



Wytwórca
Coris BioConcept
 Science Park – CREALYS
 Rue Phocas Lejeune, 30 bte 9
 B - 5032 GEMBLOUX
 BELGIUM
 Tel : +32(0)81.719.917
 Fax : +32(0)81.719.919
 e-mail: coris.bc@skynet.be
 http://www.corisbio.com



Autoryzowany przedstawiciel i dystrybutor
 Alpha Diagnostics Sp. z o.o.
 Ul. Gabriela 2, 01- 347 Warszawa
 Tel. (22) 631 40 13; fax (22) 632 42 11

Magazyn; Produkcja; Kontrola Jakości; Serwis
 Ul. Stępińska 22/30, 00 -739 Warszawa
 Tel. (22) 631 42 27; fax (22) 631 48 23
 e-mail: ad@alphadiag.com.pl
www.alphadiag.com.pl

Pylori-Strip

PL

Szybki test *in vitro* do wykrywania *Helicobacter pylori* w próbkach kału.

TYLKO DO UŻYTKU IN VITRO

Numer katalogowy: C-1019, 25 testów w opakowaniu
C-1519, 10 indywidualnie pakowanych testów wraz z zestawem do pobierania materiału
C- 1219, 20 indywidualnie pakowanych testów

I. WPROWADZENIE

Helicobacter pylori jest gram-ujemną bakterią o spiralnym kształcie, która bytując w błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy powoduje chorobę wrzodową i przewlekłe zapalenie błony śluzowej żołądka. Jej obecność w błonie śluzowej żołądka jest ściśle związana z nowotworowym ryzykiem tych chorób i została sklasyfikowana jako czynnik rakotwórczy I klasy.

W krajach rozwijających się zakażenie przenosi się głównie drogą fekalno-oralną a w krajach rozwiniętych drogą gastro-oralną. Obie te drogi kolonizacji, które prowadzą do zakażenia są stale wnikliwie badane. Infekcja *H.pylori* może być diagnozowana metodami nieinwazyjnymi (testy serologiczne, test¹³ oddechowy C-urea (UBT) i testy antygenowe w kale) lub inwazyjnymi (badanie endoskopowe, histopatologiczne (biopsja), bakteriologiczne lub test urazowy). Aczkolwiek specyficzność metody endoskopowej jest bardzo wysoka, to duży koszt i procedura badania są dla pacjenta bardzo niekomfortowe.

Stowarzyszenie European Helicobacter pylori Study Group opracowało „Wytyczne dla postępowania w infekcji *Helicobacter pylori* „ (Maastricht III Consensus Report).

Strategia test-i-leczenie jest właściwa dla wszystkich pacjentów z zaburzeniami czynności trawiennych, które są wysoce rozpowszechnione w populacji (>20%) jak też dla pacjentów z niezdiagnozowaną dyspepsją. Rekomendowane testy nieinwazyjne to test oddechowy (UBT) i test antygenowy w kale. Inhibitory pompy protonowej (PPI) mogą być źródłem fałszywie ujemnych wyników testów z wyjątkiem testów serologicznych, należy więc zaprzestać podawania PPI na około 2 tygodnie przed wykonaniem testu. Takie postępowanie jest zalecane w przypadku pacjentów po eradykacji *Helicobacter pylori* przed wykonaniem testu UBT lub testu antygenowego w kale.

H.pylori znaleziono u więcej niż 90% chorych, u których stwierdzono wrzód dwunastnicy i u 80% pacjentów z chorobą wrzodową żołądka. Zakażenie *H.pylori* jest jedną z najczęstszych przewlekłych infekcji na całym świecie: 20-90% dorosłych jest zakażonych, infekcja jest bardziej powszechna w krajach rozwijających się niż w tych uprzemysłowionych. Duży zasięg tej infekcji w populacji pociągający za sobą konsekwencje, łącznie z ryzykiem rozwinięcia się raka żołądka, uzasadnia dostarczenie szybkiego diagnostycznego narzędzia przeciwko tej bakterii.

Test H.pylori-Strip jest wysoce czułym i specyficznym szybkim testem membranowym, w którym użyto monoklonalne przeciwciała do wykrycia antygeny *H.pylori* obecnego w próbce kału.

II. ZASADA METODY

Test ten jest gotowy do użycia i bazuje na zastosowaniu jednolitego immunochromatograficznego systemu z użyciem mikrocząstek lateksu. Próbkę kału należy rozcieńczyć buforem HC, który jest dołączony do testu. Nitrocelulozowa membrana jest uczulona przeciwciałami skierowanymi przeciwko *Helicobacter pylori*. Specyficzność testu jest gwarantowana przez zastosowanie monoklonalnego przeciwciała, skierowanego przeciwko specyficznemu antygenom *Helicobacter pylori*, które w połączeniu z mikrocząstkami lateksu tworzy stały koniugat na poliestrowej membranie.

