

immunocard STAT!®

HpSA® HD

**A Rapid Immunoassay for the Detection of
Helicobacter pylori Antigens in Stool Specimens**

REF

750020

IVD

For Professional use only

Rx Only

INTENDED USE

The ImmunoCard STAT! HpSA HD is a rapid in vitro qualitative procedure for the detection of *Helicobacter pylori* antigens in human stool. The stool antigen detection is intended to aid in the diagnosis of *H. pylori* infection and to demonstrate loss of *H. pylori* stool antigen following treatment. Conventional medical practice recommends that testing by any method to confirm loss of antigen be done at least four weeks following completion of therapy.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Since its discovery over 20 years ago by Marshall and Warren,¹ *Helicobacter pylori* is now recognized as one of the most common and medically important pathogens worldwide. *Helicobacter pylori* has been firmly established as an etiologic agent in chronic gastritis and peptic ulcer disease and has been associated with mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and gastric adenocarcinoma.²⁻⁶

The ecological niche in humans appears to be restricted to the stomach and the duodenum. Patients who harbor the organism are divided into two basic groups. The first group shows no signs or symptoms of gastrointestinal disease and is considered as "colonized". The second group shows gastrointestinal signs and symptoms and is considered as "infected". The process by which an individual becomes colonized or infected is still under investigation.^{2, 3, 7-9} Many possible routes of transmission of *Helicobacter pylori* to humans such as animals, contaminated water and oral reservoirs have been suggested.¹⁰

Diagnostic tests for *H. pylori* can be categorized as invasive (endoscopy, biopsy) or noninvasive (serology, urea breath test and stool antigen test). In invasive testing, a biopsy is taken from the upper gastrointestinal tract and examined microscopically. The tissue is also cultured for *H. pylori* or evaluated in the rapid urease test. This strategy offers the advantages of detecting an active infection and has high specificity and a high positive predictive value. The disadvantages of invasive testing include risk and discomfort to the patient and colonization in patches that might be missed by biopsy. Culture of biopsy material is time consuming and can yield false-negative results due to inherent technical difficulties.^{2, 11-14}

The urea breath test (UBT) is a type of noninvasive test that detects the highly active urease of *H. pylori*. Although UBT is highly sensitive and specific, it has a number of significant drawbacks. UBT is time consuming, requires specialized detection equipment and involves the ingestion of isotopically labeled urea by the patient.^{2, 15, 16} Serological tests, also noninvasive, based on the detection of IgG against *H. pylori* are useful for primary screening of patients that present with uncomplicated infections, yet they do not distinguish between past exposure and active infection.^{5, 10, 17} The stool antigen test has been evaluated extensively and has been accepted as an accurate non-invasive test both before and after treatment.¹⁸⁻²⁰ The recent Maastricht 4 Consensus Report recommends the use of the stool antigen and UBT tests as an aid in the diagnosis of *H. pylori* disease in the primary care setting.²¹

ImmunoCard STAT! HpSA HD is designed to detect *H. pylori* antigen in human stool.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

ImmunoCard STAT! HpSA HD is a rapid lateral flow immunoassay that utilizes a monoclonal anti-*H. pylori* antibody as the capture and detector antibodies. A diluted patient stool sample is dispensed into the sample port of the test device and the appearance of a pink-red line in the reading window next to the letter T within 5-15 minutes of incubation at room temperature indicates a positive result. Samples with a high concentration of *H. pylori* antigen may show a positive result after an incubation time of 5 minutes. The detection of samples with low *H. pylori* antigen concentration and the confirmation of negative results require 10 additional minutes of incubation.

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

1. **ImmunoCard STAT! HpSA HD Test Device:** A chromatography strip housed in a plastic frame and enclosed in a foil pouch with a desiccant. The strip carries monoclonal anti-*H. pylori* capture antibody for the test and an animal protein for a control. The strips also contain red-latex conjugated anti-*H. pylori* and blue latex-conjugated anti-protein as the detector antibodies for tests and controls, respectively. Store the devices at 2-8 C when not in use. Do not freeze.
2. **Sample Diluent:** A buffered Tris solution containing 1% bovine albumin and detergents. Sodium azide (0.095%) is added as a preservative. The Diluent is supplied in a red-capped plastic dropper vial with an applicator tip. Use as supplied. Store at 2-8 C when not in use. Sample diluent is used as Negative Control.
3. **Positive Control:** A suspension of inactivated *H. pylori* in a balanced salt solution containing sodium azide (0.095%) as a preservative. The reagent is supplied ready for use in a plastic dropper vial. Use as supplied. Store at 2-8 C when not in use.
4. 100 µL transfer pipettes

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Disposable latex gloves that should be used during the handling of the fecal samples as they are considered potentially hazardous material
2. Vortex for suspending the stool specimen in the Sample Diluent (Optional)
3. Interval timer

PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Patient specimens may contain infectious agents and should be handled and disposed of as potentially biohazardous. The use of disposable gloves during the entire procedure is required.
3. Do not interchange reagents from different kit lot numbers. Do not use kit components beyond the labeled expiration date of the kit.
4. Inspect Test Devices before removing the foil pouch. Do not use Test Devices that have holes in the foil pouch or where the pouch has not been completely sealed. False-negative reactions may result due to deterioration of the improperly stored Test Device.

5. Do not use the Sample Diluent or Positive Control if turbid. Turbidity may be a sign of microbial contamination.
6. Handle the Positive Control as if it is potentially infectious, even though it contains inactivated *H. pylori*.
7. Do not deviate from the method described here or falsely positive or falsely negative results may occur.
8. Test instructions should be thoroughly read before performing any testing.
9. Do not use a device if its pouch was punctured prior to use.
10. The sample diluent buffer contains sodium azide as an anti-microbial agent. Avoid direct contact with skin and mucous membranes. Dispose of appropriately. Do not use the buffer if signs of contamination or precipitation are present.
11. To avoid contamination, store the Sample Diluent buffer at 2-8 C.
12. Do not eat, drink, smoke, or prepare or store food in areas where reagents or samples are handled.
13. Once the procedure is complete, clean work surfaces with soap and water and finish disinfecting with a suitable solution. Finally, discard gloves and then wash hands first with soap and water, rubbing hands together vigorously.
14. Allow all kit components and stool samples to reach room temperature before use. Cold reagents and/or samples can reduce test functionality. Twenty to 30 minutes are recommended to reach room temperature.
15. It is very important to add the correct volume of extracted sample to the reaction device. If the amount is lower than required, the chromatography may not be complete as the sample will not reach the reaction area, whereas if the volume added is higher than indicated, the chromatography may not run correctly as the sample is unlikely to flow through the membrane due to a higher than recommended viscosity.
16. Used product should be disposed of according to applicable laws.
17. Do not use the test if any colored lines appear in the result area before running the test.
18. It is very important to collect an adequate amount of sample: about 50 mg for solid samples (a small pellet approximately 5-6 mm in diameter) or 100 µL for liquid or semi-solid samples; these amounts are extracted in 1 mL of sample diluent included in the kit. The addition of greater than 50 mg (solid) or 100 µL (semi-solid or liquid) of stool may cause an invalid result as an excess of sample may restrict sample flow.
19. Do not discard the external kit box until all contents have been used. The external box contains essential information regarding the CE marking and component lots.
20. DO NOT USE stool in transport media, on swabs, or mixed with preservatives.

HAZARDS AND PRECAUTION PHRASES

There are no known hazards associated with this product.

SHELF LIFE AND STORAGE

Store the kit at 2-8 C when not in use. The shelf life (expiry) for this product is listed on the kit box label.

PROCEDURAL NOTES

1. Allow kit components and specimens to reach the room temperature (20-26 C) before performing a test, as cold reagents and/or specimens may decrease assay sensitivity. Reagents may take 20-30 minutes to warm following refrigeration.
2. Stool samples must be mixed thoroughly (regardless of consistency) to ensure a representative sample prior to sampling.
3. Hold reagent vials vertically when dispensing drops to ensure consistent drop size and delivery.

4. On occasion, particulate matter may interfere with sample flow. In cases where the Test Device does not readily absorb the diluted specimen, gently touch the bottom of the sample port with an applicator stick, moving the stool solid particle that might prevent the absorption. Alternatively, a new aliquot of the sample can be withdrawn from the Diluent and retested. Diluted samples containing a heavy concentration of particulate matter may be centrifuged (1-5 minutes at 700 x G) or allowed to stand for 3-5 minutes before proceeding in order to allow particulate matter to settle to the bottom of the test tube.

REAGENT PREPARATION

Reagents are supplied ready for use. No preparation is needed.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

DO NOT USE stool in transport media, on swabs, or mixed with preservatives. The specimen should be transported in an airtight container and stored at 2-8 C until tested. The specimen should be tested as soon as possible but may be held up to 72 hours at 2-8 C prior to testing. If testing cannot be performed within this time frame, specimens should be frozen immediately on receipt and stored frozen (≤ -20 C) until tested. Specimens may be frozen and thawed twice. Mix stool samples thoroughly (regardless of consistency) before testing.

1. **Liquid or Semi-solid stools** – Unscrew the red cap from the Sample Diluent vial (red capped vial). Use a clean calibrated transfer pipette (supplied with the kit) to draw the mixed sample to the second mark from the pipette tip (100 μ L). Dispense the sample into the Sample Diluent vial. Use the same transfer pipette to mix the diluted sample thoroughly, but gently, by squeezing the pipette bulb three times. Recap the vial tightly and mix thoroughly but gently by swirling the contents for 15 seconds. Alternatively, mix for 15 seconds using a vortex mixer. **NOTE: Care should be taken when pipetting semisolid stool. The addition of less than 100 μ L of stool may cause a false-negative test. The addition of more than 100 μ L of stool may cause invalid results due to restricted sample flow.**



Figure of 100 μ L pipette

2. **Formed/Solid stools** – Unscrew the red cap of the Sample Diluent vial (red capped vial). Use the white plastic applicator stick in the red cap to collect a small portion of stool (5-6 mm pellet). Transfer the pellet to the Sample Diluent vial. Recap the vial tightly and mix thoroughly but gently by swirling the contents of the vial for 15 seconds. Alternatively, mix for 15 seconds using a vortex mixer. Wooden applicator sticks may also be used to transfer solid stool to the Sample Diluent. **NOTE: The transfer of too little stool, or failure to mix and suspend the stool in Sample Diluent completely may result in a false-negative test results. Care should be taken to transfer no less and no more than the amount indicated. The addition of more than 100 μ L of stool may cause invalid results due to restricted sample flow.**

TEST PROCEDURE

A. Test

1. Bring all test devices, reagents and samples to room temperature (20-26 C) before testing.
2. Use 1 ImmunoCard STAT! HpSA HD Test Device for each patient sample.
3. Remove the ImmunoCard STAT! HpSA HD Test Device from its foil pouch. The Test Device is marked to indicate where test and control lines will appear. The sample port marked with an arrow is the test window where sample is added.

4. Label the device with the patient's name. Prepare the specimen according to the instructions in the SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION section above.
5. Hold the diluted specimen vial upright and tap the bottom gently on the countertop before proceeding.
6. Cover the top of the diluted sample vial with absorbent paper to avoid splatter.
7. Break off the red tip on the outside of the red cap. (Do not break off the white applicator stick on the inside of the cap.)
8. Hold the vial upside down and dispense 3 drops of diluted sample into the sample port (at arrow) of the Test Device. Do not touch the tip of the vial to the Test Device.
9. Set a timer and incubate the test at 20-26 C for 5 minutes.
10. At the end of 5 minutes, read the results. Positive result can be reported, negative tests MUST be incubated for an additional 10 minutes and then re-read. See the INTERPRETATION OF RESULTS section below for a description of positive and negative test results.
11. Do NOT interpret the results after 15 minutes.

B. Controls

Positive and Negative Controls are designed to show all reagents are reactive, specific, and capable of producing the expected results.

1. Bring all control reagents to 20-26 C before testing.
2. Use 1 ImmunoCard STAT! HpSA HD Test Device each for a Positive and Negative Control. Label each device with the control to be tested.
3. Hold reagent vials upside down to dispense reagents.
4. Add 3 drops of the Positive Control to the sample port (at arrow) of 1 device. **Do not allow the tip of the vial to touch the sample port.**
5. Break off the red tip on the outside of the red cap of an unused vial of Sample Diluent.
6. Dispense 3 drops of the Sample Diluent (Negative Control) to the sample port (at arrow) of another Test Device.
7. Set a timer and incubate the tests at 20-26 C for 15 minutes.
8. After 15 minutes, read the results within 1 minute of test completion

INTERPRETATION OF RESULTS

Negative test result: Only one BLUE colored band (Control Line) appears across the central window of the device close to the letter "C". (*H. pylori* antigens are absent or below the level of detection.) No other bands should be seen. The background should not interfere with reading the test.

Positive test result: In addition to the BLUE band (Control Line), a distinguishable PINK-RED band (Test Line) also appears across the central window of the device close to the letter "T". The intensity of the band will vary depending on the antigen concentration in the specimen. Any pink-red line, even very weak, must be considered as a positive result. (A positive test line indicates that *H. pylori* antigens are in the specimen.) The background should not interfere with reading the test.

Invalid test results:

1. The BLUE band (Control Line) is absent, with or without a visually detectable PINK-RED band (Test Line),
2. A PINK-RED band appears at the letter "T" in the window after 15 minutes of total incubation, or there is a line at this position of another color other than pink-red,
3. No Control Line band appears close to the letter "C". (The test is invalid since a shift in or absence of the control line indicates that the test procedure was performed improperly or that deterioration of the reagents has occurred.)

If any test is difficult to interpret, the test should be repeated with the same sample to eliminate the potential for error. Obtain a new sample and retest when the original sample repeatedly produces unreadable results.

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

The reactivity of ImmunoCard STAT! HpSA HD Test Devices should be verified on receipt using the external Positive and Negative Control reagents provided in the kit. The number of additional tests performed with the external controls will be determined by the requirements of local, state or national regulations or accrediting agencies.

Internal controls: Internal controls are contained within the Test Device and therefore are evaluated with each test.

1. A colored band appearing at the control line serves as a positive control and indicates the test has been performed correctly, that sample was added, that it flowed properly, and that the test reagents were active at the time of use.
2. A clear background around the control or test lines serves as a negative control. A background that obscures the reading of results invalidates the test and is an indication of reagent deterioration, inappropriate sample or improper test performance.

The results expected with the Controls are described in the section on INTERPRETATION OF RESULTS. The Test Devices should not be used if control tests do not produce the correct results. Failure to achieve the expected results indicates either that the Test Devices are defective or that the test was not performed correctly. **If the expected control reactions are not observed, repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.**

The Positive and Negative Control reagents are manufactured in an aqueous solution matrix. Although specimen matrix interference has not been observed with this assay, the aqueous matrix of the controls may not adequately control for specimen matrix effects.

EXPECTED VALUES

Studies on the epidemiology of *H. pylori* have shown that this organism is present worldwide.^{17, 22, 23} Gastritis caused by *H. pylori* has been shown to correlate with age, ethnic background, family size and socioeconomic class.^{24, 25} The prevalence of *H. pylori* infection in a given population can vary from 20% to 90%. In patients diagnosed with duodenal ulcers, however, it has been shown in every age group to be approximately 80%.¹⁷ Currently recommended eradication treatments have an efficacy rate between 75% and 90%.

The ImmunoCard STAT! HpSA HD test detects the presence of *H. pylori* antigens in human stool. Expected values for a given population should be determined for each laboratory. The rate of positives may vary depending on geographic location, method of specimen collection, handling and transportation, test employed and general health environment of patient population under study.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The test is qualitative and no quantitative interpretation should be made with respect to the intensity of the positive line when reporting the result.
2. Test results are to be used in conjunction with information available from epidemiological studies, patient clinical evaluation and other diagnostic procedures.
3. Antimicrobials, proton pump inhibitors and bismuth preparations are known to suppress *H. pylori*, and ingestion of these prior to *H. pylori* testing (culture, histology, rapid urease, UBT, antigen) may cause false-negative results. If a patient has ingested these compounds within two weeks prior to performing the ImmunoCard STAT! HpSA HD test, a false-negative result may occur. In such cases, the test should be repeated on a new specimen obtained two weeks after discontinuing treatment. A positive result for a patient ingesting these compounds within two weeks prior to performing the ImmunoCard STAT! HpSA HD test, should be considered accurate.

4. Failure to add sufficient stool to the Specimen Diluent may result in a falsely negative test result. Addition of too much stool may result in invalid test results due to the inhibition of proper sample flow.
5. Over incubation of tests may lead to false-positive test results. Incubating tests at reduced temperatures or times may lead to falsely negative results.
6. The ImmunoCard STAT! HpSA HD test is intended for the identification of *H. pylori* by detecting its presence in human feces if the bacterial load is equal to or higher than the detection limit of the assay.
7. It is important to control reaction time. If reaction time is less than indicated (15 minutes), samples containing an analyte concentration significantly higher than the sensitivity limit can be seen clearly, however samples that are at the limit of detection will not appear (false negative results). If the reaction time is higher than 15 minutes, the sensitivity of the test will be altered and incorrect results can be obtained (false positive results).

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Two independent laboratories compared the performance of ImmunoCard STAT! HpSA HD in parallel with the reference EIA method, Premier Platinum HpSA PLUS (Meridian Bioscience, Inc, Cincinnati, OH). Sixty one prospective (fresh) and 114 retrospective (frozen) samples were included in the evaluation. Table 1 provides the performance data for ImmunoCard STAT! HpSA HD. Table 2 lists the OD readings for ImmunoCard STAT! HpSA HD false-negative samples.

Table 1. Performance data for ImmunoCard STAT! HpSA HD

	ImmunoCard STAT! HpSA HD		
Premier Platinum HpSA PLUS	Positive	Negative	Total
Positive	50	3	53
Negative	1	121	122
Total	51	124	175
Positive Agreement (95% CI)	94.3% (84.6 to 98.1%)		
Negative Agreement (95% CI)	99.2% (95.5 to 99.9%)		

Table 2. EIA OD readings for False-Negative ImmunoCard STAT! HpSA HD samples

Sample No.	OD reading (cut off 0.100)	Interpretation
64	0.117	EIA weak pos; just above negative cut off
96	0.924	EIA pos
118	0.193	EIA weak pos; just above negative cut off

ANALYTICAL SENSITIVITY

The lower limit of detection for this assay is 8 ng/mL in tests with sonicated antigen prepared from *H. pylori* strain TV1970. The limit does not vary from formed (solid) to semisolid stool samples

REPEATABILITY AND REPRODUCIBILITY

The repeatability of this assay was determined using (1) a natural negative and (2) contrived positive samples prepared from varying concentrations of the *H. pylori* standard. Ten replicates of each sample were tested by one operator at one time. Concordance in results was 100%.

Inter-day precision: The inter-day precision was determined by preparing four serial dilution curves (sensitivity curves) of the *H. pylori* standard. The dilutions were tested by the same operator on four different days with a concordance in results of 100%.

Inter-operator precision: Inter-operator precision was determined using three serial dilutions (sensitivity curves) of the *H. pylori* standard. The dilutions were then analyzed by three operators on the same day with a concordance in results of 100%.

Inter-batch precision: Inter-batch precision was determined by analyzing the standard dilutions with three different lots of product. Tests were performed by one operator on one day. Concordance in results was 100%.

CROSSREACTIVITY/ASSAY SPECIFICITY

Crossreactivity was evaluated utilizing the following bacterial and yeast strains. Positive and negative stools were spiked with $\geq 1 \times 10^6$ bacteria/ fungus /yeast. None of the microorganisms tested yielded a positive result in negative stool or interfered with detection of a positive stool. Both negative and positive stool were positive when spiked with *H. pylori* strain 43504.

Campylobacter coli, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter felis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella ssp*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Shigella ssp*

TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES

The following substances were found to have no effect on results when present in stool at the concentrations indicated.

Tums® Antacid (5 mg/mL), Tagamet® (5 mg/mL), Prilosec® (5 mg/mL), Mylanta® Antacid (1:20), Pepto-Bismol® (1:20), Barium sulfate (5%), Whole Blood (50%), Mucin (3.4%)

immunocard STAT![®]

HpSA[®] HD

**Test immunologico rapido per la rilevazione degli antigeni
di *Helicobacter pylori* in campioni fecali**

REF

750020

IVD

For Professional use only

FINALITÀ D'USO

ImmunoCard STAT! HpSA HD è una procedura rapida in vitro per la ricerca qualitativa degli antigeni di *Helicobacter pylori* nelle feci umane. Il rilevamento dell'antigene fecale ha lo scopo di fornire un ausilio nella diagnosi dell'infezione da *H. pylori* e di dimostrare la perdita dell'antigene fecale di *H. pylori* dopo il trattamento. La pratica medica convenzionale raccomanda di eseguire test con qualsiasi metodo per confermare la perdita dell'antigene almeno quattro settimane dopo il completamento della terapia.

SUMMARY E SPIEGAZIONE DEL TEST

Dopo la sua scoperta, avvenuta più di 20 anni fa da parte di Marshall e Warren,¹ l'*Helicobacter pylori* è oggi riconosciuto in tutto il mondo come uno degli agenti patogeni più comuni e importanti.¹ L'*Helicobacter pylori* è stato definitivamente confermato come un agente eziologico della gastrite cronica, dell'ulcera peptica nel linfoma del tessuto linfoide associato alla mucosa gastrica e nell'adenocarcinoma gastrico.²⁻⁶

La nicchia ecologica nell'uomo sembra essere limitata allo stomaco e al duodeno. I pazienti che ospitano l'organismo si dividono in due gruppi essenziali. Il primo gruppo non mostra segni o sintomi di malattia gastrointestinale e viene considerato come "colonizzato". Il secondo gruppo mostra segni e sintomi gastrointestinali e viene considerato come "infetto". Il processo attraverso il quale un individuo diviene colonizzato o infetto è ancora oggetto di ricerca.^{2, 3, 7-9} Molti sono i modi di trasmissione possibili dell'*Helicobacter pylori* nell'uomo; fra gli altri, sono stati indicati serbatoi animali, di acqua contaminata e serbatoi orali.¹⁰

I test diagnostici per la rilevazione dell'*H. pylori* possono essere classificati come invasivi (endoscopia, biopsia) o non invasivi (test sierologico, test del respiro, test dell'antigene fecale). Nei test invasivi, viene prelevato un campione istologico dal tratto gastrointestinale superiore per la successiva analisi al microscopio. Il tessuto viene anche coltivato per *H. pylori* o esaminato nel test rapido all'ureasi. Questa metodica offre i vantaggi di individuare un'infezione attiva, ha un elevato grado di specificità e un elevato valore predittivo positivo. Gli svantaggi di un test invasivo comprendono il rischio e il disagio per il paziente, nonché la colonizzazione a macchia del batterio che potrebbe quindi sfuggire alla biopsia. La coltura di materiale biotico richiede tempo e può produrre risultati falsi negativi a causa di inerenti difficoltà tecniche.^{2, 11-14}

L'Urea 'Breath Test' (UBT) è un tipo di test non invasivo che individua attività ureasica dell'*H. pylori*. Sebbene l'UBT sia altamente sensibile e specifico, esso presenta una serie di inconvenienti significativi. L'UBT richiede tempo, comporta l'uso di strumenti di rivelazione specialistici e prevede l'ingestione da parte del paziente di urea marcata con isotopo.^{2, 15, 16} I test sierologici, anch'essi non invasivi, basati sull'individuazione delle IgG anti-*H. pylori* sono utili per lo screening primario di pazienti che presentano infezioni non complicate, ma non distinguono fra esposizione passata e infezione attiva.^{5, 10, 17} Il test dell'antigene fecale è stato sottoposto nel tempo a diverse valutazioni, ed oggi è considerato un accurato test non invasivo utilizzabile sia prima che dopo la terapia.¹⁸⁻²⁰ Il recente Maastricht 4 Consensus Report raccomanda sia il test dell'antigene fecale e che l'UBT per la diagnosi delle infezioni da *H. pylori* nella pratica medica di base.²¹

L'ImmunoCard STAT! HpSA HD è un test rapido per la ricerca di antigeni di *H. pylori* nelle feci umane.

PRINCIPI BIOLOGICI

Il test ImmunoCard STAT! HpSA HD utilizza un anticorpo monoclonale anti-*H. pylori* sia come anticorpo di rilevazione che come anticorpo di cattura. Un campione di feci pre-diluite viene dispensato nel pozzetto del campione del dispositivo; la comparsa di una linea rosa-rossa nella finestra di rilevazione accanto alla lettera "T", entro 5-15 minuti di incubazione a temperatura ambiente, indica un risultato positivo. I campioni con un'elevata concentrazione di antigene di *H. pylori* possono mostrare un risultato positivo dopo un tempo di incubazione di 5 minuti. Il rilevamento in campioni con bassa concentrazione di antigene di *H. pylori* e la conferma di risultati negativi richiedono ulteriori 10 minuti di incubazione.

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

1. **Dispositivo test ImmunoCard STAT! HpSA HD:** membrana cromatografica contenuta in una cassetta di plastica e racchiusa in una confezione di alluminio con essiccante. Sulla membrana sono immobilizzati un anticorpo di cattura monoclonale anti-*H. pylori* per il test e una proteina animale per il controllo. Come anticorpi di rivelazione per i test e i controlli, la membrana contiene anche anticorpi anti-*H. pylori* coniugati con lattice rosso ed anticorpi anti-proteina coniugata con lattice blu. Conservare i dispositivi a 2-8 C, quando non vengono usati. Non congelare.
2. **Diluente del campione:** Tris soluzione salina tamponata contenente albumina bovina all'1% e detergenti. Viene aggiunto del sodio azide (0,095%) come conservante. Il diluente viene fornito in un flacone con cappuccio rosso contagocce in plastica e con applicatore all'estremità. Utilizzare come fornito. Conservare a temperature di 2-8 C quando non viene usato. Il diluente del campione viene utilizzato come controllo negativo.
3. **Controllo positivo:** sospensione di *H. pylori* inattivato, in soluzione salina bilanciata contenente sodio azide (0,095%) come conservante. Il reagente viene fornito pronto per l'uso in un flacone plastica contagocce. Utilizzare come fornito. Conservare a 2-8 C quando non viene usato.
4. Pipette di trasferimento da 100 µL.

MATERIALI NON FORNITI

1. Guanti di lattice monouso, da usare durante la manipolazione dei campioni fecali, potenzialmente infettivi
2. Vortex per sospendere il campione fecale nel diluente del campione (OPZIONALE)
3. Timer

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. I campioni dei pazienti possono contenere agenti infettivi e devono essere maneggiati ed eliminati come materiale potenzialmente pericoloso. Durante l'intera procedura è necessario l'uso di guanti monouso.
3. Non combinare reagenti appartenenti a kit con numeri di lotto diversi. Non usare i componenti di un kit oltre la data di scadenza del kit stesso.
4. Ispezionare i dispositivi per il test prima di rimuovere la confezione d'alluminio. Non usare i dispositivi per il test se la confezione d'alluminio è forata o se non è perfettamente sigillata. Le reazioni risultanti possono essere falsamente negative a causa della conservazione non corretta dei dispositivi per il test.
5. Non usare il diluente del campione o il controllo positivo se risulta torbido. La torbidità può essere un segno di contaminazione microbica.
6. Manipolare il Controllo positivo come se fosse potenzialmente infetto, sebbene contenga *H. pylori* inattivato.
7. Se non ci si attiene al metodo qui descritto si rischia di ottenere risultati falso-positivi o risultati falso-negativi.
8. Leggere le istruzioni per il test nella loro interezza prima di eseguire un'analisi.
9. Non usare un dispositivo la cui confezione sia stata forata prima dell'uso.
10. Il tampone diluente per campione contiene sodio azide come agente antimicrobico. Evitare il contatto diretto con la pelle e le mucose. Smaltire in modo appropriato. Non utilizzare il tampone se sono presenti segni di contaminazione o precipitazione.
11. Per evitare la contaminazione, conservare il tampone diluente per campione a 2-8 C.
12. Non mangiare, bere, fumare né preparare o conservare alimenti in aree in cui vengono manipolati reagenti o campioni.
13. Una volta completata la procedura, pulire le superfici di lavoro con acqua e sapone e terminare la disinfezione con una soluzione adeguata. Al termine, gettare via i guanti e lavarsi le mani con acqua e sapone, strofinandole energicamente.
14. Prima dell'uso, attendere che tutti i componenti del kit e i campioni di feci raggiungano la temperatura ambiente. I reagenti e/o i campioni a freddo possono ridurre la funzionalità del test. Per raggiungere la temperatura ambiente, si consiglia di attendere da 20 a 30 minuti.
15. È molto importante aggiungere il volume corretto del campione estratto nel dispositivo di reazione. Se la quantità è inferiore a quella richiesta, la cromatografia potrebbe non essere completata poiché il campione non raggiungerà l'area di reazione, mentre se il volume aggiunto è superiore a quello indicato, la cromatografia potrebbe non essere corretta poiché è improbabile che il campione scorra attraverso la membrana a causa di una viscosità superiore a quella raccomandata.
16. Il prodotto usato deve essere smaltito secondo le leggi applicabili.
17. Non utilizzare il test se, prima dell'analisi, appaiono delle linee colorate nell'area dei risultati.
18. È molto importante raccogliere una quantità adeguata di campione: circa 50 mg per campioni solidi (circa 5-6 mm di diametro) o 100 µL per campioni liquidi o semisolidi; queste quantità vengono estratte in 1 mL di diluente del campione incluso nel kit. Se si aggiunge una quantità di feci maggiore di 50 mg (campione solido) o 100 µL (campione semisolido o liquido), si può ottenere un risultato non valido poiché una quantità eccessiva può limitare il flusso del campione.
19. Non gettare la confezione esterna del kit finché non sarà stato utilizzato tutto il contenuto. La confezione esterna contiene informazioni essenziali relative alla marcatura CE e ai lotti dei componenti.
20. NON UTILIZZARE feci su terreni di trasporto o tamponi né miscelarli con conservanti.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Conservare il kit a 2-8 C se non utilizzato. La durata (scadenza) di questo prodotto è indicata sull'etichetta della confezione del kit.

NOTE PROCEDURALI

1. Prima di eseguire il test, lasciare che i componenti del kit e i campioni raggiungano la temperatura ambiente (20-26 C), infatti reagenti e/o campioni freddi possono ridurre la sensibilità del saggio. Potrebbero essere necessari 20-30 minuti prima che i reagenti si riscaldino dopo la refrigerazione.
2. Prima del prelievo, i campioni di feci devono essere miscelati completamente (a prescindere dalla consistenza) al fine di ottenere un campione rappresentativo.
3. Tenere i flaconi dei reagenti in posizione verticale quando si dispensano le gocce, in modo da garantire una quantità di gocce e un'erogazione consistenti.
4. Alcune volte, il particolato può interferire con il flusso dei campioni. Nei casi in cui il dispositivo di analisi non assorba prontamente il campione diluito, toccare con delicatezza il fondo della porta del campione con un applicatore a stick, spostando il particolato solido delle feci che potrebbe impedire l'assorbimento. In alternativa, è possibile prelevare un'altra aliquota dal diluente e ricominciare. I campioni diluiti contenenti un'elevata concentrazione di particolato possono essere centrifugati (1-5 minuti a 700 x G) oppure lasciati a riposare per 3-5 minuti prima di procedere, in modo da consentire al particolato di sedimentarsi sul fondo della provetta di analisi.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti vengono forniti pronti all'uso. Non è necessaria alcuna preparazione.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

NON USARE campioni fecali in terreni di trasporto, su tamponi, oppure miscelati con conservanti. Trasportare il campione in un contenitore a tenuta d'aria e conservarlo a 2-8 C fino al momento del test. Eseguire prima possibile il test sul campione, anche se si può attendere fino a 72 ore se il campione è conservato a 2-8 C prima del test. Se il test non può essere eseguito entro il lasso di tempo suddetto, congelare immediatamente i campioni al momento in cui si ricevono e conservarli nel congelatore (≤ -20 C) fino al momento del test. I campioni possono essere congelati e scongelati solo due volte. Miscelare a fondo i campioni fecali (a prescindere dalla consistenza) prima di procedere con il test.

1. **Feci liquide o semi-solide** - Svitare il cappuccio rosso del flacone del diluente del campione (flacone con cappuccio rosso). Usando una pipetta di trasferimento pulita (inclusa nel kit), prelevare il campione miscelato fino alla seconda tacca dall'estremità della pipetta (100 μ L). Dispensare il campione nel flacone di diluente del campione. Usando la stessa pipetta di trasferimento miscelare a fondo, ma delicatamente, il campione diluito premendo tre volte con le dita il bulbo della pipetta. Rimettere il cappuccio sul flacone stringendolo bene e miscelare a fondo agitando il contenuto per 15 secondi. In alternativa, miscelare per 15 secondi con un agitatore vortex. **NOTA: prestare attenzione nel pipettare feci semi-solide. L'aggiunta di meno di 100 μ L di feci può causare un test falsamente negativo. L'aggiunta di più di 100 μ L può causare risultati non validi a causa del flusso limitato del campione.**

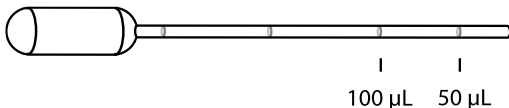


Figura di una pipette di 100 μ L

2. **Feci formate/solide** - Svitare il cappuccio rosso del flacone del diluente del campione (flacone con cappuccio rosso). Usando il bastoncino applicatore di plastica bianca inserito nel cappuccio rosso del flacone, raccogliere una piccola parte di feci (5-6 mm di diametro) e trasferirla nel flacone del diluente del campione. Rimettere il cappuccio sul flacone stringendolo bene e miscelare a fondo agitando il contenuto per 15 secondi. In alternativa, miscelare per 15 secondi con un agitatore vortex. I bastoncini applicatori di legno possono anche essere usati per trasferire feci solide nel diluente del campione. **NOTA: il trasferimento di una quantità di feci troppo piccola, o la completa mancanza di miscelazione e sospensione delle feci nel diluente del campione può causare risultati del test falsamente negativi. Prestare attenzione a trasferire non meno e non più della quantità indicata. L'aggiunta di più di 100 µL può causare risultati non validi dovuti al flusso limitato del campione.**

PROCEDURA DEL TEST

A. Test

1. Prima di eseguire il test, portare tutti i dispositivi per il test, i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (20-26 C).
2. Usare 1 dispositivo test ImmunoCard STAT! HpSA HD per ogni campione.
3. Rimuovere il dispositivo per il test ImmunoCard STAT! HpSA HD dalla confezione d'alluminio. Il dispositivo per il test è contrassegnato per indicare il punto in cui appariranno la linea del test e la linea di controllo. La porta del campione contrassegnata da una freccia è la finestra di test in cui viene aggiunto il campione.
4. Etichettare il dispositivo con il nome del paziente. Preparare il campione seguendo le istruzioni indicate in RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE.
5. Prima di procedere, tenere il flacone contenente il campione diluito in posizione verticale e picchiare delicatamente il fondo del flacone sul piano di lavoro.
6. Coprire con carta assorbente la parte superiore del flacone contenente il campione per evitare spruzzi.
7. Rompere la punta rossa sulla parte esterna del cappuccio rosso. (Non rompere il bastoncino applicatore bianco all'interno del cappuccio).
8. Tenere la fiala capovolta ed erogare 3 gocce di campione diluito nella porta del campione (in corrispondenza della freccia) del dispositivo di test. Non poggiare la punta del flacone sul dispositivo per il test.
9. Regolare il timer e incubare il test a 20-26 C per 5 minuti.
10. Dopo 5 minuti, leggere i risultati. È possibile riportare risultati positivi, tuttavia i test negativi DEVONO essere incubati per altri 10 minuti e quindi riletti. Vedere la sezione INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI per la descrizione dei risultati positivi e negativi del test.
11. NON interpretare i risultati dopo 15 minuti.

B. Controlli

I controlli positivi e negativi servono a confermare che tutti i reagenti sono reattivi, specifici e in grado di produrre i risultati attesi.

1. Portare tutti i reagenti di controllo a 20-26 C prima dell'analisi.
2. Usare 1 dispositivo per il test ImmunoCard STAT! HpSA HD ciascuno per il controllo negativo e il controllo positivo. Etichettare ciascun dispositivo con il controllo da analizzare.
3. Capovolgere i flaconi dei reagenti per dispensarne il contenuto.
4. Aggiungere 3 gocce del controllo positivo nella porta del campione (in corrispondenza della freccia) di 1 dispositivo. **Non poggiare la punta del flacone sul pozzetto del campione.**
5. Rompere la punta rossa sulla parte esterna del cappuccio rosso di un flacone di diluente del campione non utilizzato.
6. Erogare 3 gocce di diluente per campioni (controllo negativo) nella porta del campione.
7. Impostare un timer e incubare i test a 20-26 C per 15 minuti.
8. Dopo 15 minuti, leggere i risultati entro 1 minuto dal completamento del test.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato negativo del test: Una sola linea di colore BLU (Linea di Controllo) appare nella finestra centrale del dispositivo accanto alla lettera "C". (Gli antigeni *H. pylori* sono assenti o al di sotto del livello di rivelazione). Non devono apparire altre linee. Lo sfondo non deve interferire con la lettura del test.

Risultato positivo del test: Oltre alla linea di colore BLU (Linea di Controllo), nella finestra centrale del dispositivo, accanto alla lettera "T", appare una linea ROSA-ROSSA (Linea del Test) chiaramente visibile. L'intensità della linea potrà variare in relazione alla concentrazione degli antigeni nel campione. Ogni linea rosa-rossa, anche se molto tenue, deve essere considerata come risultato positivo. (Una linea positiva del test indica la presenza di antigeni *H. pylori* nel campione). Lo sfondo non deve interferire con la lettura del test.

Risultati del test non validi

1. La linea BLU (Linea di Controllo) è assente, con o senza una linea ROSA-ROSSA visibile (Linea del Test).
2. Dopo 15 minuti di incubazione totale, in corrispondenza della lettera "T" nella finestra appare una banda di colore ROSA-ROSSO oppure in questa posizione è presente una linea di un altro colore diverso dal rosa-rosso,
3. Nessuna linea di controllo appare accanto alla lettera "C". (Il test non è valido poiché uno spostamento nella linea di controllo, o l'assenza di questa, indica che la procedura del test è stata eseguita non correttamente, o che i reagenti sono deteriorati).

Se i risultati sono difficili da interpretare, ripetere il test con lo stesso campione per eliminare eventuali errori. Se il campione originale continua a produrre risultati illeggibili, raccogliere un nuovo campione ed eseguire un nuovo test.

CONTROLLO QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

La funzionalità dei dispositivi test ImmunoCard STAT! deve essere verificata al momento del loro ricevimento usando i controlli positivi e negativi esterni forniti nel kit. Il numero di ulteriori test eseguiti con i controlli esterni sarà determinato da disposizioni locali o statali e/o da organizzazioni accreditanti.

Controlli interni: I controlli interni sono contenuti nella dispositivo per il test e pertanto vengono valutati con ciascun test.

1. La linea colorata che appare sulla linea di controllo funge da controllo positivo interno e conferma che il test è stato eseguito correttamente, che il campione è stato aggiunto, che la migrazione del campione è avvenuta in maniera corretta e che i reagenti per il test erano attivi al momento dell'uso.
2. Il background pulito intorno alle linee del controllo o del test funge da controllo negativo interno. Un background che impedisca la lettura dei risultati non convalida il test e conferma che il reagente è era deteriorato che il campione non era appropriato o e che le prestazioni dell'analisi non erano adeguate.

I risultati attesi con i controlli sono descritti nella sezione INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI. Non usare i dispositivi per il test se i test dei controlli non producono i risultati corretti. Il mancato ottenimento dei risultati attesi indica che i dispositivi test sono difettosi o che il test non è stato eseguito correttamente. **Se non si ottengono i risultati attesi con i Controlli, come prima opzione per identificare la causa del fallimento ripetere i test di controllo. Se il fallimento dei test di controllo dovessero ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale (Italia +390331433636).**

I reagenti di controllo positivo e controllo negativo sono preparati in una matrice acquosa. Sebbene in questo test non sia stata osservata l'interferenza della matrice dei campioni, la matrice acquosa dei controlli potrebbe non consentire una corretta verifica degli effetti della matrice del campione.

VALORI ATTESI

Ricerche epidemiologiche sull'*H. pylori* hanno dimostrato che questo organismo è presente in tutto il mondo.^{17, 22, 23} Gastriti causate dall'*H. pylori* sono state associate a fattori quali età, origine etnica, dimensione del nucleo familiare e classe socioeconomica.^{24, 25} La prevalenza dell'infezione da *H. pylori* in una data popolazione può variare dal 20% al 90%. Tuttavia, in pazienti ai quali sono state diagnosticate ulcere duodenali, l'infezione si è presentata in ogni gruppo di età con una percentuale di circa l'80%.¹⁷ Attualmente, le terapie di eradicazione raccomandate hanno una percentuale di successo del 75-90%.

Il test ImmunoCard STAT! HpSA HD individua la presenza degli antigeni *H. pylori* nelle feci umane. I valori attesi per una data popolazione devono essere determinati da ogni laboratorio. Il tasso di risultati positivi può variare a seconda della posizione geografica, del metodo di raccolta dei campioni, della manipolazione e del trasporto, del test usato e delle condizioni generali di salute della popolazione di pazienti coinvolti nella ricerca.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Il test è qualitativo, pertanto non si devono formulare interpretazioni quantitative dei valori ottenuti in base all'intensità della linea positiva.
2. I risultati del test devono essere utilizzati insieme alle informazioni ottenute da studi epidemiologici, dalla valutazione clinica del paziente e da altre procedure diagnostiche.
3. Antimicrobici, inibitori della pompa protonica e preparati la base di bismuto si sono dimostrati capaci di sopprimere la crescita di *H. pylori*; pertanto la loro ingestione prima del test per l'individuazione dell'*H. pylori* (coltura, esame istologico, test rapido all'ureasi, UBT, test dell'antigene fecale) può causare risultati falsamente negativi. Qualora un paziente abbia ingerito i suddetti composti nel corso delle due settimane che precedono l'esecuzione del test ImmunoCard STAT! HpSA HD, si potranno ottenere risultati falsamente negativi. In tali casi, sarà necessario ripetere il test su un nuovo campione ottenuto due settimane dal termine del trattamento. I risultati positivi di un paziente che abbia ingerito i suddetti composti due settimane prima dell'esecuzione del test ImmunoCard STAT! HpSA HD devono essere considerati accurati.
4. Aggiungendo una quantità insufficiente di feci nel diluente del campione, si potrebbero ottenere risultati falsamente negativi, mentre aggiungendo una quantità eccessiva di feci si potrebbero ottenere risultati non validi in quanto si impedirebbe il corretto flusso del campione.
5. Una incubazione dei test per tempi prolungati può produrre risultati falsamente positivi. Le incubazioni condotte a temperature o intervalli di tempo inferiori a quelli indicati possono produrre risultati falsamente negativi.
6. Il test ImmunoCard STAT! HpSA HD è destinato all'identificazione di *H. pylori* mediante il rilevamento della sua presenza nelle feci umane se la carica batterica è uguale o superiore al limite di rilevazione del test.
7. È importante controllare i tempi di reazione. Se il tempo di reazione è inferiore a quanto indicato (15 minuti), i campioni contenenti una concentrazione dell'analita significativamente superiore al limite di sensibilità possono essere visti chiaramente, tuttavia i campioni che si trovano al limite del rilevamento non appariranno (risultati falsi negativi). Se il tempo di reazione è superiore a 15 minuti, la sensibilità del test verrà alterata e si potranno ottenere risultati errati (risultati falsi positivi).

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Due laboratori indipendenti hanno determinato le prestazioni di ImmunoCard STAT! HpSA HD in parallelo ad un test EIA di riferimento, Premier Platinum HpSA PLUS (Meridian Bioscience, Inc, Cincinnati, OH). Sono stati inclusi nella valutazione 61 campioni prospettici (freschi) e 114 campioni retrospettici (congelati). In Tabella 1 sono riportate le prestazioni di ImmunoCard STAT! HpSA HD. In Tabella 2 sono riportate le letture delle densità ottiche (OD) per i campioni risultati falso-negativi con ImmunoCard STAT! HpSA HD.

Table 1. Prestazioni di ImmunoCard STAT! HpSA HD

	ImmunoCard STAT! HpSA HD		
Premier Platinum HpSA PLUS	Positivo	Negativo	Totale
Positivo	50	3	53
Negativo	1	121	122
Totale	51	124	175
Concordanza Positiva (95% IC)	94,3% (84,6 a 98,1%)		
Concordanza Negativa (95% IC)	99,2% (95,5 a 99,9%)		

Table 2. Valori OD test EIA campioni falso-negativi con ImmunoCard STAT! HpSA HD.

Campione N.	OD (cut off 0.100)	Interpretazione
64	0,117	Debole Positivo ad EIA; valore appena sopra il cut-off
96	0,924	EIA positivo
118	0,193	Debole Positivo ad EIA; valore appena sopra il cut-off

SENSIBILITÀ ANALITICA

Il limite inferiore di rivelazione (LoD) di questo test è risultato essere di 8 ng/mL, in prove effettuate usando antigene sonificato preparato dal ceppo di *H. pylori* TV1970. Questo limite non varia sia che vengano usate feci formate (solide) che semi-solide.

RIPRODUCIBILITÀ E RIPRODUCIBILITÀ

La ripetibilità di questo saggio è stata determinata utilizzando (1) un negativo naturale e (2) campioni falsi forzati positivi preparati a partire da varie concentrazioni di *H. pylori* standard. Dieci repliche di ciascun campione sono state testate da un solo operatore per volta. Si è ottenuta una concordanza dei risultati del 100%.

Precisione inter-giornaliera: la precisione inter-giornaliera è stata determinata per quattro curve di diluizione seriali (curve di sensibilità) dell'*H. pylori* standard. Le diluizioni sono state esaminate dallo stesso operatore per quattro giorni diversi con una concordanza di risultati del 100%.

Precisione dell'inter-operatore: la precisione dell'inter-operatore è stata determinata tramite tre diluizioni seriali (curve di sensibilità) dell'*H. pylori* standard. Le diluizioni sono state quindi analizzate da tre operatori lo stesso giorno con una concordanza di risultati del 100%.

Precisione inter-lotto: la precisione inter-lotto è stata determinata analizzando le diluizioni standard con tre diversi lotti di prodotto. I test sono stati eseguiti da un solo operatore in un solo giorno. Si è ottenuta una concordanza dei risultati del 100%.

CROSS-REATTIVITÀ/SPECIFICITÀ DEL TEST

La reattività crociata è stata valutata utilizzando i seguenti ceppi batterici e di lievito. Le feci positive e negative sono state inoculate con batteri/micete/lievito a concentrazione $\geq 1 \times 10^6$. Nessuno dei microrganismi analizzati ha prodotto un risultato positivo nelle feci negative né ha interferito con l'individuazione delle feci positive. Sia le feci negative che quelle positive sono risultate positive se miscelate con il ceppo 43504 di *Helicobacter pylori*.

Campylobacter coli, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter felis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Shigella spp*

ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI

È stato trovato che le seguenti sostanze non hanno alcun effetto sui risultati quando sono presenti nelle feci alle concentrazioni indicate:

Tums®, Antiacido (5 mg/mL), Tagamet® (5 mg/mL), Prilosec® (5 mg/mL), Mylanta®, Antiacido (1:20), Pepto-Bismol® (1:20), Solfato di bario (5%), Sangue intero (50%), Mucina (3,4%)

immunocard STAT![®]

HpSA[®] HD

**Test immunologique rapide pour la détection d'antigènes de
Helicobacter pylori dans des échantillons fécaux**

REF

750020

IVD

For Professional use only

BUT DE LA METHODE

Le test ImmunoCard STAT! HpSA HD est une méthode qualitative rapide in vitro permettant la détection d'antigènes de *Helicobacter pylori* dans les échantillons de selles humaines. La détection d'antigènes dans les selles facilite le diagnostic de l'infection à *H. pylori* et permet de démontrer l'absence d'antigènes de *H. pylori* après le traitement. Les pratiques médicales classiques préconisent de réaliser des examens selon quelque méthode que ce soit pour confirmer l'absence d'antigènes au moins quatre mois après la fin du traitement.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Helicobacter pylori a été découverte il y a plus de 20 ans par Marshall et Warren,¹ cet organisme est maintenant reconnu comme étant l'un des pathogènes les plus communs et les plus importants à l'échelle mondiale.¹ Il a été solidement établi que *Helicobacter pylori* est l'agent étiologique de la gastrite chronique, de l'ulcère peptique du lymphome du système lymphoïde des muqueuses et de l'adénocarcinome de l'estomac.²⁻⁶

Chez l'humain, la niche écologique semble se restreindre à l'estomac et au duodénum. Les patients qui hébergent cet organisme se divisent en deux groupes fondamentaux. Le premier groupe ne présente ni signe ni symptôme de troubles gastro-intestinaux et est considéré comme étant « colonisé ». Le second groupe présente des signes et des symptômes gastro-intestinaux et est considéré comme étant « infecté ». Le processus par lequel une personne devient colonisée ou infectée est encore sous étude.^{2, 3, 7-9} Plusieurs voies de transmission possibles de *Helicobacter pylori* à l'homme ont été suggérées: animaux, eau contaminée, réservoirs buccaux.¹⁰

Les tests diagnostiques recherchant *H. pylori* peuvent être classés en deux catégories: invasifs (endoscopie, biopsie) ou non invasifs (sérologie, test respiratoire à l'urée et la recherche d'antigènes spécifiques dans les selles). Au cours des tests invasifs, on pratique une biopsie des voies gastro-intestinales supérieures et l'échantillon prélevé est examiné au microscope. Le tissu est également mis en culture pour isoler *H. pylori* ou évalué au moyen d'un test rapide à l'uréase. Cette stratégie offre l'avantage de détecter une infection évolutive et possède une haute spécificité et une valeur prédictive positive élevée. Les désavantages des tests invasifs comprennent les risques et l'inconfort pour le patient et le fait qu'une colonisation peut ne pas être décelée par biopsie. La culture du matériel biopsique prend beaucoup de temps et peut produire des faux négatifs en raison des difficultés techniques qui lui sont propres.^{2, 11-14}

Le test respiratoire à l'urée (TRU) est un type non invasif qui détecte l'uréase extrêmement active de *H. pylori*. Bien que le TRU soit très sensible et spécifique, il présente plusieurs inconvénients notables. Il prend du temps, nécessite un matériel de détection spécial et exige que le patient ingère de l'urée marquée par isotope.^{2, 15, 16} Des tests sérologiques, également non invasifs, basés sur la détection des IgG dirigées contre *H. pylori* sont utiles pour le dépistage initial de patients qui présentent des infections non compliquées. Cependant ils ne permettent pas la distinction entre une exposition passée et une infection évolutive.^{5, 10, 17} Les tests de détection d'antigènes dans les selles ont été évalués sur grande échelle et ont été reconnus comme tests non invasifs précis avant et après un traitement.¹⁸⁻²⁰ Le récent *Rapport de consensus de Maastricht 4* recommande l'utilisation des tests de détection d'antigènes dans les selles et les TRU comme aides diagnostiques d'une infection par *H. pylori* en première intention.²¹

Le test ImmunoCard STAT! HpSA HD est un test immunologique rapide à flux latéral permettant la détection des antigènes de *H. pylori* dans des selles humaines.

PRINCIPE DU TEST

Le test ImmunoCard STAT! HpSA HD utilise des anticorps monoclonaux anti-*H. pylori* comme anticorps de capture et de détection. L'opérateur dépose l'échantillon fécal dilué à analyser dans l'emplacement échantillon de la carte de test. L'apparition d'une ligne rose-rouge dans la fenêtre de résultat à côté de la lettre « T » dans les 5-15 minutes d'incubation à température ambiante indique un résultat positif. Les échantillons ayant une concentration élevée d'antigènes de *H. pylori* peuvent obtenir un résultat positif après une incubation de 5 minutes. Pour détecter une faible concentration en antigènes de *H. pylori* dans les échantillons et confirmer des résultats négatifs, il faut poursuivre l'incubation pendant 10 minutes de plus.

MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

1. **Carte de test ImmunoCard STAT! HpSA HD:** bandelette chromatographique dans un boîtier en plastique emballé dans une pochette en aluminium avec un dessiccant. La bandelette porte des anticorps de capture monoclonaux anti-*H. pylori* destinés au test et des protéines animales à titre de contrôle. Les bandelettes contiennent également des anticorps anti-*H. pylori* conjugués à des particules de latex rouge et des anticorps anti-protéines conjugués à des particules de latex bleu en tant qu'anticorps de détection, servant respectivement aux tests et aux contrôles. Conserver les cassettes de test entre 2 et 8 °C entre les utilisations. Ne pas congeler.
2. **Diluant pour échantillon:** solution Tris saline tamponnée contenant albumine bovine à 1 % et détergents. De l'azide de sodium (0,095 %) est ajouté en tant que conservateur. Le diluant est fourni dans un flacon compte-gouttes en plastique à capuchon rouge muni d'un bâtonnet applicateur. Utiliser le produit fourni. Conserver entre 2 et 8 °C entre les utilisations. Le diluant pour échantillon est utilisé en tant que contrôle négatif.
3. **Contrôle positif:** suspension de *H. pylori* inactivé dans une solution saline tamponnée contenant de l'azide de sodium (0,095 %) comme conservateur. Le réactif est fourni prêt à l'emploi dans un flacon compte-gouttes en plastique. Utiliser le produit fourni. Conserver entre 2 et 8 °C entre les utilisations.
4. Pipettes de transfert de 100 µL

MATERIEL NON FOURNI

1. Gants jetables en latex qui doivent être portés durant la manipulation des échantillons fécaux considérés comme une matière biologique potentiellement dangereuse
2. Vortex pour la mise en suspension des selles dans le diluant pour échantillon (OPTIONNEL)
3. Minuteur

PRECAUTIONS

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Les échantillons de patients peuvent contenir des agents infectieux, ils doivent être manipulés et éliminés comme étant biologiquement dangereux. Le port de gants jetables est obligatoire pendant l'ensemble de la procédure.
3. Ne pas mélanger les réactifs provenant de différents numéros de lot de coffret. Ne pas utiliser les éléments du coffret au-delà de la date de péremption indiquée.
4. Examiner les pochettes en aluminium des cartes de test avant utilisation. Ne pas utiliser une carte de test dont la pochette est percée ou mal scellée. Des réactions faussement négatives peuvent survenir si les cartes de tests se trouvent endommagées à la suite d'un stockage incorrect.
5. Ne pas utiliser le diluant pour échantillon ou le contrôle positif s'ils sont troubles. La turbidité peut être un signe de contamination microbienne.
6. Manipuler le contrôle positif comme s'il était potentiellement infectieux, même s'il contient du *H. pylori* inactivé.
7. Bien suivre la méthode décrite ici sous peine d'obtenir des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.
8. Bien lire les instructions du test avant d'effectuer l'analyse.
9. Ne pas utiliser le dispositif si l'on remarque avant utilisation que sa pochette est percée.
10. Le tampon de diluant échantillon contient de l'azide de sodium en tant qu'agent antimicrobien. Éviter tout contact direct avec la peau et les muqueuses. Éliminer comme il se doit. Ne pas utiliser le tampon en présence de signes de contamination ou de précipitation.
11. Pour éviter toute contamination, conserver le tampon de diluant d'échantillon entre 2 et 8 C.
12. Ne pas manger, boire ou fumer, ni préparer ou conserver des aliments dans les espaces où les réactifs ou les échantillons sont manipulés.
13. Au terme de la procédure, nettoyer les surfaces de travail avec du savon et de l'eau et terminer la désinfection à l'aide d'une solution adaptée. Pour finir, éliminer les gants et se laver d'abord les mains avec du savon et de l'eau en se frottant vigoureusement les mains.
14. Laisser tous les composants du kit et les échantillons de selles atteindre la température ambiante avant de les utiliser. La basse température des réactifs et/ou des échantillons peut réduire la fonctionnalité du test. Il est recommandé d'attendre 20 à 30 minutes pour atteindre la température ambiante.
15. Il est très important d'ajouter le volume correct d'échantillon extrait au dispositif de réaction. Si le volume est inférieur à celui nécessaire, la chromatographie peut être incomplète du fait que l'échantillon ne parvient pas à la zone de réaction, alors que si le volume est supérieur à celui indiqué, la chromatographie peut ne pas être correctement effectuée, car l'échantillon risque de ne pas traverser la membrane du fait que sa viscosité est supérieure à celle recommandée.
16. Les produits usagés doivent être éliminés conformément à la législation en vigueur.
17. Ne pas utiliser le test si des lignes de couleur apparaissent dans la zone des résultats avant d'effectuer le test.
18. Il est très important de prélever la quantité d'échantillon adéquate: environ 50 mg pour les échantillons solides (une pastille de diamètre de 5 à 6 mm environ) ou 100 µL pour les échantillons liquides ou semi-liquides; ces quantités sont extraites dans 1 mL de diluant d'échantillon inclus dans le kit. L'ajout d'une quantité d'échantillon supérieure à 50 mg (solide) ou 100 µL (semi-solide ou liquide) peut entraîner un résultat non valide, car l'excès d'échantillon risque de restreindre le passage de l'échantillon.
19. Ne pas jeter la boîte externe du kit tant que l'ensemble de son contenu n'a pas été utilisé. La boîte externe du kit contient des informations essentielles relatives au marquage CE et aux lots de composants.
20. NE PAS UTILISER de selles dans des milieux de transport, sur des écouvillons ou mélangés à des conservateurs.

DANGER ET MISES EN GARDE

A notre connaissance, il n'y pas de risque connu associé à ce produit.

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

Conserver entre 2 et 8 °C lorsqu'il n'est pas utilisé. La durée de conservation (péremption) pour ce produit est indiquée sur l'étiquette de la boîte du kit.

REMARQUES SUR LA PROCEDURE

1. Permettre aux composants du kit et aux échantillons d'atteindre la température ambiante (20 à 26 °C) avant d'effectuer un test, puisque les réactifs et/ou les échantillons froids peuvent diminuer la sensibilité du dosage. Vingt à trente minutes peuvent être nécessaires pour que la température des réactifs augmente suite à la réfrigération.
2. Les échantillons de selles peuvent être mélangés soigneusement (indépendamment de l'homogénéité) pour garantir l'obtention d'un échantillon représentatif avant l'échantillonnage.
3. Tenir les flacons de réactifs en position verticale lors de la distribution des gouttes pour assurer une taille et une administration de gouttes cohérentes.
4. Parfois, les particules peuvent interférer avec l'écoulement de l'échantillon. Lorsque le dispositif test n'absorbe pas rapidement l'échantillon dilué, toucher doucement la partie inférieure du port de l'échantillon avec une tige d'application, en déplaçant la particule solide de selle qui pourrait empêcher l'absorption. Sinon, une nouvelle aliquote de l'échantillon peut être prélevée du diluant et retestée. Les échantillons dilués contenant une concentration importante de particules peuvent être centrifugés (1 à 5 minutes à 700 x G) ou laissés en position verticale pendant 3 à 5 minutes avant de continuer afin de laisser les particules se déposer au fond du tube à essai.

PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi. Aucune préparation n'est nécessaire.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON

NE PAS UTILISER des selles placées dans des milieux de transport, sur des écouvillons ou mélangées à des conservateurs. L'échantillon de selle doit être transporté dans un récipient étanche à l'air et conservé entre 2 et 8 °C jusqu'au moment du test. L'échantillon doit être testé le plus tôt possible, mais peut être conservé jusqu'à 72 heures entre 2 et 8 °C avant le test. Si le test ne peut être effectué dans les 72 heures, les échantillons doivent être congelés dès réception et conservés congelés (≤ -20 °C) jusqu'au moment du test. Les échantillons peuvent être congelés et décongelés deux fois. Quelle que soit leur consistance, bien mélanger les échantillons de selles avant l'analyse.

1. **Selles liquides ou semi-solides** – Dévisser le capuchon rouge du flacon de diluant pour échantillon (flacon à capuchon rouge). A l'aide d'une pipette de transfert calibrée propre (fournie avec le coffret) aspirer l'échantillon mélangé jusqu'au deuxième repère à partir de l'extrémité de la pipette (100 μ L). Ajouter l'échantillon dans le flacon de diluant pour échantillon. A l'aide de la même pipette, mélanger doucement l'échantillon dilué en pressant sur la poire de la pipette trois fois. Bien reboucher le flacon et mélanger doucement en agitant par inversion le contenu pendant 15 secondes. Alternativement mélanger en passant le flacon au vortex pendant 15 secondes. **REMARQUE : le prélèvement à la pipette de selles semi-solides doit être réalisé avec soin. L'ajout de moins de 100 μ L de selles peut entraîner un résultat faussement négatif. L'ajout de plus de 100 μ L de selles peut produire des résultats non valides du fait de la restriction du flux de l'échantillon.**



Schéma de la pipette de 100 μ L

2. **Selles moulées ou solides** – Dévisser le capuchon rouge du flacon de diluant pour échantillon (flacon à capuchon rouge). Utiliser le bâtonnet applicateur en plastique blanc fixé au capuchon rouge pour prélever une petite partie de selles (une portion de 5 à 6 mm). Transférer la portion de selles dans le flacon de diluant pour échantillon. Bien reboucher le flacon et bien mélanger en agitant par inversion le contenu pendant 15 secondes. Alternativement, mélanger en passant le flacon au vortex pendant 15 secondes. On peut également utiliser des spatules en bois pour transférer des selles solides dans le diluant pour échantillon. **REMARQUE: transférer trop peu de selles ou ne pas bien mélanger et ne pas mettre en suspension les selles dans le diluant pour échantillon peut entraîner des résultats faussement négatifs. On doit veiller à ne transférer ni plus ni moins que la quantité indiquée. L'ajout de plus de 100 µL de selles peut produire des résultats non valides du fait de la restriction du flux de l'échantillon.**

PROCEDURE DE TEST

A. Test

1. Amener toutes les cartes de tests, les réactifs et les échantillons à température ambiante (20 à 26 C) avant le test.
2. Utiliser 1 carte de test ImmunoCard STAT! HpSA HD pour chaque échantillon de patient.
3. Retirer la carte de test ImmunoCard STAT! HpSA HD de sa pochette en aluminium. Sur la carte de test se trouvent des repères indiquant où les lignes de test et de contrôle doivent apparaître. L'orifice d'échantillonnage marqué d'une flèche est la fenêtre de test où l'on ajoute l'échantillon.
4. Inscrire le nom du patient sur la carte. Préparer l'échantillon selon les instructions de la rubrique ci-dessus PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON
5. Tout en maintenant le flacon d'échantillon dilué à la verticale, tapoter doucement son culot sur la paillasse avant de poursuivre.
6. Recouvrir le haut du flacon d'échantillon dilué d'un papier absorbant pour éviter les éclaboussures.
7. Briser la pointe rouge située à l'extérieur du capuchon rouge. Ne pas briser le bâtonnet applicateur blanc se trouvant à l'intérieur du capuchon.
8. Tenir le flacon tête en bas et introduire 3 gouttes d'échantillon dilué dans l'orifice d'échantillonnage (au niveau de la flèche) du dispositif de test. Ne pas laisser l'embout du flacon toucher la carte de test.
9. Régler le minuteur sur 5 minutes et incuber le test entre 20 à 26 C.
10. Lire les résultats au bout de 5 minutes. Un résultat positif peut être rapporté; les tests négatifs DOIVENT être incubés pendant 10 minutes de plus, et lus de nouveau. Se reporter à la section INTERPRETATION DES RESULTATS ci-dessous pour une description des résultats positifs et négatifs du test.
11. Ne PAS interpréter les résultats après 15 minutes.

B. Contrôles

Les contrôles positifs et négatifs servent à montrer que tous les produits sont réactifs, spécifiques et capables de produire les résultats attendus.

1. Amener tous les réactifs de contrôle entre 20 et 26 C avant l'analyse.
2. Utiliser 1 carte de test ImmunoCard STAT! HpSA HD pour chaque contrôle positif et négatif. Inscrire sur chaque carte le nom du contrôle à doser.
3. Tenir les flacons de réactif inversés pour déposer les gouttes de réactif.
4. Ajouter 3 gouttes du contrôle positif dans l'orifice d'échantillonnage (au niveau de la flèche) d'1 dispositif. **Ne pas laisser l'embout du flacon toucher la fenêtre échantillon.**
5. Briser la pointe rouge située à l'extérieur du capuchon rouge d'un flacon de diluant non utilisé.
6. Ajouter 3 gouttes du diluant d'échantillon (contrôle négatif) dans l'orifice d'échantillonnage.
7. Régler une minuterie et incuber les tests entre 20 et 26 C pendant 15 minutes.

8. Au bout de 15 minutes, lire les résultats dans l'espace d'une minute après la fin du test.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Résultat de test négatif: Une seule bande BLEUE (ligne de contrôle) apparaît dans la fenêtre centrale de la cassette près de la lettre « C ». Ce résultat indique que les antigènes de *H. pylori* sont absents ou à une concentration inférieure au niveau de détection. Aucune autre bande n'apparaît. Le fond ne peut pas interférer avec la lecture du test.

Résultat de test positif: En plus de la bande BLEUE (ligne de contrôle), une bande ROSE-ROUGE (ligne de test) distincte apparaît également dans la fenêtre centrale de la cassette près de la lettre « T ». L'intensité de cette bande peut varier en fonction de la concentration d'antigènes dans l'échantillon. Toute bande rose-rouge, même très faible, doit être considérée comme un résultat positif. (Une ligne de test positive indique que des antigènes de *H. pylori* sont présents dans l'échantillon.) Le fond ne peut pas interférer avec la lecture du test.

Résultat de test non valide :

1. La bande BLEUE (ligne de contrôle) est absente, avec ou sans bande ROSE-ROUGE (ligne de test) décelable à l'œil.
2. Une ligne ROSE-ROUGE (ou d'une autre couleur) apparaît au niveau de la lettre « T » dans la fenêtre après 15 minutes d'incubation totale,
3. Aucune ligne de contrôle n'apparaît près de la lettre « C ». (Un test non valide (décalage ou absence de la ligne de contrôle) indique une réalisation incorrecte du test ou une détérioration des réactifs.)

S'il est difficile d'interpréter un test, refaire le test avec le même échantillon pour éliminer le potentiel d'erreur. Prélever un nouvel échantillon et tester de nouveau si l'échantillon originel donne de façon répétée des résultats non lisibles.

CONTROLE DE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

La réactivité des cartes de tests ImmunoCard STAT! HpSA HD doit être vérifiée lors de leur réception en utilisant les contrôles positifs et négatifs externes. Le nombre de tests supplémentaires à effectuer avec les contrôles externes est déterminé d'après les exigences des réglementations locales et/ou nationales ou des organismes d'accréditation.

Contrôles internes: Des contrôles internes sont contenus dans la carte de test et sont donc évalués à chaque test.

1. Une bande colorée qui apparaît au niveau de la ligne du contrôle sert de contrôle positif. Elle indique que le test a été effectué correctement, que l'échantillon a été ajouté, que la migration s'est réalisée correctement et que les réactifs étaient actifs au moment de leur utilisation.
2. Un fond clair autour des lignes de contrôle ou de test sert de contrôle négatif. Un fond qui empêche de lire les résultats rend le test non valide et indique une détérioration du réactif, une quantité inappropriée d'échantillon ou une performance incorrecte du test.

Les résultats attendus pour les contrôles sont décrits dans la section INTERPRETATION DES RESULTATS. Ne pas utiliser les cartes de test si les tests du contrôle ne produisent pas les résultats corrects. Le fait de ne pas obtenir les résultats attendus indique que les cartes de test sont défectueuses ou que le test n'a pas été effectué correctement. **Si les réactions attendues ne sont pas observées, la première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.**

Les réactifs de contrôle positif et négatif sont fabriqués dans une solution aqueuse. Bien qu'aucune interférence solution-échantillon n'ait été observée avec ce dosage, la matrice aqueuse des contrôles peut ne pas être considérée comme étant un contrôle correct des effets de la solution-échantillon.

VALEURS ATTENDUES

Des études sur l'épidémiologie de *H. pylori* ont indiqué que cet organisme est présent dans le monde entier.^{17, 22, 23} Il a été démontré que la gastrite provoquée par *H. pylori* est en corrélation avec l'âge, la descendance ethnique, la taille de la famille et la classe socio-économique.^{24, 25} La prévalence d'une infection par *H. pylori* dans une population donnée peut varier de 20 à 90 %. Cependant, chez les patients atteints d'un ulcère duodénal, la prévalence d'une telle infection s'est avérée être d'environ 80 % dans chaque groupe d'âge.¹⁷ Les traitements d'éradication actuellement recommandés ont un taux d'efficacité se situant entre 75 et 90 %.

Le test ImmunoCard STAT! HpSA HD détecte la présence d'antigènes de *H. pylori* dans les selles humaines. Il appartient à chaque laboratoire de déterminer les valeurs attendues pour une population donnée. Les taux de résultats positifs peuvent varier selon l'emplacement géographique, la méthode de recueil de l'échantillon, la manipulation et le transport, le test employé et la santé générale de la population de patients étudiée.

LIMITES DU TEST

1. Le test est de nature qualitative et ne permet pas d'interprétation quantitative. Aucune interprétation basée sur l'intensité de la ligne positive ne peut être faite lors du rendu des résultats.
2. Les résultats de test doivent être utilisés en conjonction avec les informations disponibles provenant d'études épidémiologiques, de l'évaluation clinique du patient et d'autres procédures de diagnostic.
3. Les antimicrobiens, les inhibiteurs de la pompe à protons et les préparations à base de bismuth sont connus pour leurs propriétés suppressives du *H. pylori*, et leur ingestion avant un test de détection du *H. pylori* (culture, histologie, test à l'uréase rapide, test TRU, antigène) peut donner des faux négatifs. Si un patient a ingéré ces composés dans les deux semaines précédant l'analyse avec le test ImmunoCard STAT! HpSA HD, le résultat peut donner un faux négatif. Dans ces cas-là, répéter l'analyse avec un nouvel échantillon obtenu deux semaines après l'arrêt du traitement. Un résultat positif pour un patient qui a ingéré ces composés dans les deux semaines précédant l'analyse avec le test ImmunoCard STAT! HpSA HD doit être considéré comme exact.
4. L'ajout d'une quantité insuffisante de selles au diluant pour échantillon peut entraîner un faux négatif. L'ajout d'une quantité excessive de selles peut produire des résultats de test non valides du fait de la restriction du flux de l'échantillon nécessaire.
5. L'incubation trop longue des tests peut produire des faux positifs. L'incubation des tests à une température trop froide ou pendant une durée insuffisante peut produire des résultats faux négatifs.
6. Le test ImmunoCard STAT! HpSA HD est prévu pour l'identification de *H. pylori* en détectant sa présence dans les selles humaines lorsque la charge bactérienne est supérieure ou égale au seuil de détection du test.
7. Il est important de contrôler le temps de réaction. Si le temps de réaction est inférieur à celui indiqué (15 minutes), les échantillons contenant une concentration en analytes sensiblement supérieure au seuil de sensibilité peuvent être clairement apparents, alors que les échantillons se trouvant au seuil de détection ne seront pas apparents (résultats faux négatifs). Si le temps de réaction est supérieur à 15 minutes, la sensibilité du test sera altérée et des résultats incorrects peuvent être obtenus (résultats faux positifs).

