

Test rapido per la determinazione qualitativa degli anticorpi anti *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) nel sangue intero, nel siero o nel plasma.

Solo per uso diagnostico professionale *in vitro*.

USO PREVISTO

Card *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) è un immunodosaggio cromatografico rapido per la rilevazione qualitativa degli anticorpi all'*H. pylori* nel sangue intero, nel siero o nel plasma come aiuto nella diagnosi di infezione da *H. pylori* negli adulti maggiorenni.

RIEPILOGO

L'*H. pylori* è un batterio spiraleforme di piccole dimensioni che vive sulla superficie dello stomaco e del duodeno. È uno degli agenti eziologici di numerose patologie gastroenteriche, quali l'ulcera duodenale e gastrica, la dispepsia non ulcerosa e la gastrite attiva e cronica.^{1,2} Per diagnosticare un'infezione da *H. pylori* in pazienti che mostrano i sintomi di patologie gastroenteriche vengono utilizzati metodi invasivi e non invasivi. Tra i costosi metodi diagnostici invasivi, che necessitano del prelievo di un campione, vi sono la biopsia gastrica o duodenale seguita dal test dell'ureasi (presuntivo), la coltura, e/o la colorazione istologica.³ Le tecniche non invasive includono l'urea breath test, per il quale sono necessarie costose apparecchiature di laboratorio e una moderata esposizione alle radiazioni, e metodi sierologici.^{1,2} Gli individui con infezione da *H. pylori* sviluppano anticorpi che sono in forte correlazione con l'infezione da *H. pylori* confermata istologicamente.^{4,5,6}

Card *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) è un test semplice che utilizza una combinazione di particelle rivestite dell'antigene *H. pylori* e di IgG anti-umana per la rilevazione qualitativa e selettiva degli anticorpi all'*H. pylori* nel sangue intero, nel siero o nel plasma in pochi minuti.

PRINCIPIO

La card per il test *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) è un test immunologico qualitativo che utilizza una membrana per la determinazione degli anticorpi anti-*H. pylori* nel sangue intero, nel siero o nel plasma. In questo test, gli anticorpi anti-IgG umane vengono immobilizzati sulla zona reattiva del test. Dopo l'aggiunta del campione nel pozzetto, avviene la reazione con le particelle sensibilizzate con antigene di *H. pylori* presenti sulla membrana. La miscela migra cromatograficamente su tutta la card e interagisce con gli anticorpi anti-IgG umane immobilizzati. Se il campione contiene anticorpi anti-*H. pylori*, nella zona reattiva del test comparirà una banda colorata, indice di un risultato positivo. Se invece il campione non contiene anticorpi anti-*H. pylori*, in questa zona non comparirà alcuna banda colorata, indice di un risultato negativo. Come controllo procedurale, comparirà sempre una banda rossa nella zona di controllo a indicare che il test è stato eseguito correttamente. Se la banda rossa non compare, il risultato del test non è valido.

REAGENTI

La card contiene particelle sensibilizzate con antigene di *H. pylori* e anticorpi anti-IgG umane adesi alla membrana.

PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico professionale *in vitro*. Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui vengono manipolati i campioni o i kit.
- Non utilizzare il test se il sacchetto è danneggiato.
- Manipolare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le adeguate precauzioni contro i rischi microbiologici in tutte le fasi d'analisi e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Durante l'analisi dei campioni indossare abbigliamento protettivo: camice da laboratorio, guanti monouso e protezione per gli occhi.
- Dopo l'uso, il test deve essere eliminato secondo le norme locali in vigore.
- Umidità e temperatura possono influire negativamente sui risultati.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare nel sacchetto sigillato a temperatura ambiente o in frigorifero (2-30°C). La card è stabile sino alla data di scadenza indicata sul sacchetto sigillato. Conservare la card nel sacchetto sigillato sino al momento dell'utilizzo. **NON CONGELARE.** Non utilizzare dopo la data di scadenza.

