



## ISTRUZIONI PER L'USO

## HEPY STOOL CARD PLUS

TEST RAPIDO SU CARD PER LA DETERMINAZIONE DELL'ANTIGENE *HELICOBACTER PYLORI* SU CAMPIONE FECALE UMANO

## 1 – INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

Per solo uso diagnostico *in Vitro*

Hepy Stool Card 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.

## 2 – PRINCIPIO DEL METODO

Hepy Stool Card 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 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 le particelle 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.

## 3 – MATERIALI FORNITI – CONFEZIONAMENTO

Prodotto	Tipologia	REF	Confezione
Hepy Stool Card Plus CND: W0105090102 EDMA: 15.01.04.01; RDM: 1435008/R	Test immunocromatografico	VT82001P (50 test)	50 buste di alluminio sigillate contenenti la card e un essiccante. 50 flaconcini di plastica con tappo gocciolatore contenenti il liquido di estrazione (soluzione fortemente ipotonica); da usare anche come controllo negativo (50 x 1 mL) 1 vial di vetro con tappo gocciolatore contenente Controllo Positivo: miscela con componenti non-infettivi e NaN <sub>3</sub> come conservante (0.5 mL) 6 pipette di plastica Imballo secondario: scatola di cartone.
Hepy Stool Card Plus CND: W0105090102 EDMA: 15.01.04.01; RDM: 1672148/R	Test immunocromatografico	VT82003P (20 test)	20 buste di alluminio sigillate contenenti la card e un essiccante. 20 flaconcini di plastica con tappo gocciolatore contenenti il liquido di estrazione (soluzione fortemente ipotonica); da usare anche come controllo negativo (20 x 1 mL) 1 vial di vetro con tappo gocciolatore contenente Controllo Positivo: miscela con componenti non-infettivi e NaN <sub>3</sub> come conservante (0.5 mL) 3 pipette di plastica Imballo secondario: scatola di cartone.

## 4 – MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

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

## 5 – PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- Tutte le operazioni riferite all'esecuzione del test devono essere condotte in accordo alle Buone Pratiche di Laboratorio.
- Hepy Stool Card Plus è un kit qualitativo per l'uso diagnostico *in vitro*, per il solo uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato e adeguatamente addestrato.
- Questo prodotto è classificato non pericoloso in accordo alla Legislazione Europea vigente.
- Evitare di toccare la striscia di nitrocellulosa con le dita.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Ciascuna card e ciascun flacone di liquido di estrazione devono essere usati una sola volta.
- Non usare reagenti di altri lotti o di altri kit.
- La card deve rimanere nella busta chiusa fino al suo utilizzo.
- Eseguire il test entro 2 ore dall'apertura della busta.
- Non usare la card se la busta è danneggiata.
- La presenza di linee gialline nella finestra dei risultati visibili prima dell'esecuzione del test è del tutto normale. Questo non influenza la funzionalità del test.
- Usare i guanti per la manipolazione dei campioni fecali.
- Eliminare i guanti, i tamponi, le provette e le card utilizzate rispettando le regole di laboratorio ed utilizzando appositi contenitori per il rischio biologico.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza e non usare il test se la confezione è danneggiata. La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se il kit è conservato in condizioni non appropriate.
- Il Certificato di Analisi e la Scheda Dati di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito web: [www.masciabrunelli.it](http://www.masciabrunelli.it).
- Questo dispositivo contiene materie prime di origine animale. La materia prima in questione proviene da animali che sono stati macellati in un macello autorizzato e che, a seguito di un'ispezione antemortem, non hanno mostrato alcun segno di malattia trasmissibile all'uomo o agli animali. In ogni caso si raccomanda di trattare il kit come potenzialmente infettivo, e di manipolarlo osservando le consuete precauzioni specifiche: non ingerire, inalare o far entrare in contatto con pelle, occhi, mucose.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.
- Comunicare a Mascia Brunelli Spa e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo diagnostico *in vitro*.





