWYWANIE ZESTAWU

Zestaw zawiera:

	REF HXHPAg10 10 testów	REF HXHPAg20 20 testów	REF HXHPAg25 25 testów
1. Płytki testowe, każda zapakowana w osobną kopertkę ze środkiem suszącym	10 szt.	20 szt.	25 szt.
2. Pojemniki z aplikatorem do pobierania próbek kału, zawierające roztwór ekstrakcyjny	10 szt.	20 szt.	25 szt.
3. Instrukcja wykonania oznaczenia	1 szt.	1 szt.	1 szt.

Zestaw Helicobacter Antygen Test należy przechowywać w temperaturze 2–30°C do daty ważności podanej na opakowaniu.

Płytki testowe powinny pozostawać w kopertce do momentu wykonania badania.

**Nie zamrażać.** Należy chronić składniki testu przed zanieczyszczeniem. Nie należy używać odczynników skażonych mikrobiologicznie lub ze strątlami. Zanieczyszczenie biologiczne przyrządów dozujących, pojemników i odczynników może prowadzić do wyników fałszywych.

## SPRZĘT WYMAGANY DODATKOWO

- Pojemnik na kał
- Czasomierz

## ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Test służy tylko do użytku profesjonalnego do diagnostyki *in vitro*.
- Przed wykonaniem oznaczenia należy dokładnie zapoznać się z instrukcją.
- Nie używać testu po terminie ważności. Nie używać testu, jeśli kopertka ochronna jest zniszczona. Nie używać testu powtórnie.
- Zaleca się stosować standardowe środki bezpieczeństwa biologicznego podczas stosowania materiałów potencjalnie zakaźnych.
- Unikać wzajemnego zanieczyszczenia próbek poprzez używanie oddzielnego pojemnika dla każdej próbki.
- Nie jeść, nie pić i nie palić w pomieszczeniach, w których wykonywane są oznaczenia. Wszystkie próbki powinny być traktowane jak potencjalnie zakaźne. Zachować odpowiednie środki ostrożności przy pobieraniu, przechowywaniu i pozbywaniu się próbek i składników zestawu. Podczas pracy używać ubrania ochronnego takiego, jak fartuch laboratoryjny i jednorazowe rękawice.
- Wilgoć i niewłaściwa temperatura mają wpływ na wynik testu.
- Zużyte materiały należy usunąć zgodnie z zasadami usuwania odpadów obowiązującymi w laboratorium.

## PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ

- Zestaw należy przechowywać w temperaturze 2 – 30°C do daty ważności podanej na opakowaniu.
- Płytki testowe powinny pozostawać w kopertce do momentu wykonania testu.
- **Nie zamrażać.**
- Należy chronić składniki testu przed zanieczyszczeniem. Nie należy używać odczynników skażonych mikrobiologicznie lub ze strątlami. Zanieczyszczenie biologiczne przyrządów dozujących, pojemników i odczynników może prowadzić do wyników fałszywych.

## POBIERANIE, PRZECHOWYWANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

- Helicobacter Antygen Test jest przeznaczony do wykonania tylko z próbek ludzkiego kału.
- Badanie należy wykonać zaraz po pobraniu próbki. Nie należy pozostawiać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas. Próbkę można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 72 godzin. W przypadku długotrwałego przechowywania, próbki należy zamrozić w temperaturze poniżej -20°C.
- Przed wykonaniem oznaczenia należy temperaturę próbek doprowadzić do temperatury pokojowej. Zamrożone próbki muszą być całkowicie rozmrożone i dobrze wymieszane przed badaniem. Należy unikać wielu cykli zamrażania / odmrażania.
- Jeśli próbki są przeznaczone do wysłania, należy je zapakować zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi transportu czynników etiologicznych.

## WYKONANIE TESTU

Przed wykonaniem oznaczenia temperaturę płytek testowych, roztworu i/lub kontroli doprowadzić do temperatury pokojowej (15 – 28°C).