Po zanurzeniu paska w zawieszinie kału, rozpuszczony koniugat poprzez bierną dyfuzję wędruje z próbką i dochodzi do kontaktu koniugatu i próbki z monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko specyficznemu antygenowi *Helicobacter pylori*. Jeśli próbka zawiera specyficzny antygen *Helicobacter pylori*, kompleks koniugat- antygen *Helicobacter pylori* zostaje związany z monoklonalnymi przeciwciałami zaadsorbowanymi na nitrocelulozowej membranie i w przeciągu 10 minut na pasku pojawia się czerwona linia. Roztwór kontynuując wędrować, napotyka drugi odczynnik (kontrolny) i wiąże kontrolny koniugat, tworząc w ten sposób zieloną linię, potwierdzającą prawidłowe działanie testu.

III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Każdy zestaw zawiera: Paski Pylori-Strips, bufor rozcieńczający i opcjonalnie zestaw do pobierania materiału i wykonania testu (dla C-1519)

1. Pylori-Strip

Każdy pasek jest uczulony mysimi monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko specyficznemu antygenowi *Helicobacter pylori*, oraz kozią surowicą przeciwko kurzym IgY.

Koniugat *anti-Helicobacter pylori* utworzono przez użycie mysich monoklonalnych przeciwciał skierowanych przeciw takiemu samemu specyficznemu antygenowi *Helicobacter pylori*.

Koniugat kontrolny utworzono z kurzego IgY.

Paski umieszczone są w pojemniku lub indywidualnym opakowaniu z saszetką pochłaniającą wilgoć.

2. Bufor HC (15 ml)

Roztwór soli buforowany do pH 7.5 za pomocą Tris zawierający EDTA, NaN3 (<0.1%), detergent i białka uzupełniające.

3. Instrukcja używania (1X)

4. Potrzebne materiały (dostarczone w zestawie C-1519)

- 3 lub 5 ml próbki testowe
- eza do pobierania próbek kału

IV. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie czynności testu muszą być wykonane zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną.

- Test Pylori-Strip jest przeznaczony tylko do użytku in vitro.

- Unikaj dotykania palcami nitrocelulozy.

- Używać rękawiczek w czasie operowania próbką.

- Rękawiczki, wymazówki, próbki i zużyte paski należy usuwać zgodnie z DPL.

- Nigdy nie należy używać odczynników pochodzących z różnych serii.

- Jeżeli paski są przechowywane w pojemniku, to ze względu na ich podatność na zawilgocenie, należy pojemnik dokładnie zamknąć natychmiast po wyjęciu pasków niezbędnych do wykonania badań.

Upewnić się, że pochłaniacz wilgoci znajduje się w pojemniku.

- Jeżeli paski przechowywane są w opakowaniach indywidualnych, to należy otwierać je ostrożnie tak, aby nie uszkodzić paska.

- Dwie zielone linie wyznaczają miejsca unieruchomienia przeciwciała. Znikają one w trakcie badania.

- Nie używać buforu gdy jest zanieczyszczony bakteryjnie lub pokryty pleśnią.

- Jakość odczynników nie jest gwarantowana po przekroczeniu ich terminu ważności, lub gdy są niewłaściwie przechowywane.

Dla uniknięcia rozpuszczenia koniugatu w roztworze, należy uważać, by nie zanurzyć paska powyżej linii umiejscowionej pod strzałką.

V. PRZECHOWYWANIE

Nie używany zestaw Pylori-Strip przechowywany w temp. 4 - 30°C, jest trwały do daty ważności podanej na opakowaniu.

Po otwarciu, jeśli jest przechowywany w temp.4 - 30°C i suchym otoczeniu, zachowuje trwałość przez 15 tygodni.

Trwają badania nad pełną stabilnością testu. Wyniki cząstkowe są dostępne w Coris-BioConcept.

Zestawu Pylori-Strip nie wolno zamrażać.

VI. PRÓBKİ

Próbki kału muszą być badane jak najszybciej po ich zebraniu. Jeśli testu nie wykonujemy od razu, próbki mogą być przechowane w temp.2 - 8°C przez 24 godziny, a przy dłuższym przechowywaniu należy je zamrozić do -20°C.

Należy się upewnić, że próbki nie były poddane działaniu formaldehydu lub jego pochodnych.

VII. WYKONANIE

Przygotowanie:

Jeśli zestaw Pylori-Strip był przechowywany w temp. 4°C, należy przed rozpoczęciem badania doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej.

Napisać nazwisko pacjenta lub numer próbki na próbówce testowej (zaplanować po jednej próbówce na próbce).

Umieścić oznakowane próbki w statywie.

Wykonanie:

1. Odmierzyć 0.5 ml czyli 15 kropli roztworu buforu do każdej próbki.
2. Zanurzyć w próbówce eżę zawierającą próbkę kału. Roztwór powinien być najwyżej 4% w/v. **Jeśli próbka kału jest płynna, należy wziąć dwie 2 ezy po 10 µl, natomiast przy próbkach zwartych wystarczy 1 eza.**

3. Wymieszać do uzyskania homogennej zawiesiny i pozostawić na 1-2 minut.
4. Usunąć eżę i zanurzyć uczulony pasek w kierunku wyznaczonym przez czerwoną strzałkę.
5. Pozostawić na 10 minut.
6. Wynik musi być odczytany na mokrym pasku.