## 6 – CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E DATA DI SCADENZA

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 se opportunamente conservato. I dispositivi (card) devono rimanere nelle buste chiuse fino all'utilizzo. Non usare la card dopo 2 ore dall'apertura. Non congelare.

## 7 – 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 48 ore se conservati a +2°C - +8°C. Per periodi di stoccaggio più lunghi i campioni vanno congelati a -20°C, *massimo entro 1 anno*. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato.

**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 (circa 125 µL) 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

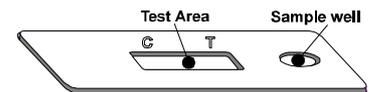
Aprire la parte superiore del tubo di estrazione. Prelevare il campione con il bastoncino del tappo, toccando le feci in *quattro* punti diversi. Verificare di trasferire all'interno del tubo di estrazione una piccola quantità di feci (circa 50 mg). Riavvitare il tappo con il bastoncino e miscelare per 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.

## 8 – PROCEDIMENTO DEL TEST

**Prima di effettuare il test lasciare che i campioni di feci e il liquido di estrazione raggiungano temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F). Non aprire le buste con le card fino a quando non si è pronti ad effettuare l'analisi.**

1. Togliere la card dalla busta e usare il prima possibile. Porre la card su una superficie piana e pulita.
2. Miscelare la soluzione nel tubo con il liquido di estrazione e il campione. Rompere il beccuccio sul tappo.
3. Usare una card per ciascun campione. Dispensare 3 gocce nel pozzetto indicato dalla lettera S. Far partire il cronometro.
4. Leggere il risultato 10 minuti dopo aver dispensato il campione. Non superare i 10 minuti.



Se il test non funziona a causa di particelle solide, agitare il campione aggiunto nella finestra del campione (S) con il bastoncino. Se non funziona, dispensare una goccia di diluente fino a vedere il liquido scorrere nella zona di reazione.

### PROCEDIMENTO PER CONTROLLI POSITIVO E NEGATIVO

Rimuovere il dispositivo dalla busta protettiva (portare il dispositivo a temperatura ambiente prima di aprire la busta per evitare il formarsi di condensa sulla membrana).

Aprire il flacone dei Controlli e dispensare 2-3 gocce di controllo nel pozzetto "S" della card.

Leggere il risultato 10 minuti dopo aver dispensato il controllo. Non superare i 10 minuti.

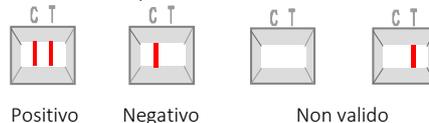
## 9 – LETTURA E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati devono essere interpretati nel seguente modo:

**NEGATIVO:** Nella finestra di lettura appare 1 sola banda rossa colorata nella zona "C" della finestra di lettura. Questa è la banda di controllo, che garantisce il corretto funzionamento del test.

**POSITIVO:** Appaiono 2 bande colorate: una nella zona "T" rossa, e una nella zona "C" della finestra di lettura. L'intensità della colorazione della banda nella zona "T" è proporzionale alla concentrazione dell'antigene nel campione.

**NON VALIDO:** Nessuna banda appare nella zona 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.



## 10 – 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.

## 11 – VALORI ATTESI

Alcuni studi hanno rilevato che oltre il 90% dei pazienti con ulcera duodenale e l'80% dei pazienti con ulcera gastrica sono infettati dall'*Helicobacter pylori*. Hepy Stool Card Plus è stato confrontato con diversi metodi: colture, Urea Breath Test e Test dell'ureasi, dimostrando un'accuratezza complessiva di oltre il 92%.