### Wstępne przygotowanie próbek

- Z pojemnika do pobrania próbki odkręcić nakrętkę i wyjąć aplikator. Należy uważać, aby nie rozlać lub nie rozpryskać zawartości pojemnika. Za pomocą aplikatora pobrać kał co najmniej z 3 różnych miejsc w ilości ok. 50 mg (co odpowiada 1/4 ziarnka grochu).
- Wprowadzić aplikator z próbką badanego kału do pojemnika z roztworem ekstrakcyjnym i szczelnie zakręcić.

- Potrząsnąć energicznie pojemnikiem, aby badany kał został dokładnie wymieszany z buforem ekstrakcyjnym.

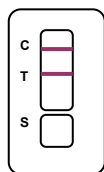
#### Wykonanie oznaczenia

1. Wyjąć płytkę testową z aluminiowej kopertki i umieścić na czystej, poziomej powierzchni. Opisać płytkę nazwiskiem pacjenta lub numerem identyfikacyjnym. Najlepsze wyniki otrzymuje się, gdy oznaczenie jest przeprowadzone w ciągu 1 godziny.
2. Odkręcić białą nakrętkę z pojemnika z roztworem ekstrakcyjnym i przy użyciu kawałka bibuły odłamać końcówkę z pojemnika. Trzymając pojemnik w pozycji pionowej wprowadzić **3 krople** roztworu do okienka (S) na płytce testowej.

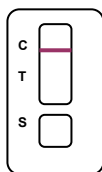
**Unikać tworzenia się pęcherzyków powietrza w okienku nanoszenia próbki (S) i uważać, aby nie wprowadzić roztworu do okienka wynikowego.**

3. Obserwować pojawienie się barwnych prążków. Odczytać wynik po **10 minutach**.

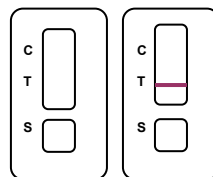
#### INTERPRETACJA WYNIKÓW TESTU



Wynik dodatni



Wynik ujemny



Wynik nieważny

**Wynik dodatni:** Pojawiają się 2 wyraźne prążki: jeden w strefie kontrolnej (C) i drugi w strefie testowej (T).

**Wynik ujemny:** Pojawia się tylko 1 prążek w strefie kontrolnej (C), brak prążka testowego (T).

**Wynik nieważny:** Brak prążka kontrolnego. W takim przypadku wynik testu uważa się za nieważny. Należy powtórzyć oznaczenie z zastosowaniem nowej płytki testowej.

#### Uwaga:

1. Intensywność zabarwienia prążka testowego T może być różna w zależności od stężenia analitu obecnego w próbce. Jednakże jakiegokolwiek ślad prążka T wskazuje na dodatni wynik testu. Należy pamiętać, że jest to tylko test jakościowy i nie można określić stężenia analitu w próbce.
2. Najczęstszą przyczyną braku prążka kontrolnego C jest niewystarczająca objętość próbki, niedokładne wykonanie oznaczenia lub przeterminowany test.

#### KONTROLA JAKOŚCI

- Testy mają wbudowaną wewnętrzną kontrolę jakości wykonania. Pojawienie się linii w strefie kontrolnej (C) świadczy o odpowiedniej objętości próbki naniesionej na płytkę testową i o prawidłowym wykonaniu oznaczenia.
- Kontrole zewnętrzne nie są zawarte w zestawie. Zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną zaleca się stosowanie kontroli dodatniej i ujemnej w celu potwierdzenia procedury badania i weryfikacji prawidłowego wykonania testu.

