

UTILIZARE

Testul rapid H. Pylori este un test cromatografic rapid al imunoanalizei pentru detectarea calitativă a anticorpilor de H. pylori din serul sanguin sau din plasmă, precum și un ajutor în diagnosticarea infecției cu H. Pylori.

REZUMAT

H. pylori este o bacterie mică, de formă spiralată ce trăiește pe suprafața stomacului și a duodenului. Este implicată în etiologia unei varietăți de boli gastro-intestinale, incluzând ulcerul duodenal și gastric, dispensia non-ulceroasă și gastrita activă sau cronică.

Bacteria este comună, ea infectând cel puțin jumătate din populația lumii. Ea se dobândește de obicei în copilărie. Odată fixată în stomac, ea continuă să se răspândească pe toată durata vieții. Daunele provocate structurii gastrice și a funcțiilor stomacului sunt constante și directe. Aproximativ 1 din 6 persoane infectate dezvoltă ulcer peptic și o mică parte a infecției cu H. Pylori duce la cancer gastric. Atât metoda agresivă cât și cea non-agresivă sunt folosite pentru diagnosticarea infecției cu H. pylori la pacienții cu simptomele bolilor gastro-intestinale. Metoda costisitoare de diagnosticare agresivă a moustrei dependente include biopsia gastrică și duodenală, urmată de testarea ureei (probabil), cultura și/sau colectarea histologică. Tehnicile non-agresive includ examinarea ureei prin respirație, ceea ce necesită echipament de laborator scump și o expunere moderată la radiații și metode serologice.

Cel mai utilizat test non-agresiv este testul serologic. Acesta detectează infecția anterioară sau curentă cu H. Pylori în ser sau plasmă. Testul serologic este simplu, cu un grad ridicat de sensibilitate. Cea mai mare limitare o reprezintă incapacitatea de a distinge infecția curentă de cea anterioară. Anticorpul poate fi prezent în serul pacientului mult timp după eradicarea bacteriei. Testul respirator al ureezei este un test noninvasiv ce indică activitatea bacteriei. El detectează infecția activă și este foarte sensibil și specific. Pentru a face acest test este nevoie de o bacteria cu densitate mare și activă; acesta nu trebuie efectuat decât după 4 săptămâni de la tratament pentru a permite bacteriilor reziduale să crească la un număr suficient de mare pentru a putea fi detectate.

Testul H.pylori este un test rapid imunocromatografic ce folosește o tehnologie dublă pentru detectarea anticorpilor de H.pylori din serul sanguin sau din plasmă. Acesta este un test simplu, ușor de făcut, iar interpretarea rezultatelor se poate face în aproximativ 10 minute de la testare.

PRINCIPIU

Testul rapid H. Pylori este un test imunologic cromatografic, pentru depistarea calitativă a anticorpilor serici IgG împotriva H. Pylori din ser, plasmă sau sânge. Dispozitivul de testare conține o membrană cu bandă ce este pre-acoperită cu antigen H. Pylori în regiunea bandei de test și anticorpi monoclonali specifici H. Pylori în regiunea bandei de control. Antigenii coloidali conjugați sunt situați la capătul membranei. Când anticorpii IgG specifici H. Pylori sunt prezenți în mostrele prelevate de la pacient, (mixtura coloidală conjugată, mostra de la pacient), acesta formează o linie vizibilă în regiunea testului T. Formarea liniei vizibile în regiunea de test T indică un rezultat pozitiv la depistarea anticorpilor IgG H. Pylori. Când anticorpii specifici IgG H. Pylori sunt absenți din mostre, nu se va forma nici o bandă colorată în regiunea de test (T). De altfel, absența bandei colorate din regiunea de test (T) indică un rezultat negativ în depistarea anticorpilor specifici IgG H. Pylori. În regiunea de control (C), va apărea întotdeauna o bandă colorată. Această bandă de control servește ca un indicator de procedură, astfel: 1) Verifică volumul suficient adăugat, 2) Verifică obținerea fluxului corespunzător și 3) Reactivul de control.