## 12 – CARATTERISTICHE

**A. Sensibilità analitica** – 0.78-0.09 ng/mL proteina ricombinante della membrana esterna

**B. Sensibilità-Specificità (correlazione)-Accuratezza**

Il kit è stato validato confrontando i risultati ottenuti con Hepy Stool Card Plus con quelli ottenuti con un test in biologia molecolare presente sul mercato, VIASURE *Helicobacter pylori* Real Time Detection Kit. 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:





HEPY STOOL CARD PLUS vs VIASURE <i>Helicobacter pylori</i> Real Time Detection Kit		
		95% CI (Intervallo di Confidenza)
Sensibilità	98.2%	90.3%-100.0%
Specificità	98.4%	91.2%-100.0%
PPV	98.2%	90.3%-100.0%
NPV	98.4%	91.2%-100.0%

**C. Cross-Reattività** Non si sono evidenziate interferenze con i comuni patogeni intestinali, con altri organismi e sostanze occasionalmente presenti nei campioni di feci: *Escherichia coli O157:H7*, *Campylobacter coli/jejuni*, *Salmonella enteritidis/paratyphi/typhi/typhimurium*, *C. difficile*, *Y. Enterocolitica*, *Shigella boydii/dysenteriae/flexneri/sonnei*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*.

**13 – LIMITI DEL METODO**

- Un eccesso di campione fecale potrebbe dare un risultato errato (comparsa di banda marrone o assenza di banda di controllo). Diluire il campione con il tampone e ripetere il test.
- Il test è usato per la determinazione qualitativa dell'antigene *Helicobacter pylori* in campioni fecali umani. L'uso di altri tipi di campioni non è stato valutato. La qualità del test dipende dalla qualità del campione; è necessario ottenere campioni fecali adeguati.
- Non è possibile valutare un risultato quantitativo o una variazione nella concentrazione di *Helicobacter pylori* con questo test. Un risultato positivo suggerisce la presenza di antigeni dell'*Helicobacter pylori* nel campione; tuttavia, un risultato positivo deve essere suffragato da ulteriori tecniche invasive (endoscopia) per confermare i risultati. La conferma dell'infezione deve essere fatta dal medico solo dopo aver valutato tutti i risultati clinici e di laboratorio e deve basarsi sulla correlazione dei risultati con ulteriori osservazioni cliniche.
- Questo test non consente di determinare né il valore quantitativo né il tasso di aumento della concentrazione di antigeni di *H. pylori*.
- È noto che gli antimicrobici, gli inibitori della pompa protonica e i preparati a base di bismuto sopprimono *H.pylori*, e l'ingestione di questi prima dell'esecuzione del test di *H.pylori* (coltura, istologia, ureasi rapida, UBT e antigene fecale) può causare risultati falsi negativi. Se un paziente ha ingerito questi composti entro due settimane prima dell'esecuzione del test per l'antigene, può verificarsi un risultato falso negativo. In tali casi, il test deve essere ripetuto su un nuovo campione ottenuto due settimane dopo l'interruzione del trattamento. Un risultato positivo per un paziente che ingerisce questi composti entro due settimane prima dell'esecuzione del test, deve essere considerato accurato. Nel caso di una terapia di eradicazione specifica, il test per il follow-up della terapia deve essere eseguito almeno dopo 4 settimane dalla fine del trattamento.
- Un risultato dubbio deve essere ricontrollato con una nuova card e un nuovo campione.
- Se il test risulta negativo ma i sintomi clinici persistono, si raccomanda di eseguire ulteriori test con altri metodi clinici oppure su un campione ottenuto con un arricchimento in coltura. Un risultato negativo non preclude mai la possibilità di un'infezione da *H. pylori*; potrebbe essere che la concentrazione di antigeni nel campione di feci sia inferiore al valore del limite di rilevazione.
- Campioni mucosi e/o ematici possono causare reazioni non specifiche. Se il risultato con questi campioni è positivo, si consiglia di confermarlo con altre tecniche.

**14 – BIBLIOGRAFIA**

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

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Codice del lotto (DXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)		Numero di catalogo		Tenere lontano dal calore		Fragile, maneggiare con cura

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'uso (IFU) - Revisione 08	Aggiornamento del contenuto e del layout	2022/09

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