VIII. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki interpretowane są następująco:

Jedna zielona linia = test negatywny
Jedna zielona linia i jedna czerwona linia = test pozytywny
Brak linii = test nie może być interpretowany*

* Brak zielonej linii, która jest linią kontrolną, unieważnia wynik testu. W takim przypadku badanie należy powtórzyć.

Intensywność zabarwienia linii testowej może być zmienna, ze względu na różną ilość antygenów w próbkach kału. Nawet najdelikatniejsze zabarwienie linii testowej musi być traktowane jako wynik dodatni. Jednak test jest tylko jakościowy i nie może być stosowany do ilościowego określania antygenów w próbce. W celu postawienia diagnozy należy brać pod uwagę objawy kliniczne i wyniki innych testów. Podczas wysychania, wokół linii testowej może pojawić się słabo widoczny cień, którego nie wolno traktować jako wynik dodatni.

W celu przechowania wykonanych testów należy wysuszyć pasek po usunięciu absorbentu.

IX. KONTROLA JAKOŚCI

Zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej zalecane jest regularne sprawdzanie jakości testu, dostosowując je do wymagań laboratorium.

X. CHARAKTERYSTYKA TESTU

A. Czułość – Specyficzność (Korelacja):

1) Test był walidowany na 153 próbkach w porównaniu z metodami EIA i ICT (Niemcy).

EIA	Wyniki pozytywne	Wyniki negatywne	Wyniki końcowe
Pasek Pylori			
Wyniki pozytywne	57	1	58
Wyniki negatywne	2	33	34
Wyniki końcowe	59	34	93

Czułość = 96,6% Prawdziwie dodatnie wyniki: 98,3%
 Specyficzność = 100% Prawdziwie ujemne wyniki: 94,3%

ICT	Wyniki pozytywne	Wyniki negatywne	Wyniki końcowe
Pasek Pylori			
Wyniki pozytywne	24	0	24
Wyniki negatywne	2	34	36
Wyniki końcowe	26	34	60

Czułość = 92,3% Prawdziwie dodatnie wyniki: 100%
 Specyficzność = 100% Prawdziwie ujemne wyniki: 94,4%

2) Test Pylori-Strip był tak że oceniany na panelu 18 klinicznych szczepów bakteryjnych wykazujących różną wrażliwość na antybiotyki. Test Pylori-Strip wykrywa wszystkie te kliniczne izolacje.

B: POWTARZALNOŚĆ I ODTWARZALNOŚĆ

W celu sprawdzenia powtarzalności wewnątrz serii, jedna próbka dodatnia (zawierająca *Helicobacter pylori*) i bufor HC (jako negatywna próbka kontrolna) została przetestowana 15 krotnie z użyciem pasków tej samej serii i w identycznych warunkach eksperymentu. Wszystkie otrzymane wyniki były zgodne ze spodziewanymi.

W celu sprawdzenia odtwarzalności między seriami, ta sama próbka *Helicobacter pylori* (dodatnia i bufor rozcieńczający HC) została przetestowana z użyciem pasków z 3 różnych numerów serii. Wszystkie otrzymane wyniki były zgodne ze spodziewanymi.

C. INTERFERENCJE:

Nie stwierdzono reakcji krzyżowych w przypadku próbek dodatnich w kierunku następujących patogenów: Rotavirus, Coronavirus, Adenovirus 40/41, *Nocardia asteroides*, *Streptococcus pneumoniae*, HSV, *Rhinovirus*, *Enterovirus*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Giardia lamblia*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Legionella pneumophila*, *Cryptosporidium parvum*, *E.coli* F5, *E.coli* CS31, *E.coli* szczepy wzorcowe (ATCC25922, ATCC35150).

XI. OGRANICZENIA

Wyniki testów muszą być porównywane z innymi dostępnymi informacjami klinicznymi i laboratoryjnymi.

Pozytywny wynik testu nie wyklucza możliwości obecności innych patogenów.

Pylori-Strip jest skriningowym testem stosowanym w ostrej fazie choroby. Miano antygeny w próbkach kału zebranych po jej zakończeniu może być poniżej progu czułości testu.

XII. PROBLEMY TECHNICZNE

Jeżeli wystąpią problemy techniczne lub wyniki (czułość i specyficzność testu) będą inne niż opisano w tej instrukcji to należy:

- Zapisać numer serii zestawu
- Jeżeli to konieczne, to jak najszybciej zamrozić materiał, w trakcie badania którego wystąpił problem
- Skontaktować się z Coris BioConcept lub jego lokalnym dystrybutorem.

XIII. BIBLIOGRAFIA

1. Ricci, C., J. & Vaira, D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*; invasive and non-invasive tests. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 21, 299-313 (2007).
2. Malfertheiner, P. et al. Current concepts in the management *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus report. *Gut* 56, 772-81 (2007)

Ostatnia aktualizacja instrukcji: czerwiec 2008

IFU 5719 REV: 00
 Insrtukcja polska 04.07.2008r.