

# PYLORI K-SeT



**Kód: C-1519, 20 testů v jednom balení, s odběrovým setem**

**Kód: C-1219, 20 testů v jednom balení, bez odběrového setu**

**Imunochromatografický diagnostický test in vitro pro rychlou detekci antigenu *Helicobacter pylori* ve vzorcích lidské stolice**

**Pouze pro in vitro použití**

**Pouze pro profesionální použití**

## I. ÚVOD

*Helicobacter pylori* je gramnegativní bakterie helikálního tvaru, jenž žije v mukózní vrstvě žaludku a duodena, zapříčínující vznik peptického vředu a chronické gastritidy. Je často spojován s gastrickými malignitami a je klasifikován jako karcinogen třídy I.

V rozvojových zemích je šířen především fekálně-orální cestou, v zemích průmyslových gastro-orální cestou. Jak dochází ke kolonizaci a rozvinutí infekce *H. pylori* je stále v zájmu výzkumu. Infekci *H. pylori* je možno diagnostikovat neinvazivními technikami (sérologická zkouška, <sup>13</sup>C-urea dechový test (UBT) a průkaz antigenů ve stolici) nebo invazivními technikami (endoskopie s biopsií pro histologii, kulturační a rychlý ureázový test). Ačkoliv je detekce pomocí endoskopie vysoce specifická, je velmi drahá a vyšetření pro pacienta krajně nepříjemné.

Evropská skupina pro studium *H. pylori* definovala směrnice pro přístup k infekci *H. pylori* (zpráva z Maastrichtského III konsenzu)

Vyšetřovací a léčebná strategie je založena na výběru všech pacientů s funkční dyspepsií v populaci (>20 %) a je vhodnou volbou pro pacienty s dyspepsií bez etiologie. Doporučené neinvazivní metody jsou UBT a důkaz antigenů ve stolici. Užívání inhibitorů protonové pumpy (PPI) dává při sérologickém vyšetření falešně negativní výsledky, proto je nutné PPI vysadit dva týdny před vyšetřením. Je také doporučeno sledovat pacienty po eradikaci *H. pylori* pomocí vyšetření UBT nebo průkazem antigenů ve stolici.

*H. pylori* je nalezen u více jak 90 % lidí s duodenálním vředem a u 80 % pacientů s žaludečním vředem. Infekce *H. pylori* je jedna z nejchroničtějších infekcí napříč světem. 20 až 90 % dospělých se nakazí na venkově. Infekce se více vyskytuje v rozvojových zemích než v průmyslových. Vysoká incidence této infekce má za následek rostoucí počet pacientů s karcinomem žaludku.

Pylori K-SeT je vysoce senzitivní a specifický rychlý membránový test, který užívá monoklonální protilátky k detekci antigenů *H. pylori* ve stolici.

## II. PRINCIP TESTU

Tento test je připraven k okamžitému použití. Na nitrocelulóзовou membránu jsou adsorbovány protilátky specifické pro *H. pylori*. Specifita testu je zajištěna monoklonálními protilátkami přímo proti antigenům *H. pylori* které jsou konjugovány s latexovými mikrosférami. Tento konjugát je solubilizován na polyesterové membráně.

Vzorek stolice musí být naředěn pufrovým rozpouštědlem, které je dodáváno s testem.

Po přidání 3 kapek vodné fáze suspenze stolice do jamky pro vzorek na kazetě, rozpuštěný konjugát i vzorek migrují pasivní difúzí. Jsou-li ve vyšetřovaném materiálu přítomny příslušné antigeny *H. pylori*, dochází při kontaktu s protilátkami proti specifickému antigenu *H. pylori* adsorbovanými na nitrocelulóze k vytvoření první červené linky.

Roztok komplexu pokračuje v migraci až k druhému reagentu (kontrolní reagent), který naváže migrující konjugát a vytvoří zelenou linku, která potvrzuje validitu testu. Výsledek je viditelný do 10 minut.