#### OGRANICZENIA

1. Test służy tylko do profesjonalnego użytku do diagnostyki *in vitro* i powinien być stosowany tylko do jakościowego wykrywania antygenu *H. pylori*.
2. Helicobacter Antygen Test wskazuje jedynie na obecność antygenów *H. pylori* w próbce kału i nie powinien być stosowany jako jedyne kryterium diagnostyczne infekcji *H. pylori*.
3. Aby potwierdzić wyniki testu, należy przeprowadzić dalsze badania, np. innym szybkim testem diagnostycznym, badanie histologiczne, hodowlę lub test oddechowy, zgodnie z zaleceniami lekarza.
4. Wyniki fałszywie ujemne mogą pojawić się w przypadku: bardzo niskiego lub bardzo wysokiego (efekt Hooka) poziomu antygenu, niewystarczającej objętości próbki, uszkodzenia składników testu pod wpływem ciepła lub wilgoci.
5. Wyniki fałszywie dodatnie mogą powstać w wyniku uszkodzenia składników testu pod wpływem ciepła lub wilgoci, lub podczas zastępowania składników testu składnikami z innej serii testów (np. bufor).
6. Wyniki fałszywie ujemne mogą być obserwowane u osób będących w trakcie terapii, takich jak: leczenie antybiotykami, stosujących antagonistów receptora  $H_2$ , bizmutu lub leczenie inhibitorem pompy protonowej.
7. Tak, jak w przypadku innych, szybkich testów diagnostycznych, ostateczna diagnoza powinna być postawiona w oparciu o inne wyniki badań laboratoryjnych i historię choroby pacjenta.

#### CHARAKTERYSTYKA WYKONANIA

**Tabela:** Wyniki otrzymane testem Helicobacter Antygen Test w porównaniu z metodą endoskopową

Względna czułość: 100% Względna swoistość: 100% Całkowita zgodność: 100%			Helicobacter Antygen Test		Razem
	Endoskopia		+	-	
			132	0	132
		-	0	154	154
	Razem		132	154	286

#### Swoistość

Reaktywność krzyżową przebadano z różnymi organizmami o stężeniu  $1,0 \times 10^9$  organizmów/ml. Następujące organizmy dały wynik ujemny testem Helicobacter Antygen Test:

*Staphylococcus aureus*  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Enterococcus faecalis*  
*Group C Streptococcus*  
*Acinetobacter calcoaceticus*

*Proteus mirabilis*  
*Acinetobacter spp*  
*Salmonella choleraesuis*  
*Gardnerella vaginalis*  
*Adenovirus*

*Neisseria gonorrhea*  
*Group B Streptococcus*  
*Proteus vulgaris*  
*Enterococcus faecium*

*Branhamella catarrhalis*  
*E.coli*  
*Neisseria meningitidis*  
*Klebsiella pneumoniae*

*Candida albicans*  
*Chlamydia trachomatis*  
*Rotavirus*  
*Hemophilus influenzae*

#### Precyzja

- w serii

Precyzja w serii została określona na 10 powtórzeniach próbek: ujemnej, słabododatniej, średniododatniej i wysokodatniej, przy użyciu jednej serii zestawu Helicobacter Antygen Test. Próbkę zostały prawidłowo zidentyfikowane > 99% przypadków.

- między seriami










Precyzja między seriami została określona w 10 niezależnych badaniach tych samych próbek: ujemnej, słabododatniej, średniododatniej i wysokodatniej, przy użyciu trzech serii zestawu Helicobacter Antygen Test. Próbkę zostały prawidłowo zidentyfikowane > 99% przypadków.

#### LITERATURA

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; 100:35S-41S.
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.

 Hydrex Diagnostics Sp. z o.o., Aleja Stanów Zjednoczonych 61A, 04-028 Warszawa, [www.hydrex.pl](http://www.hydrex.pl),  
Infolinia 801 000 977

Data aktualizacji ulotki: 19.07.2022

	Numer katalogowy		Przechowywać w temperaturze		Tylko do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Przeczytaj instrukcję stosowania		Nr serii		Wytwórca
	Data ważności		Tylko do jednorazowego użytku		Liczba testów w zestawie