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- La card per il test *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) può essere utilizzata con sangue intero (mediante prelievo venoso o pungidito), siero o plasma.
- Come prelevare **campioni di Sangue Intero con prelievo Venoso**: raccogliere il campione di sangue con anticoagulante (sodio o eparina al litio, potassio o sodio EDTA, sodio oxalato, sodio citrato) seguendo le procedure standard di laboratorio.
- Come prelevare campioni di **sangue intero con pungidito**:
 - Lavare la mano del paziente con acqua calda e sapone o pulirla con tampone imbevuto di alcool. Lasciare asciugare.
 - Massaggiare la mano, senza toccare il punto dell'inserimento della lancetta, dal polso verso la punta del dito medio o anulare.
 - Pungere il dito con una lancetta sterile. Rimuovere le prime gocce di sangue.
 - Strofinare delicatamente la mano dal polso verso il palmo e il dito in modo che si formi una sufficiente quantità di sangue sul sito della puntura.
 - Come dispensare il campione di sangue intero prelevato col pungidito sulla card mediante **provetta per prelievo capillare**:
 - Tenere l'estremità della provetta per capillari nel sangue fino al raggiungimento della linea. Evitare bolle d'aria.
 - Posizionare il bulbo sull'estremità superiore della provetta, quindi premerlo in modo da dispensare il sangue intero sul pozzetto (S) della card.
- Separare subito il siero o il plasma dal sangue per evitare l'emolisi. Utilizzare solo campioni trasparenti, non emolizzati.
- Effettuare il test subito dopo aver prelevato i campioni. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi. I campioni di siero e di plasma possono essere conservati a una temperatura di 2-8°C per 3 giorni. Per periodi di conservazione più lunghi, congelare i campioni a una temperatura inferiore a -20°C. I campioni di sangue intero raccolti mediante prelievo venoso devono essere conservati a una temperatura di 2-8°C se il test viene effettuato entro 2 giorni dal prelievo. Non congelare i campioni di sangue intero. I campioni di sangue intero prelevati mediante pungidito devono essere analizzati immediatamente.
- Portare i campioni a temperatura ambiente prima dell'analisi. Lasciar scongelare completamente i campioni congelati e miscelarli accuratamente prima dell'analisi. Non congelare e scongelare i campioni più volte.
- In caso di spedizione dei campioni, imballarli secondo le vigenti norme locali per la spedizione di agenti eziologici.

COMPOSIZIONE DELLA CONFEZIONE

Materiale Fornito

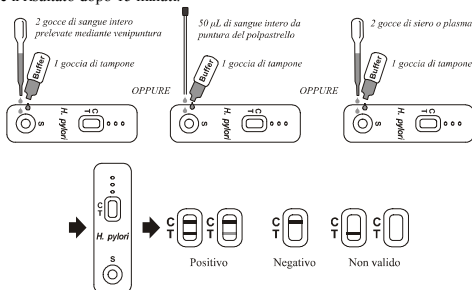
- Card
- Contagocce
- Tampone
- Metodica

Materiale Necessario Ma Non Fornito

- Contenitori per la raccolta campioni
- Lancette (solo per il prelievo di sangue intero con pungidito)
- Centrifuga
- Timer
- Provette per prelievo capillare eparinizzate e bulbo di dispensazione (solo per il prelievo di sangue intero con pungidito)

PROCEDURA

- Portare la card, i campioni, il tampone e/o i controlli a temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'analisi.**
1. Portare il sacchetto a temperatura ambiente prima di aprirlo. Togliere la card dal sacchetto sigillato e utilizzarla il prima possibile.
 2. Posizionare la card su una superficie piana pulita.
 - Per i campioni di **siero o plasma**: Tenere il contagocce in verticale e **trasferire 2 gocce di siero o plasma** (circa 50 µl) nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di test, quindi aggiungere 1 goccia di tampone e avviare il timer. Fare riferimento all'illustrazione.
 - Per il **prelievo venoso di campioni di sangue intero**: tenere il contagocce in posizione verticale e **trasferire 2 gocce di sangue intero** (circa 50 µl) sull'apposito pozzetto (S), quindi aggiungere 1 goccia di tampone e avviare il timer. Vedi illustrazione sotto riportata.
 - Per il **prelievo di campioni di sangue intero mediante pungidito**: riempire la provetta e **trasferire circa 50 µl di campione di sangue intero prelevato con pungidito** sull'apposito pozzetto (S) della card, **quindi aggiungere 1 goccia di tampone** e avviare il timer. Vedi illustrazione sotto riportata.
 3. Attendere l'eventuale comparsa della/banda/e rossa/e. Leggere il risultato **dopo 10 minuti**. Non interpretare il risultato dopo 15 minuti.



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

(Vedere illustrazione precedente)

POSITIVO:* **Compaiono due bande rosse distinte**, una nella zona di controllo (C), l'altra nella zona reattiva (T).
*NOTA: L'intensità del colore rosso nella zona reattiva (T) varia a seconda della concentrazione degli anticorpi anti-*H. pylori* presenti nel campione. Ogni sfumatura di rosso nella zona reattiva (T) deve quindi essere ritenuta indice di risultato positivo.

NEGATIVO: **Compare una banda rossa nella zona di controllo (C)**. Non si nota alcuna banda rossa o rosa nella zona reattiva (T).