## III. REAGENCIE A MATERIÁL

Pylori K-SeT obsahuje:

- a) 20 kazet uzavřených v plastových obalech

Každá kazeta obsahuje proužek, který je senzibilizován monoklonálními protilátkami přímo proti antigenům *H. pylori*. Každá kazeta je individuálně uzavřena v obalu s desikantem.

- b) Solný roztok pufrovaný na pH 7,5, obsahující EDTA a NaN<sub>3</sub> (<0,1%), detergent, doplňkové proteiny  
C-1219,-1 lahvička (15ml)  
C-1519, 20 lahviček (1ml) se spirálou pro odběr stolice (FSS)

- c) Návod k použití

Materiál, jenž lze samostatně objednat:

- Pylori pozitivní kontrola (C-1099)
- Negativní kontrola (CTR-1000)

## IV. ZVLÁŠTNÍ OPATŘENÍ

§ Test musí být proveden podle „Správné laboratorní praxe“ (SLP).

§ Pylori K-SeT test je pouze pro diagnostiku in vitro.

§ Obal musí být otevírán s opatrností

§ Při práci se nesmí dotýkat prsty nitrocelulóзовého pásku!

§ Při manipulaci se vzorky je vhodné používat rukavice.

§ Reagencie z balení různých šarží se nesmí nikdy zaměňovat!

§ Tři slabé zelené linky na stripech označují místa absorbce protilátek.

- § Pokud je extrakční pufr kontaminován bakteriemi nebo plísněmi, je nutno jej zlikvidovat.
- § Kvalita diagnostika nemůže být zaručena po uplynutí expirační doby nebo při nedodržení skladovacích podmínek.

## V. LIKVIDACE POUŽITÉHO MATERIÁLU

- § Likvidace veškerého materiálu použitého při práci musí být provedena podle SLP.
- § Každý uživatel je zodpovědný za provedení veškeré likvidace, která musí splňovat aktuální legislativu dané problematiky

## VI. SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Neotevřené balení Pylori K-SeT se skladuje při 4 – 30 °C.

Doba použitelnosti je vyznačena na štítku obalu.

Neotevřené diagnostikum zůstane stabilní při teplotě 4 – 30 °C po celou dobu použitelnosti.

Dlouhodobá teplotní stabilita je zaručena firmou Coris BioConcept.

Pylori K-SeT diagnostikum (kazety a pufr) nesmí zmraznout!

## VII. POSTUP PRÁCE

### Příprava:

Pokud se vzorky uchovávají při teplotě 4°C je třeba je před použitím vytemperovat na pokojovou teplotu.

Vyšetřované vzorky je třeba řádně popsat.

Vzorky stolice musí být vyšetřeny co nejdříve po doručení.

Jinak je nezbytné je uchovávat při teplotě 2 – 8 °C po 1 týden, po delší dobu při -20 °C.

Vzorky se nesmějí upravovat roztoky obsahující formaldehyd nebo jeho deriváty.

### Provedení:

Jestliže je Pylori K-SeT uchováván při 4 °C, je nutné veškeré reagentie před použitím vytemperovat na pokojovou teplotu.

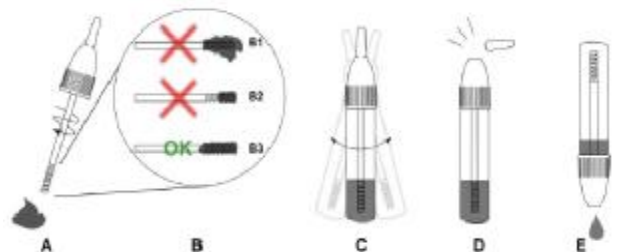
Po otevření obalu, vyjmout kazetu a položit na rovnou, suchou plochu. Test musí být proveden v co nejkratším čase po otevření.

Každou kazetu označit jménem pacienta či číslem vzorku. Na každý vzorek použít jednu kazetu.