MODALITATEA DE TESTARE

- Se aduce testul la temperatura camerei înainte de testare.
- Deschideți ambalajul și scoateți testul. Odată deschis ambalajul, testul trebuie folosit imediat.
- Scriveți pe test datele de identificare a pacientului.
- Aplicați 2-3 picături (80-120 μl) de sânge unde apare simbolul "S". Adăugați imediat 2-3 picături de lichid de dezvoltare.
- După 10 minute citiți rezultatul. O mostră bună poate permite citirea rezultatului și mai devreme.

PĂSTRARE

Kit-ul trebuie menținut la temperatura camerei (4- 30°C), sigilat pentru durata de valabilitate.

PRECAUȚII

- Kitul este doar pentru diagnosticarea in vitro
- A se folosi doar pentru uz profesional
- Citiți instrucțiunile de folosire cu atenție înainte de a face testul
- A nu se folosi după data expirării
- Manevrați probele ca posibil infecțioase
- Urmați procedurile standard ale laboratorului și instrucțiunile privind manevrarea și eliminarea materialului posibil infecțios. După ce testarea este finalizată, aruncați toate probele după ce le-ați sterilizat în autoclav la 121°C pentru cel puțin 20 minute. Alternativ, ele pot fi tratate cu 0,5% hipoclorit de

sodiu cu 1-2 ore înainte de eliminare.

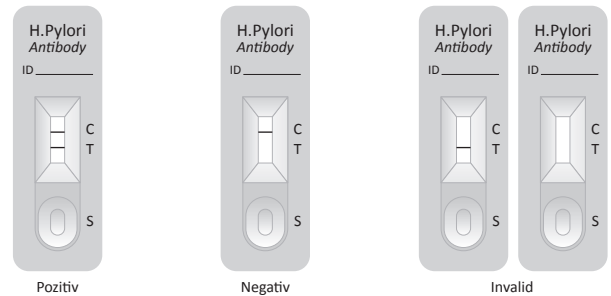
- Nu adăugați soluția cu gura și nu fumați sau mâncați în timp ce este efectuat testul.
- Purtați mănuși pe întreaga durată a testării.

COLECTAREA ȘI PREPARAREA PROBEI

- Nu este necesară o pregătire prealabilă a pacientului înainte de colectarea mostrei.
- Se recomandă a nu se folosi mostra de sânge mai veche de 3 zile (aceasta trebuie păstrată la o temperatură cuprinsă între 2-8°C). Dacă mostra va fi folosită în 3 luni de la prelevare, congelați-o la -20°C, iar dacă aceasta va fi folosită după o perioadă mai mare de 3 luni congelați-o la -70°C
- Mostrele nu trebuie congelate și dezghețate în mod repetat.
- Nu folosiți mostra hemolizată, coagulată, contaminată, lipemică sau vâscoasă.
- Mostrele ce conțin precipitate sau particule trebuie centrifugate, iar pentru testare se va folosi doar mostra curată.
- Nu încălziți mostra inactivă.
- Transportul de mostre ar trebui să respecte reglementările locale pentru transportul de agenți etiologici

INTERPRETAREA REZULTATELOR

Banda de testare



REZULTATE

- Negativ: O linie este vizibilă în zona Control. Nu apare însă nici o linie în zona Test.
- Pozitiv: Două linii (benzi) roz-roșiatice sunt vizibile în zona Control și în zona Test. Intensitatea liniei din zona Test poate fi mai slabă decât cea din zona Control, acesta semnifică tot un rezultat pozitiv.
- Rezultat invalid: Dacă nu se observă nici o bandă colorată în zona Control sau este vizibilă doar o bandă colorată în zona Test, atunci testul este invalid. Verificați procedura și repetați testul.

CONTROLUL CALITĂȚII

- Banda de control este un reactiv intern și un control procedural. Ea va apărea dacă testul a fost făcut corect și dacă reagenții sunt reactivi.
- Bunele practici de laborator recomandă utilizarea zilnică a materialelor de control pentru a valida credibilitatea testului. Materialele de control care nu sunt incluse în kit pot fi achiziționate din comerț.