NON VALIDO: **Non compare alcuna banda nella zona di controllo**. Le ragioni più probabili della mancata comparsa della banda di controllo sono un volume insufficiente di campione o una non corretta esecuzione della procedura. Rivedere la procedura e ripetere il test con una nuova card. Se il problema persiste, non utilizzare più il kit e contattare il distributore locale.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Ogni test è fornito di controllo interno della procedura. La banda rossa che compare nella zona di controllo (C) è un controllo positivo interno della procedura e conferma il prelievo di un volume di campione sufficiente e la correttezza della procedura. Con il kit non vengono forniti standard di controllo; si raccomanda tuttavia di analizzare un controllo positivo e uno negativo quale corretta pratica di laboratorio atta a confermare la procedura analitica e verificare la corretta esecuzione del test.

LIMITI

1. Card *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) deve essere utilizzato solo per diagnosticare le infezioni in pazienti che presentano sintomi clinici di patologia gastroenterica e non deve essere utilizzato in pazienti senza sintomi.
2. La card per il test *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) è esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*. Il test deve essere impiegato per la determinazione degli anticorpi anti-*H. pylori* solo in campioni di sangue intero, siero o plasma. Questo test qualitativo non è in grado di determinare né il valore quantitativo né la percentuale di aumento della concentrazione di anticorpi anti-*H. pylori*.
3. La card per il test *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) indica unicamente la presenza di anticorpi anti-*H. pylori* nel campione e non deve essere usata come unico criterio di diagnosi dell'infezione da *H. pylori*.
4. Campioni emolizzati approssimativamente comportano risultati non validi. Seguire attentamente le istruzioni per ottenere risultati affidabili.
5. Un risultato positivo non consente di distinguere tra infezione attiva e colonizzazione di *H. pylori*.
6. Un risultato positivo indica semplicemente che è presente l'anticorpo IgG all'*H. pylori* e non indica necessariamente la presenza di patologia gastroenterica.
7. Un risultato negativo indica che non è presente l'anticorpo IgG all'*H. pylori* o che tale presenza è inferiore al limite di rilevazione del test.
8. Come per tutti i test diagnostici, i risultati devono essere interpretati alla luce del quadro clinico complessivo del paziente.
9. Riferimenti bibliografici hanno suggerito una reattività crociata dell'anticorpo IgG con un organismo molto simile, *Borrelia burgdorferi*. Le prestazioni di questa analisi non sono state valutate con tale organismo. Di conseguenza, la specificità di questo dispositivo di test non è nota in presenza di tale organismo.
10. Se il test risulta negativo e i sintomi clinici persistono, si raccomanda di eseguire altri test clinici. Un risultato negativo non esclude comunque la possibilità di infezione da *H. pylori*.
11. Questa analisi non è destinata a pazienti al di sotto dei 18 anni di età.

VALORI ATTESI

L'infezione da *H. pylori* è presente in tutto il mondo ed è dimostrato che tale infezione è correlata a età, appartenenza etnica, dimensioni del nucleo familiare e classe socioeconomica.⁷ Negli Stati Uniti, l'incidenza di tale infezione può aumentare dell'1-2% ogni anno.⁸ L'80-100% degli individui con sintomi di altre condizioni gastroenteriche, quali ulcere duodenali, risultano essere positivi all'infezione da *H. pylori*.⁹

PERFORMANCE

Sensibilità, Specificità e Accuratezza Cliniche

La card per il test *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) è stata valutata con campioni ottenuti da una popolazione di pazienti sintomatici e asintomatici presentatisi per un esame endoscopico. Come metodo di riferimento sono stati utilizzati la coltura e/o l'istologia di campioni biopsici.

Dei 321 campioni clinici di sangue fresco raccolti, in 136 casi si è trattato di una biopsia positiva a fronte di 185 campioni con biopsia negativa. Per biopsia "positiva" si intende che la coltura o l'istologia o entrambe sono positive, mentre per biopsia "negativa" si intende che sia la coltura che l'istologia sono negative. Di seguito vengono riportati i risultati di ogni matrice del campione.

Card per test H. pylori Rapid Test vs. Biopsia/Test istologico

SIERO			
Metodo	Biopsia/Test istologico		
<i>H. pylori</i> Rapid Test Card	Risultati	Positivo	Negativo
	Positivo	121	21
	Negativo	15	164

Sensibilità = 121/136 = 89% (82%-94%)* Specificità = 164/185 = 89% (83%-93%)*
Accuratezza = 285/321 = 89% (85%-92%)*

PLASMA			
Metodo	Biopsia/Test istologico		
<i>H. pylori</i> Rapid Test Card	Risultati	Positive	Negative
	Positive	120	21
	Negative	16	164

Sensibilità = 120/136 = 88% (81%-93%)* Specificità = 164/185 = 89% (83%-93%)*
Accuratezza = 284/321 = 88% (84%-92%)*