### Pro C-1519:

- 1) Po otevření FSS zkumavky odebrat spirálou přibližně 80 mg stolice. Zředění může být maximálně 4%. U tekutých vzorků pipetou přenést 80 µl do FSS.
- 2) Vložit spirálu do FSS a utáhnout víčko. Třepáním řádně zhomogenizovat.
- 3) Ulomit konec víčka a ve vertikální poloze nanést 3 kapky rozpuštěného vzorku na testovací jamku na testovací kazetě.
- 4) Nechat 10 minut reagovat. Výsledek se objeví v okénku pro odečet.

**Výsledek musí být odečítán z ještě vlhkého stripu.**



### Pro C-1219:

- 1) Přidat 14 kapek extrakčního pufu do zkumavky
- 2) Ponořit kličku se vzorkem stolice do zkumavky. Zředění může být maximálně 4%. Pro tekuté vzorky použít 2 kličky 10µl, pro pevné vzorky 1 kličku.
- 3) Zlikvidovat odběrovou kličku.
- 4) Třepáním zhomogenizovat. Celý vzorek stolice musí být suspendován v roztoku
- 5) Pomalu nanést 100µl rozpuštěného vzorku na testovací jamku na testovací kazetě.
- 6) Nechat 10 minut reagovat. Výsledek se objeví v okénku pro odečet.

**Výsledek musí být odečítán z ještě vlhkého stripu.**

## VIII. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

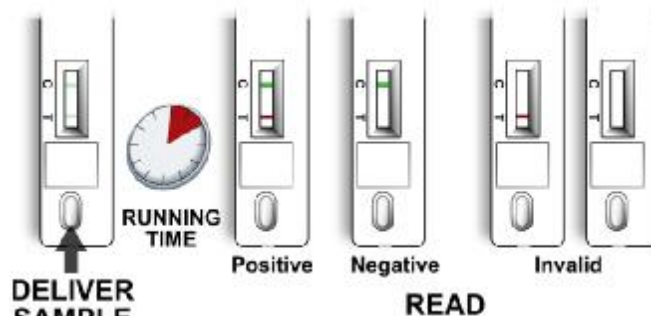
**Výsledky jsou interpretovány následovně:**

**1 linka (horní C) = negativní**

**2 linky (dolní a horní, T a C) = pozitivní – H. pylori**

**0 linka = nelze hodnotit\***

\*Absence kontrolní linky (horní linka) - výsledek je neplatný. Test je nutno opakovat.



Poznámka: V průběhu vysychání se mohou objevit velmi lehké šedé linky v oblasti testovací linie. Toto nelze považovat za pozitivní výsledek.

Intenzita testovacích linek je závislá na kvantitě antigenních struktur ve vzorku. I slabá intenzita na testovacích linkách odpovídá pozitivnímu výsledku vyšetření. Nicméně test je pouze kvalitativní a nemůže být použit pro kvantitativní stanovení antigenů ve vzorku.

Různá intenzita kontrolní linie je akceptovatelná.

## IX. KONTROLA KVALITY

Kontrola kvality testů se doporučuje provádět v souladu s SLP. K tomuto účelu se používá Pylori pozitivní kontrola (C-1099) a negativní kontrola (CTR-1000) v množství 100µl naneseném na testovací jamku.

## X. ÚČINNOST

Je zde 100% shoda mezi Pylori K-SeT a standardem Pylori-Strip.

### **A. Analytická senzitivita**

Detekční limit tohoto testu je 14,8 ng/ml s použitím antigenu připraveným z klinického kmenu H. pylori.

### **B. Senzitivita a specifita**

První studie byla provedena mezi 134 dětmi školního věku (12-18 let) z Indonésie charakterizovaných jako s nízkou prevalencí H. pylori.

Výsledky jsou následující:

	Pylori K-SeT		Celkem
EIA	Pozitivní	Negativní	
Pozitivní	24	2	26
Negativní	1	107	108
Celkem	25	109	134

Senzitivita: 96,0 % (77,7-99,8%)  
 Specifická: 98,2 % (92,9-99,7%)  
 PPV: 92,3% (73,4-98,7%)  
 NPV: 99,1% (94,2-100%)  
 Shoda: 97,8% (131/134)  
 (N = 93)

	Pylori - Strip		Celkem
ICT	Pozitivní	Negativní	
Pozitivní	24	2	26
Negativní	0	34	34
Celkem	24	36	60

Senzitivita: 92,3 % (24/26)  
 Specifická: 100 % (34/34)  
 Shoda: 96,7% (58/60)  
 (N = 60)

### C. Přesnost

#### Přesnost v rámci šarže:

Jeden rotavirus pozitivní vzorek byl testován 15 x jednou šarží Pylori-Strip.  
 Paralelně s pozitivním vzorkem bylo testováno i pufrované rozpouštědlo.  
 Výsledky byly ve 100% stejné.  
 Všech 15 testů H. pylori pozitivního vzorku bylo pozitivních.  
 Všech 15 testů pufrovaného rozpouštědla bylo negativních.

#### Přesnost mezi šaržemi:

Jeden H. pylori-pozitivní vzorek byl testován 3x šesti různými šaržemi Pylori-Strip.  
 Paralelně s pozitivním vzorkem bylo testováno i pufrované rozpouštědlo.  
 Výsledky byly ve 100% stejné.  
 U všech šesti šarží vyšly H. pylori pozitivní vzorky pozitivně a pufrované rozpouštědlo negativně.

### D. Zkřížená reaktivita

Byla provedena kontrola zkřížené reaktivity pozitivních vzorků k následujícím patogenům:

*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*  
*Legionella pneumophila*  
*Cryptosporidium parvum*  
*E. coli F5*  
*E. coli CS31*  
*E. coli (ATC C25922, ATC C35150)*  
 Všechny výsledky byly negativní.

### XI. LIMITY KITU

Výsledky testu musí být srovnávány se všemi dostupnými klinickými a laboratorními informacemi.  
 Pozitivní výsledek testu nezaručuje, že nejsou přítomny jiné patogeny.  
 Pylori-stripový test je screeningový test, který se používá při akutní fázi onemocnění. Vzorky stolic, které jsou odebrané po této fázi, mohou obsahovat titry antigenů pod prahem citlivosti diagnostika.








### XII. TECHNICKÉ PROBLÉMY / STÍŽNOSTI

Jestliže se setkáte s technickým problémem, nebo účinnost diagnostika nebude korespondovat s údaji, které jsou uvedeny v tomto článku:  
 1) Při dotazu vždy uveďte číslo šarže  
 2) Je-li to nezbytné, uchovejte problematický vzorek zmrzlý jak dlouho bude třeba.  
 3) Kontaktujte vašeho distributora nebo Coris BioConcept.

### XIII. BIBLIOGRAFIE

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

### Aktualizace: II/2014

REF	Catalogue number		Manufactured by
IVD	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
	Contains sufficient for <math>n> tests	DIL SPE	Diluent specimen
	Consult instructions for use		Do not reuse
	Keep dry		Use by
DIL AS	Diluent assay	CONT NaN <sub>3</sub>	Contains Sodium azide

### Dodává:

**Josef Bártl – DIOXO**  
 Sídliště 24  
 165 03 Praha 6 – Suchdol  
 tel., fax: 220 920 656, 220 921 873  
 e-mail: [dioxo@dioxo.cz](mailto:dioxo@dioxo.cz)

### Výrobce:

**Coris BioConcept**  
 Science Park CREALYS  
 Rue Jean Sonet, 4 A  
 B – 5032 Gembloux  
 Belgique  
 Tel: +32(0)81719917  
[info@corisbio.com](mailto:info@corisbio.com)