LIMITE ALE PROCEDURII

- Acesta este un test de determinare calitativă a analizei. El nu a fost creat pentru determinarea cantitativă a concentrației de anticorpi de H.pylori.
- Acest test este doar pentru diagnosticarea în vitro.
- Ca în cazul oricărui test rapid, un diagnostic definitiv nu trebuie să fie bazat pe rezultatele unui singur test, ci ar trebui să fie pus după ce toate rezultatele clinice au fost evaluate.

PERFORMANȚE

- Precizie – Performanța testului a fost comparată cu cea a testului ELISA: a fost testat pe un grup de 30 persoane pozitive și 70 negative. Rezultatele sunt afișate în tabelul de mai jos. Precizia este de 100% pe eșantioane pozitive și 97% pe eșantioane negative.

Test ELISA Rapid H. Pylori			
Test Rapid H. Pylori		Positiv	Negativ
	Pozitiv	30	2
	Negativ	0	65
	Precizie	100%	97%

- Imixtiune – Nu a rezultat nici o interferență cu bilirubina (10 mg/dL), hemoglobina (20 mg/dL), sau trigliceride (600 mg/dL) la testele specifice sau de sensibilitate.



INTENDED USE

Rapid H. Pylori Antibody Test is a rapid immune-chromatographic assay for the detection of antibodies to H. pylori in human serum or plasma. The assay is to provide an aid in diagnosis of H. pylori infection.

INTRODUCTION

Helicobacter pylori is a corkscrew-shaped, gram-negative rod that lives in the mucous layer of the stomach. H. pylori infection is now accepted as the most common cause of gastritis, and is etiologically involved in gastric ulcer, duodenal ulcer, gastric adenocarcinoma and primary gastric B- cell lymphoma. The organism is very common, infected at least half of the world's population. H. pylori infection is typically acquired in childhood. Once acquired, infection persists chronically, probably continuing in the stomach throughout life. The damage to gastric structure and function of stomach is constant and direct. Approximately one in six of H. pylori infection develops peptic ulcer disease and a small portion of H. pylori infection leads to gastric cancer. The diagnostic tests for H. pylori can be classified into two categories: Invasive and Noninvasive tests. Direct detection by invasive test procedures requires an endoscopy and biopsy specimens from antrum and stomach body. The presence of H. pylori is then confirmed by direct culture, histological examination or rapid urease test. The endoscopy and biopsy specimens offer direct detection of active H. pylori infections. Although the procedure is highly specific and high positive predictive value, the cost and discomfort to the patients are very high. The most widely available noninvasive test is probably the serological based test. The serology test detects H. pylori specific IgG antibody in patient serum with current or prior infection. Serology test is a simple, convenient test with relative high sensitivity. The main limitation of serology test is the inability to distinguish current and past infections. Antibody may be present in the patient's serum long after eradication of the organism. The urease breath test (UBT) with 14C or 13C labeled urea, is a noninvasive test based on the urease activity of the organism. UBT detects active H. pylori infection and is highly sensitive and specific. The UBT requires a high density and active bacteria and should not be performed until 4 weeks after therapy to allow residual bacterial to increase to a sufficient number for detection.

Rapid H. Pylori Antibody Test is an immunochromatographic assay that uses double antigen sandwich technology to detect the presence of H. pylori antibody in human blood specimens. The test is simple and easy to perform and the test results can be visually interpreted within 10 minutes.

TEST PRINCIPLE

Rapid H. Pylori Antibody Test employs chromatographic lateral flow test device in a cassette format. Colloidal gold conjugated H. pylori antigens (Au-Ag) are dry-immobilized at the end of nitrocellulose membrane strip. H. Pylori antigens are bond at the Test Zone (T) When the sample is added, it migrates by capillary diffusion rehydrating the gold conjugate. If anti-H. pylori antibodies present in sample, Antibodies will bind with the gold conjugated antigens forming particles. These particles will continue to migrate along the strip until the Test Zone (T) where they are captured by H. pylori antigens generating a visible red line. If there are no anti-H. Pylori antibodies in sample, no red line is formed in the Test Zone (T). A built-in control line will always appear in the Control Zone (C) when the test has performed properly, regardless of the presence or absence of anti-H. pylori antibodies in the specimen.

PROCEDURE

1. Bring the kit components to room temperature before testing.
2. Open the pouch and remove the Card. Once opened, the test card must be used immediately.
3. Label the test card with patients identity.
4. Apply 2-3 drops (80-120 µL) of serum or plasma to the sample well marked as "S".
5. At the end of 10 minutes read the results. A strong positive sample may show result earlier.

STORAGE AND STABILITY

The sealed pouches in the test kit may be stored between 4-30°C for the duration of the shelf life as indicated on the pouch.

PRECAUTIONS

1. This kit is for IN VITRO diagnostic use only.
2. This kit is for PROFESSIONAL use only.
3. Read the instructions carefully before performing the test. 4. This product does not contain any human source materials.
5. Do not use kit contents after the expiration date.
6. Handle all specimens as potentially infectious.
7. Follow standard Lab procedure and biosafety guidelines for handling and disposal of potentially infective material. When the assay procedure is complete, dispose specimens after autoclaving them at 121o C for at least 20 min. Alternatively, they can be treated with 0.5% Sodium Hypochlorite for 1-2 hours before disposal.

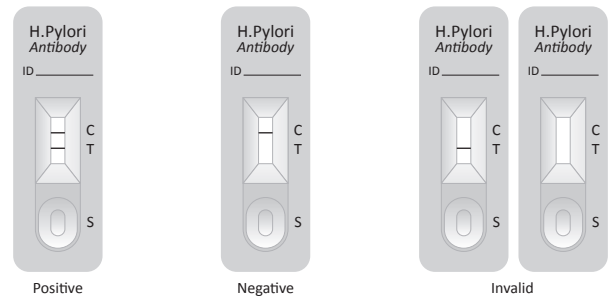
8. Do not pipette reagent by mouth and no smoking or eating while performing assays.
9. Wear gloves during the whole procedure.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

1. No prior special preparation of the patient is required before sample collection by approved techniques.
2. Fresh serum / plasma is preferable. Serum / plasma may be stored at 2-8°C up to 3 days in case of delay in testing. For long-term storage, freeze the specimen at -20°C for 3 months or -70°C for longer periods.
3. Repeated freezing and thawing of the specimen should be avoided.
4. Do not use haemolysed, clotted, contaminated, lipamic and viscous/turbid specimen.
5. Specimen containing precipitates or particulate matter must be centrifuged and the clear supernatant only used for testing.
6. Do not heat inactivate the sample.
7. Shipment of samples should comply with local regulations for transport of etiologic agents.

INTERPRETATION OF RESULTS

Test strip



TEST CARD

1. Negative
Only control line appears.
2. Positive
Both control line and the test line appear. It indicates the antibodies to H. pylori have been detected.
3. Invalid Result
If after 10 minutes no line is visible within the Control Zone, the result is invalid. The test should be repeated with a new test card.

QUALITY CONTROL

1. The control band is an internal reagent and procedural control. It will appear if the test has been performed correctly and the reagents are reactive.
2. Good Laboratory Practice recommends the daily use of control materials to validate the reliability of the device. Control materials which is not provided with this test kit may be commercially available.

LIMITATIONS

1. The test is for qualitative detection of anti-H. pylori antibodies in human serum, plasma or blood sample and dose not indicate the quantity of the antibodies.
2. The test is for in vitro diagnostic use only.
3. As in case of all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the result of a single test but should rather be made after all the clinical findings have been evaluated.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Accuracy - A panel of 30 positive and 67 negative patient sera was tested with a reference ELISA test. The results are summarized in the following table. The agreement is 100% on positive samples and 97% on negative samples.

ELISA Rapid H. Pylori Antibody Test		
Rapid H. Pylori Ab Test	Positive	Negative
Positive	30	2
Negative	0	65
Agreement	100%	97%

2. Interference - No interference was found with bilirubin (10 mg/dL), hemoglobin (20 mg/dL) or triglycerides (600 mg/dL) on the sensitivity and specificity of the test.