PUNTURATA DEL PASTRELLO

Metodo	Biopsia/Test istologico		
<i>H. pylori</i> Rapid Test Card	Risultati	Positivo	Negativo
	Positivo	54	12
	Negativo	8	76

Sensibilità = 54/62 = 87% (76%-94%)* Specificità = 76/88 = 86% (77%-93%)*
Accuratezza = 130/150 = 87% (80%-92%)*

SANGUE INTERO VENOSO

Metodo	Biopsia/Test istologico		
<i>H. pylori</i> Rapid Test Card	Risultati	Positivo	Negativo
	Positivo	119	22
	Negativo	17	163

Sensibilità = 119/136 = 88% (81%-93%)* Specificità = 163/185 = 88% (83%-92%)*
Accuratezza = 282/321 = 88% (84%-91%)* *Denota un intervallo di confidenza pari a 95%

Studi POI

È stato richiesto a tre studi medici di valutare Card *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma). Il test è stato effettuato da personale con livelli di istruzione diversi. Ogni studio medico ha testato un pannello di campioni con codifica composta da negativi (20), bassi positivi (20) e medi positivi (20) per tre giorni. I risultati ottenuti rispecchiano in oltre il 99% dei casi i risultati previsti.

Reattività Crociata

I campioni di siero contenenti quantità note di anticorpi IgG all'*H. pylori* sono stati testati per *C. jejuni*, *C. fetus*, *C. coli*, *P. aeruginosa* ed *E. coli*. Non è stata osservata alcuna reattività crociata, ad indicare che Card *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) presenta un elevato grado di specificità agli anticorpi IgG del siero umano all'*H. pylori*.

Studi sull'Interferenza

Non è stata osservata alcuna interferenza con i risultati di Card *H. pylori* Rapid Test (Sangue Intero/Siero/Plasma) nei campioni contenenti livelli elevati di emoglobina (fino a 1000 mg/dl), bilirubina (fino a 1000 mg/dl) e albumina nel siero umano (fino a 2000 mg/ml). Inoltre, i risultati del test non sono stati influenzati quando l'ematocrito è stato modificato nell'intervallo tra 20% e 67%. Un campione con concentrazione di trigliceridi di 600 mg/dl non ha influito sulle prestazioni del test.

BIBLIOGRAFIA

1. Marshall, BJ, McGeechie, DB, Rogers, PAR and Hargrett, RG. *Yloric 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. Loffeld, R.J.F., et al. *Usefulness of several commercial enzyme-linked immunoassays for detection of Helicobacter pylori infection in clinical medicine*. Euro. J. Gastroen. Hepa. (1993) 5:333-37.
5. Cutler, AF, et al. *Accuracy of invasive and non-invasive tests to diagnose Helicobacter pylori infection*. Gastroenterology. (1995), 109: 136-141.
6. Ansgor, R, Von Recklinghausen, G, Pomarius, R and Schmid, EN. *Evaluation of techniques for isolation, subcultivation and preservation of Helicobacter pylori*. J. Clin. Micro. (1991), 29:51-53.
7. Pronovost, AP, Rose, SL, Pawlak, J, Robin, H and Schneider, R. *Evaluation of a new immunodiagnostic assay for Helicobacter pylori antibody detection: Correlation with histopathological and microbiological results*. J. Clin. Micro. (1994), 32: 46-50.
8. Megraud, F, Bassens-Rabbe, MP, Denis, F, Belboui, A and Hoa, DQ. *Seroepidemiology of Campylobacter pylori infection in various populations*. J. Clin. Micro. (1989), 27: 1870-3.
9. Lotfeld, R.J.L.F., E. Slobbering, J.P. Van Spreuwel, J.A. Flendrig, & J.W. Arends. *The prevalence of anti-Helicobacter (Campylobacter) pylori antibodies in patients and healthy blood donors*. J. Med. Microbiol. (1991), 32:105-109.
10. Graham, D.Y. H.M. Malaly, D.G. Evans, D.J. Evans, Jr., P.D. Klein, & E. Adam. *Epidemiology of Helicobacter pylori in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status*. Gastroenterology. (1991), 100:1495-1501.
11. Perez-Perez, G, Dworkin, B, Chodas, J, Blaser, M. *Campylobacter pylori antibodies in humans*. Annals of Internal Med. (1988), 109:11-17.

Indice dei Simboli

	Fare riferimento alle Istruzioni per l'uso		N° determinazioni per kit		Rappresentante autorizzato
	Solo per uso diagnostico <i>in vitro</i>		Usare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero del lotto		Codice #

Innovacon, Inc.
9975 Summers Ridge Road
San Diego, CA 92121, USA

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany