

HEPYLORI PLUS

Per uso Diagnostico in Vitro

Test rapido su strip per la determinazione dell'antigene Helicobacter pylori su campione fecale umano

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

Hepylori Plus è un test immunocromatografico di screening per la determinazione qualitativa dell'antigene di *Helicobacter pylori* nelle feci. Il test fornisce un valido aiuto nella diagnosi di infezione da *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori (noto anche come *Campylobacter pylori*) è un batterio gram negativo che infetta la mucosa gastrica. L'infezione da *Helicobacter pylori* può portare a gastriti croniche e predispone ad ulcere duodenali e gastriche e può aumentare il rischio di adenocarcinoma allo stomaco, tanto da essere classificato come agente carcinogeno di tipo I. L'infezione da *Helicobacter pylori* è molto diffusa ed è stata stimata nel 40-50% della popolazione nei paesi sviluppati e raggiunge l'80-90% della popolazione dei paesi in via di sviluppo.

II. PRINCIPIO DEL TEST

Hepylori Plus è un metodo immunocromatografico assolutamente non invasivo, semplice da eseguire, rapido e molto preciso nel risultato. Il metodo prevede l'utilizzo di un anticorpo monoclonale specifico per l'H. pylori fissato ad una membrana cromatografica. Durante l'esame, il campione reagisce con le particelle di lattice coniugate con l'anticorpo anti-H. pylori che si trovano nell'area test. La miscela si muove lungo la membrana per azione capillare. L'eventuale presenza di H. pylori nelle feci determina la formazione di un ponte capace di legare l'anticorpo coniugato con Latex portando alla formazione di una banda colorata. Alla membrana è fissato anche un anticorpo generico capace di legare l'anticorpo coniugato, confermando o meno la buona riuscita del test.

III. REAGENTI E MATERIALI Ciascun kit contiene:

1. **Hepylori dipstick** - Le strisce reattive sono contenute in un flacone sigillato, con essiccante.
2. **Liquido di estrazione** - Tubi di estrazione contenenti il liquido di estrazione (soluzione fortemente ipotonica).
3. **Controllo Positivo** - soluzione contenente proteine di H. pylori ottenute da una sospensione batterica inattivata ed omogeneizzata (concentrazione $\geq 1 \mu\text{g/mL}$). Contiene sodio azide $< 0.1 \%$.
4. **Controllo Negativo** - usare il liquido di estrazione come controllo negativo.
5. **Istruzioni per l'Uso.**

Materiale richiesto ma non fornito

Dispositivi per la raccolta dei campioni; Guanti monouso; Cronometro; Provette/fiale da saggio; pipette gocciolatore.

IV. PRECAUZIONI PARTICOLARI

- Tutte le operazioni indicate devono essere eseguite rispettando le regole di laboratorio.
- Hepylori Plus è un kit utilizzato esclusivamente per test in vitro e da personale addestrato ad effettuare test clinici.
- Evitare di toccare la striscia di nitrocellulosa con le dita.
- I campioni di feci possono essere potenzialmente infettivi. Devono essere stabiliti metodi appropriati per la manipolazione e per la conservazione.
- Eliminare i guanti, i tamponi, le provette e le strip utilizzate rispettando le regole di laboratorio.
- Non utilizzare reagenti provenienti da altri kit.
- La strip deve rimanere nel contenitore chiuso fino al suo utilizzo.
- La qualità dei reagenti non può essere garantita dopo la data di scadenza o se conservati in condizioni non adeguate.

V. CONSERVAZIONE

Conservare nella confezione sigillata in frigorifero o a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione. Le strip devono rimanere nel flacone chiuso fino all'utilizzo. Non congelare.

VI. RACCOLTA DEL CAMPIONE

I campioni devono essere trasportati in un contenitore ermetico e conservati a +2°C - +8°C fino al loro utilizzo. Testare i campioni il prima possibile e comunque entro 72 ore se conservati a +2°C - +8°C. Per periodi di stoccaggio più lunghi i campioni vanno congelati a -20°C. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato. I campioni possono essere congelati e scongelati per due volte.

Nota

Non utilizzare campioni conservati con un terreno di trasporto, su tampone o miscelati con conservanti. Omogenizzare i campioni prima di prelevare.

Campioni liquidi o semi-solidi

Usare una pipetta di trasferimento (inclusa nel kit) per ciascun campione. Prelevare una quantità di feci dal campione stesso e dispensarne 6-7 gocce in un tubo di estrazione. Miscelare su vortex per 15 secondi.

Prestare attenzione quando si pipettano feci semi-solidi. L'aggiunta di quantità di campione inferiore a quella indicata potrebbe dare luogo a risultati falsi negativi. Mentre l'aggiunta di una quantità superiore potrebbe originare risultati non validi a causa della difficoltosa migrazione del campione lungo la membrana.

Campioni solidi

Aprire la parte superiore del tubo di estrazione. Prelevare il campione con il bastoncino del tappo, toccando le feci in tre punti diversi. Verificare di trasferire all'interno del tubo di estrazione una piccola quantità di feci (circa 100 mg). Riavvitare il tappo con il bastoncino e miscelare per ottenere una soluzione omogenea. Attendere almeno 3 minuti. Se necessario ripetere queste operazioni fino ad ottenere una soluzione giallo scuro-bruna.

Trasferire poche feci, miscelare poco la soluzione o lasciare le feci in sospensione nel tubo di estrazione può dare origine a risultati falsi negativi. Verificare di trasferire la quantità giusta di feci nel tubo di estrazione. Miscelare il campione su vortex prima dell'uso. L'aggiunta di una quantità superiore di feci potrebbe dare luogo a risultati non validi per la migrazione difficoltosa del campione lungo la membrana.

VII. PROCEDURA DEL TEST

Prima di effettuare il test lasciare che i campioni di feci e il liquido di estrazione ed i controlli raggiungano temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F). Per i controlli positivi e negativi, usare la stessa procedura analitica (dal punto 3 in poi) utilizzata per i campioni di feci.

1. Togliere la strip dal flacone e usare il prima possibile.
2. Miscelare la soluzione nel tubo con il liquido di estrazione e il campione. Rompere il beccuccio sul tappo.
3. Dispensare 5-6 gocce di campione (200 μL) nel tubo da saggio.
4. Immergere verticalmente la strip nella direzione indicata dalle frecce avendo cura di non superare il limite di immersione indicato dalla punta delle frecce stesse.
5. Far partire il cronometro e leggere il risultato al 10° minuto (non superare i 15 minuti).



VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

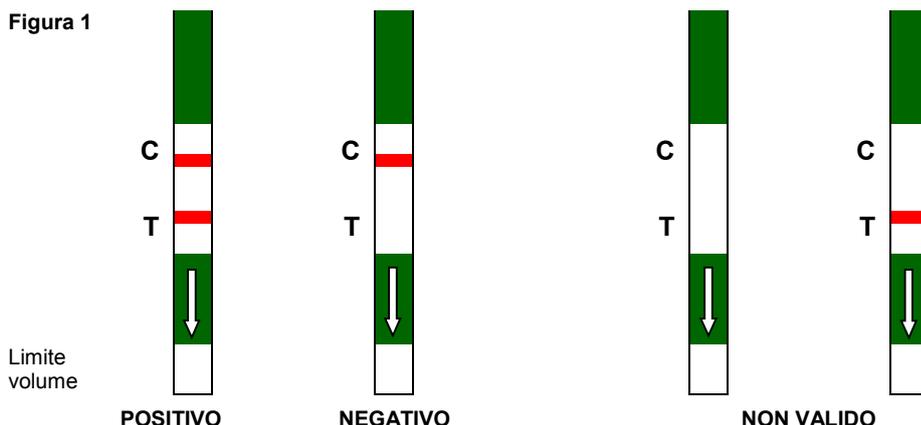
I risultati devono essere interpretati nel seguente modo:

Positivo: Appaiono 2 bande colorate di rosso. Una nella zona test "T" e una nella zona di controllo "C". L'intensità della colorazione della banda nella zona "T" è proporzionale alla concentrazione dell'antigene nel campione. In ogni modo né un valore quantitativo, né il tasso di incremento dell'antigene può essere determinato da questo test qualitativo.

Negativo: Appare 1 sola banda colorata di rosso nella zona di controllo "C". Questa è la banda di controllo, che garantisce il corretto funzionamento del test.

Non Valido: Nessuna banda appare nella zona di controllo. In nessun caso un campione deve essere identificato come positivo se non si ha la formazione della banda di controllo. Se la banda di controllo non si forma, il test non è valido e deve essere ripetuto.

Figura 1



IX. CONTROLLO QUALITÀ INTERNO

In ogni striscia reattiva è inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. La formazione della banda di controllo "C" conferma che la tecnica procedurale è corretta e che il volume del campione è sufficiente.

X. CARATTERISTICHE

A. Sensibilità analitica – 6.25×10^3 CFU/mL (0.78 ng/mL).

B. Sensibilità-Specificità (correlazione)-Accuratezza

Il kit è stato validato confrontando i risultati ottenuti con Helylori Plus con quelli ottenuti con un test ELISA presente sul mercato, Amplified IDEIATM HpSTARTM. La sensibilità e la specificità del kit sono state determinate su campioni di feci provenienti da pazienti asintomatici e da pazienti con sintomi di infezione da *Helicobacter pylori*. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

sensibilità = > 94 % (35 campioni confermati positivi su 37 positivi con ELISA).

specificità = > 99 % (10 campioni confermati negativi su 10 negativi con ELISA).

PPV >99%; NPV >84%.

accuratezza = > 92 % rispetto ad altri metodi d'analisi (coltura, Urea Breath Test e test dell'ureasi).

C. Linearità: incremento di segnale visibile fino alla concentrazione di 9 mg/mL.

D. Effetto Prozona (Hook Effect): non osservato fino a 9 mg/mL. A concentrazioni superiori non è stato visto

E. Cross-Reattività Non si sono evidenziate interferenze con i comuni patogeni intestinali, con altri organismi e sostanze occasionalmente presenti nei campioni di feci. Rotavirus, Adenovirus, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Giardia lamblia*,

Un secondo studio eseguito su una casistica costituita da campioni potenzialmente cross-reattivi per Rotavirus, per svariati protozoi o elminti patogeni enterici, campioni contaminati con batteri quali *Salmonella* e *Campylobacter*, ha permesso di identificare un valore di specificità di circa il 100%, risultando negativi.

Tutti i batteri e i virus testati sono risultati negativi: Rotavirus, *Campylobacter jejuni* a concentrazione di circa 2 mg/g di feci; *Campylobacter upsaliensis* (2 mg/g); *Salmonella*; *C. difficile*; *Klebsiella*; *Y. Enterocolitica*; *Giardia lamblia*; *S. enteridis*; *Shigella*; *Proteus*; *P. mirabilis*; *Entamoeba histolytica*; *Citrobacter*; *P. vulgaris*; *Strongyloides stercoralis*; *EPEC: E. coli enteropatogenico*; *EPEC: E. coli enterotossico*,

F. Interferenze

Non si sono evidenziate interferenze con Emoglobina umana, immunoglobuline bovine (IgG) e ormone HCG. Campioni fecali diarroici, ematici non interferiscono.

XI. LIMITI DEL TEST

- Un eccesso di campione fecale potrebbe dare un risultato errato (comparsa di banda marrone o assenza di banda di controllo).
- Il test è usato per la determinazione qualitativa dell'antigene *Helicobacter pylori* in campioni fecali umani. Un risultato positivo suggerisce la presenza di antigeni *Helicobacter pylori* nel campione analizzato.
- Un risultato dubbio deve essere ricontrollato con una nuova strip e un nuovo campione.
- Come per tutti i test diagnostici, una diagnosi definitiva di infezione da *Helicobacter pylori* deve essere confortata da ulteriori evidenze cliniche e da un'analisi medica.

XII. BIBLIOGRAFIA

1. 1997 – International update conference on H. pylori by the American Digestive Health Foundation's
2. 1998 – Guidelines for the management of H. pylori infection – Colin W. Howden, MD FAGC and R. H. Hunt
3. 1999 – Detection of H. pylori CagA gene by PCR in fecal samples – Russo F., Leoci C., Notarnicola M., Di Matteo G., Caruso M. L., Pirelli M., Caradonna M., Morandi L., Di Leo A.
4. 1999 – Detection of H. pylori DNA in fecal samples from infected individuals – William A., Gramley A.
5. 1999 – Analysis of VacA, CagA, and IS605 genotypes and those determined by PCR amplification of DNA between repetitive sequences of H. pylori strains isolated from patients with nonulcer dyspepsia or mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma – van Doorn N. E., Namavar F., van Doorn L. J., Durrani Z., Kuipers E. J., Vandenbroucke-Grauls C. M.; J. Clin. Microbiol.; 37 (7): 2348-9
6. 2008 – *Helicobacter pylori*: valutazione di un nuovo test diretto – Casella P., Straface M.C. SMEL, A.O. "Ospedale Civile di Vimercate" Presidio di Vimercate (MI)

| | | | | | | | |
|-----|---|------------------------------|-----|-------------------------|------------------|------------------------------|---------------------------|
| IVD | Dispositivo medico-diagnostico in vitro | Limiti di temperatura | LOT | Codice del lotto (EXXX) | Fabbricante | Mantenere asciutto | Non sterile |
| i | Consultare le istruzioni per l'uso | Utilizzare entro (anno/mese) | REF | Numero di catalogo | Non riutilizzare | Fragile, maneggiare con cura | Tenere lontano dal calore |

CONFEZIONE (50 test)

Helylori dipstick
Liquido di Estrazione
Controllo Positivo (Tappo rosso)
Istruzioni per l'uso

COD. VC1150P

50 pezzi
50 flaconi x 1.0 mL
1 flacone x 0.5 mL
1 pezzo

Codice Ramo CND W0105090102