PERFORMANCE DU TEST

Deux laboratoires indépendants ont comparé les performances de l'ImmunoCard STAT! HpSA HD en parallèle avec la méthode EIA de référence, Premier Platinum HpSA PLUS (Meridian Bioscience, Inc., Cincinnati, OH). Soixante et un échantillons prospectifs (frais) et 114 échantillons rétrospectifs (congelés) ont été inclus dans l'évaluation. La Table 1 montrent les données de performances de l'ImmunoCard STAT! HpSA HD. La Table 2 liste les valeurs OD observées pour les échantillons ImmunoCard STAT! HpSA HD faussement négatifs.

Table 1. Données de performance de l' ImmunoCard STAT! HpSA HD

	ImmunoCard STAT! HpSA HD		
Premier Platinum HpSA PLUS	Positif	Négatif	Total
Positif	50	3	53
Négatif	1	121	122
Total	51	124	175
Concordance positive (IC à 95%)	94,3% (84,6 à 98,1%)		
Concordance négative (IC à 95%)	99,2% (95,5 à 99,9%)		

Table 2. Valeurs des densités optiques observées pour les échantillons ImmunoCard STAT! HpSA HD faussement négatifs

Echantillon No.	Densité Optique observée (valeur seuil 0,100)	Interpretation
64	0,117	Positif faible en EIA, juste au-dessus de la valeur seuil.
96	0,924	Positif en EIA
118	0,193	Positif faible en EIA, juste au-dessus de la valeur seuil.

SENSIBILITE ANALYTIQUE

La limite inférieure de détection de ce dosage est de 8 ng/mL dans les tests avec un antigène ultrasoniqué préparé à partir de la souche TV1970 *H. pylori*. Cette limite ne varie pas selon que les selles sont formées (solides) ou semi-solides.

REPETABILITE ET REPRODUCTIBILITE

La répétabilité de ce dosage a été déterminée en utilisant (1) échantillon naturellement négatif et (2) échantillons positifs artificiels préparés à partir de différentes concentrations de l'étalon *H. pylori*. Dix réplicats de chaque échantillon ont été testés par un technicien à la fois. La concordance des résultats était de 100 %.

Précision inter-jours: la précision inter-jours a été déterminée en préparant quatre courbes de dilution en série (courbes de sensibilité) de l'étalon *H. pylori*. Les dilutions ont été testées par le même technicien pendant quatre jours différents avec une concordance des résultats de 100 %.

Précision inter-opérateurs: la précision inter-opérateurs a été déterminée en préparant trois courbes de dilution en série (courbes de sensibilité) de l'étalon *H. pylori*. Les dilutions ont été ensuite analysées par trois techniciens le même jour avec une concordance des résultats de 100 %.

Précision inter-lots: la précision inter-lots a été déterminée en analysant les dilutions standard avec trois lots de produit différents. Les tests ont été réalisés par un technicien en un jour. La concordance des résultats était de 100 %.

REACTIONS CROISEES/SPECIFICITE DU TEST

La réactivité croisée a été évaluée en utilisant les souches bactériennes et les souches de levure suivantes. Des selles positives et négatives ont étéensemencées avec $\geq 1 \times 10^6$ de bactéries/champignon/levure. Aucun des micro-organismes testés n'a produit un résultat positif dans les selles négatives, ni interféré avec la détection des selles positives. Les selles négatives et positives ont étéensemencées avec la souche 43504 de *Helicobacter pylori*.

Campylobacter coli, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter felis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella ssp*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Shigella ssp*.

TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES

Il a été démontré que les substances suivantes n'ont aucun effet sur les résultats si elles sont présentes dans les concentrations indiquées.

Anti-acide Tums® (5 mg/mL), Tagamet® (5 mg/mL), Prilosec® (5 mg/mL), Anti-acide Mylanta® (1:20), Pepto-Bismol® (1:20), Sulfate de baryum (5 %), Sang total (50 %), Leucocytes (50 %), Mucine (3,4 %)

immunocard STAT![®]

HpSA[®] HD

**Un inmunoensayo rápido para la detección de antígenos de
Helicobacter pylori en muestras de materia fecal**

REF

750020

IVD

For Professional use only

USO INDICADO

La prueba ImmunoCard STAT! HpSA HD es un procedimiento cualitativo, rápido para la detección in vitro de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal humana. La detección de antígenos en heces tiene por finalidad ayudar a diagnosticar la infección por *H. pylori* y demostrar la pérdida de antígenos de *H. pylori* en heces después del tratamiento. En la práctica clínica convencional se recomienda realizar pruebas utilizando otros métodos para confirmar la pérdida de antígenos al menos cuatro semanas después del tratamiento.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Desde que fue descubierto por Marshall y Warren,¹ más de 20 años atrás, el *Helicobacter pylori* es reconocido como uno de los patógenos más comunes y médicamente más importantes de todo el mundo. El *Helicobacter pylori* está firmemente establecido como agente etiológico en la gastritis crónica, la afección de úlcera péptica el linfoma tisular linfóide y el adenocarcinoma gástrico asociado con la mucosa.²⁻⁶

El nicho ecológico en los seres humanos parece estar restringido al estómago y el duodeno. Los pacientes portadores del organismo se dividen en dos grupos básicos. El primer grupo no presenta señales ni síntomas de afección gastrointestinal y se considera "colonizado". El segundo grupo presenta señales y síntomas gastrointestinales y se considera "infectado". El proceso por el cual un individuo pasa a quedar colonizado o infectado está todavía bajo investigación.^{2, 3, 7-9} Se han sugerido muchas posibles rutas de transmisión del *Helicobacter pylori* a los seres humanos como los animales, el agua y los reservorios orales contaminados.¹⁰

Las pruebas diagnósticas para *H. pylori* pueden categorizarse como invasivas (endoscopia, biopsia) o no invasivas (serología, pruebas de urea de aliento y de antígenos en la materia fecal). En las pruebas invasivas, se hace una biopsia del tracto gastrointestinal superior y se examina microscópicamente. El tejido es también cultivado en busca de *H. pylori* o evaluado mediante el ensayo de ureasa rápida. Esta estrategia ofrece la ventaja de detectar una infección activa, tiene alta especificidad y alto valor de predicción positiva. Las desventajas de las pruebas invasivas incluyen riesgo e incomodidad para el paciente, y la posible colonización en sitios no alcanzados por la biopsia. El cultivo de la biopsia lleva mucho tiempo y puede dar resultados falsos negativos debido a inherentes dificultades técnicas.^{2, 11-14}

La prueba de urea de aliento (UBT por sus iniciales en Inglés) es un tipo de prueba no invasiva que detecta la ureasa producida por *H. pylori*. Aunque la prueba de UBT es sumamente sensitiva y específica, tiene una cantidad considerable de inconvenientes: toma mucho tiempo, requiere equipo especializado de detección e implica para el paciente la ingestión de urea marcada con isótopos.^{2, 15, 16}

Las pruebas serológicas, igualmente no invasivas, basadas en la detección de IgG contra *H. pylori* son útiles para la selección primaria de los pacientes que presentan infecciones no complicadas, pero no hacen la distinción entre exposición anterior e infección activa.^{5, 10, 17} La prueba de antígenos en la materia fecal ha sido ampliamente evaluada y aceptada como una prueba de precisión, no invasiva para antes y después del tratamiento.¹⁸⁻²⁰ El reciente Informe del Consenso Maastricht 4 recomienda el uso de pruebas de antígeno en materia fecal y pruebas de UBT como auxiliares en el diagnóstico de *H. pylori* en el ámbito de la atención primaria.²¹

La prueba ImmunoCard STAT! HpSA HD es un inmunoensayo rápido de flujo lateral para la detección de antígenos de *H. pylori* en la materia fecal humana.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

La prueba ImmunoCard STAT! HpSA HD utiliza un anticuerpo monoclonal anti-*H. pylori* como anticuerpo de detección y captura. Se dispensa una muestra diluida de materia fecal del paciente en el puerto de muestra del Dispositivo de ensayo y, dentro de los 5-15 minutos de incubación a temperatura ambiente, la aparición de una línea de color rosa-rojo en la ventana contigua a la letra "T" indica un resultado positivo. Las muestras con alta concentración de antígenos de *H. pylori* pueden mostrar resultados positivos después de un tiempo de incubación de 5 minutos. La detección en muestras con baja concentración de antígenos de *H. pylori* y la confirmación de resultados negativos exigen 10 minutos adicionales de incubación.

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.

1. **Dispositivo de la prueba ImmunoCard STAT! HpSA HD:** una tira cromatográfica alojada en un soporte plástico y envuelta en una bolsa de aluminio con un desecante. La tira contiene el anticuerpo monoclonal de captura anti-*H. pylori* para la prueba y una proteína animal para control. Las tiras contienen también anti-*H. pylori* conjugado con látex rojo y anti-proteína conjugada con látex azul como anticuerpos detectores para prueba y controles, respectivamente. Almacene los dispositivos a una temperatura de 2-8 C cuando no estén en uso. No lo congele.
2. **Diluyente de Muestra:** Una solución Tris tamponada con albúmina bovina al 1 % y detergentes. Se añade ázida sódica (0,095 %) como conservante. El Diluyente de Muestra se suministra en un frasco de tapa roja cuentagotas de plástico con una punta aplicadora. Almacene a una temperatura de 2-8 C cuando no esté en uso. El diluyente para la muestra se utiliza como control negativo.
3. **Control positivo:** una suspensión de *H. pylori* inactivada en una solución salina tamponada que contiene ázida sódica (0,095%) como agente preservante. El reactivo se suministra con cuentagotas de plástico listo para usar. Almacene a una temperatura de 2-8 C cuando no esté en uso.
4. Pipetas de transferencia de 100 µL.

MATERIALES NO SUMINISTRADOS

1. Guantes de látex descartables que deben usarse durante el manejo de las muestras de materias fecales, ya que éstas son consideradas como material con potencial de riesgo biológico.
2. Agitador mecánico (Vortex®) para efectuar la suspensión de la materia fecal en el Diluyente para Muestra (OPCIONAL)
3. Cronómetro de intervalos.

PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. Las muestras de materia fecal de los pacientes pueden contener agentes infecciosos y deben ser manejadas y descartadas como materiales con riesgo biológico. Es necesario utilizar guantes desechables durante todo el procedimiento.
3. No intercambie reactivos pertenecientes a lotes de equipos con números distintos. No utilice ningún componente del equipo más allá de la fecha de caducidad que consta en la etiqueta del equipo.
4. Inspeccione los Dispositivos de ensayo antes de sacarlos de la bolsa de aluminio. No utilice Dispositivos de ensayo que tengan agujeros en la bolsa de aluminio o si la bolsa no está completamente sellada. El deterioro de los Dispositivos de ensayo debido a su almacenamiento inadecuado puede dar lugar a resultados negativos falsos.
5. No utilice el Diluyente de Muestra o el Control Positivo si están turbios. La turbidez puede ser una señal de contaminación microbiana.
6. Manipule el control positivo como si fuera potencialmente infeccioso, aunque contenga *H. pylori* inactivado.
7. No se desvíe del método descrito aquí ya que puede obtener resultados falsos positivos o falsos negativos.
8. Debe leer las instrucciones de como ejecutar la prueba completamente antes de correr la prueba.
9. No debe usar el dispositivo de prueba si la bolsa está perforada antes de usarse.
10. El tampón del diluyente para la muestra contiene azida sódica como agente antimicrobiano. Evite el contacto directo con la piel y las membranas mucosas. Deseche el producto adecuadamente. No utilice el tampón si se observan signos de contaminación o precipitación.
11. Para evitar la contaminación, el tampón de diluyente para la muestra se debe almacenar a 2-8 C.
12. No se debe comer, beber, fumar ni preparar o conservar comida en zonas donde se manipulen reactivos o muestras.
13. Una vez concluido el procedimiento, limpie la superficie de trabajo con agua y jabón y desinféctela con una solución apropiada. Por último, deseche los guantes y lávese las manos con agua y jabón frotándose las vigorosamente.
14. Antes de utilizarse, los componentes del kit y las muestras de heces deben alcanzar la temperatura ambiente. Procesar los reactivos y/o las muestras en frío puede afectar al funcionamiento de la prueba. Se recomienda esperar de 20 a 30 minutos para que alcancen la temperatura ambiente.
15. Es muy importante agregar el volumen correcto de la muestra extraída en el dispositivo de reacción. Si se agrega menos cantidad de la necesaria, la cromatografía podría no completarse, dado que la muestra no alcanzará la zona de reacción, mientras que si se agrega más volumen del necesario, la cromatografía podría no ejecutarse correctamente, ya que es poco probable que la muestra fluya a través de la membrana por ser más viscosa de lo recomendado.
16. El producto utilizado debe desecharse conforme a la legislación vigente.
17. No utilice la prueba si aparecen líneas de color en la zona de resultados antes del procesamiento.

18. Es muy importante obtener una cantidad de muestra adecuada: unos 50 mg de muestra sólida (una pequeña bolita de aproximadamente 5-6 mm de diámetro) o 100 µL de muestra líquida o semisólida; estas cantidades deben extraerse en 1 mL del diluyente para la muestra que se incluye con el kit. Agregar más de 50 mg (muestra sólida) o 100 µL (muestra semisólida o líquida) de heces puede producir resultados no válidos, ya que el exceso de muestra puede restringir su flujo.
19. No deseche la caja externa del kit hasta que se haya utilizado todo el contenido. La caja externa contiene información esencial sobre las marcas de CE y los lotes de los componentes.
20. NO UTILICE heces conservadas en medios de transporte o hisopos, ni mezcladas con conservantes.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

Almacene el equipo a una temperatura de 2 a 8 C cuando no lo use. La vida de almacenamiento (caducidad) de este producto se indica en la etiqueta de la caja del equipo.

NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

1. Deje que los componentes del equipo y las muestras alcancen la temperatura ambiente (20 a 26 C) antes de realizar una prueba, ya que los reactivos o las muestras frías pueden reducir la sensibilidad del ensayo. Los reactivos pueden tardar de 20 a 30 minutos en calentarse tras haber estado refrigerados.
2. Las muestras de heces se deben mezclar bien (sin que importe la consistencia) para garantizar una muestra representativa antes de obtener la muestra.
3. Sujete los viales de reactivo en posición vertical cuando dispense las gotas para garantizar que el tamaño de las gotas y la administración es uniforme.
4. En ocasiones, el material particulado puede interferir con el flujo de la muestra. En los casos en que los dispositivos de prueba no absorban rápidamente la muestra diluida, toque suavemente la parte inferior del pocillo de la muestra con un aplicador, moviendo las partículas fecales sólidas que podrían estar impidiendo la absorción. Otra alternativa es remover una nueva alícuota de la muestra del diluyente y repetir la prueba. Muestras diluidas que contienen una concentración alta de partículas pueden ser centrifugadas (1-5 minutos a 700 x G) o se les puede permitir que descansen por 3-5 minutos antes de proceder con la prueba de manera que le dé oportunidad a las partículas a que se precipiten al fondo del tubo de prueba.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Los reactivos se suministran listos para su uso. No se necesita preparación alguna.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

NO USE muestras de heces en medio de transporte, hisopos o mezcladas con preservantes.

Las muestras deben ser transportadas en envases herméticos y almacenadas a una temperatura de 2-8 C hasta el momento de realizar la prueba. La muestra debe analizarse lo más pronto posible, pero puede haber un periodo de espera de hasta 72 horas conservando la muestra a una temperatura de 2-8 C. Si no se puede efectuar la prueba dentro de este plazo, será preciso congelar las muestras inmediatamente después de recibidas y conservarlas congeladas (≤ -20 C) hasta que se realice el test. La muestra puede ser congelada y descongelada dos veces. Mezcle la muestra de heces completamente (sin importar la consistencia) antes de correr la prueba.

1. **Muestras líquidas o semi-líquidas.** Quite la tapa roja del vial de Diluyente de Muestra. Utilizando una pipeta calibrada limpia (incluida en el equipo), aspire la muestra que ha sido mezclada hasta la segunda marca desde la punta (100 μ L). Dispense la muestra en el vial de Diluyente de Muestra. Utilizando la misma pipeta, aspire suavemente y dispense la suspensión de heces repitiendo tres veces para mezclar bien. Devuelva la tapa al vial asegurándose de que cierra bien y mezcle completamente, pero de forma gentil al girar el vial por 15 segundos. Alternamente, se puede usar un agitador mecánico (Vortex) por 15 segundos. **NOTA: debe procederse con cuidado al pipetear materia fecal semi-sólida. La adición de menos de 100 μ L de materia fecal puede causar un resultado falso negativo. La adición de más de 100 μ L de materia fecal puede ocasionar resultados inválidos debido a que la muestra no fluye apropiadamente.**



Figura de la pipeta de 100 μ L

2. **Materia fecal formada / sólida.** Quite la tapa roja del vial de Diluyente de Muestra. Utilizando el aplicador blanco plástico que está en la tapa roja obtenga una pequeña porción de heces (una bolita de 5-6 mm). Transfiera la muestra al vial que contiene el Diluyente de Muestra. Tape el vial asegurándose de que cierra bien y mezcle completamente, pero de forma gentil al girar el vial por 15 segundos. Alternamente, se puede usar un agitador mecánico (Vortex) por 15 segundos. También se pueden usar aplicadores de madera para transferir materia fecal sólida al Diluyente de Muestra. **NOTA: la transferencia de una cantidad demasiado pequeña de materia fecal, o el no mezclar y suspender completamente la materia fecal en el Diluyente de Muestra puede dar lugar a falsos negativos como resultados. Se debe tener cuidado de no transferir ni más ni menos de la cantidad indicada. La adición de más de 100 μ L de materia fecal puede invalidar el resultado debido a que la muestra no fluye apropiadamente.**

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

A. Prueba

1. Antes de correr la prueba, permita que todos los Dispositivos de ensayo, los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (20-26 C).
2. Utilice 1 Dispositivo de ensayo ImmunoCard STAT! HpSA HD por cada muestra del paciente.
3. Retire el Dispositivo de ensayo ImmunoCard STAT! HpSA HD de la bolsa de aluminio. El dispositivo está marcado para indicar donde aparecerá la línea de "test" y control. Sostenga el frasco boca abajo y vierta 3 gotas de la muestra diluida en el puerto de muestreo (en la flecha) del dispositivo de prueba.
4. Marque el dispositivo con el nombre del paciente. Prepare la muestra de acuerdo con las instrucciones descritas arriba en la sección Recolección y Preparación de Muestras.
5. Aguante el vial con la muestra diluida en forma vertical y golpee ligeramente en el tope antes de proceder.
6. Cubra la parte de arriba del vial con papel absorbente para evitar salpicadura.
7. Remueva la punta roja de arriba de la tapa del vial (No rompa el aplicador blanco que queda dentro de la tapa.)
8. Sostenga el frasco boca abajo y vierta 3 gotas de la muestra diluida en el puerto de muestreo (en la flecha) del dispositivo de prueba.
9. Inicie el cronómetro e incube la prueba a 20-26 C por 5 minutos.

10. Pasados los 5 minutos, lea los resultados. Los resultados positivos pueden informarse. En caso de resultados negativos, la muestra DEBE incubarse otros 10 minutos para después proceder a su lectura. Vea la sección de INTERPRETACION DE RESULTADOS para la descripción de los resultados positivos y negativos.
11. NO interprete los resultados después de los 15 minutos.

B. Controles

Los controles Positivos y Negativos están diseñados para demostrar que los reactivos están activos, son específicos y capaces de producir los resultados esperados.

1. Antes de correr la prueba, permita que todos los reactivos de control alcancen la temperatura ambiente (20-26 C).
2. Use 1 dispositivo de prueba ImmunoCard STAT! HD para cada Control Positivo y Negativo. Marque cada dispositivo con el Control correspondiente.
3. Aguante el vial invertido verticalmente para añadir los Controles.
4. Añada 3 gotas de control positivo en el puerto de muestreo (en la flecha) de un dispositivo.. **No toque la punta del gotero al dispositivo.**
5. Remueva la punta roja de arriba de la tapa de un vial de Diluyente de Muestra.
6. Dispense 3 gotas del diluyente de la muestra (control negativo) en el puerto de muestreo.
7. Utilice un cronómetro e incube las muestras a 20-26 C durante 15 minutos.
8. Después de 15 minutos, lea los resultados antes de que transcurra 1 minuto del final de la prueba.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultado negativo: Sólo aparece una línea AZUL (Línea de Control) en la ventana del dispositivo contigua a la letra "C". (Un resultado negativo indica que no hay antígenos de *H. pylori* o que están a un nivel por debajo de lo detectable.) Ninguna otra banda debe ser observada. El trasfondo no debe interferir con la lectura de la prueba.

Resultado positivo: Además de la línea AZUL (Línea de Control), aparece también una línea de color ROSA-ROJA (Línea de Resultado) en la ventana del dispositivo contiguo a la letra "T". La intensidad de la línea variará según la concentración del antígeno en la muestra. Toda línea rosa-roja, por más débil que sea, deberá ser considerada como un resultado positivo. (Un resultado positivo indica la presencia de antígenos de *H. pylori* en la muestra.) El trasfondo no debe interferir con la lectura de la prueba.

Resultados inválidos:

1. Si la línea AZUL (línea de Control) no aparece, con o sin la línea ROSA-ROJA (Línea de Resultado).
2. Aparecerá una banda ROSA-ROJA en la letra "T" de la ventana después de 15 minutos de incubación total, o una línea en dicha posición de otro color que no sea rosa o rojo.
3. Si no aparece la línea de control en la ventana del dispositivo contigua a la letra "C". (La prueba es inválida ya que la ausencia de la línea de control indica que la prueba fue corrida inapropiadamente o ha ocurrido deterioro de los reactivos).

Si alguna prueba es difícil de interpretar, la prueba debe ser repetida con la misma muestra para eliminar el potencial de error. Si la muestra original repetidamente produce resultados no interpretables, debe obtener una muestra nueva.

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

La reactividad de los Dispositivos de Ensayo ImmunoCard STAT! HpSA HD deberán ser verificadas en el momento de recibirlos, utilizando los Controles Positivos y Negativos externos que se proveen en el equipo. El número de pruebas adicionales realizados con los controles externos estará determinado por los requisitos de reglamentación local, estatal, y/o nacional y/o de las instituciones acreditadoras.

Controles Internos: Cada Dispositivo de Prueba contiene controles internos, por lo tanto, estos son evaluados con cada prueba.

1. Una línea de color que aparece en la línea de control sirve de control positivo e indica que la prueba se realizó correctamente, que la muestra fue añadida, que ésta fluyó apropiadamente y que los reactivos de la prueba estaban activos en el momento en que fueron usados.
2. Un fondo claro alrededor de las líneas de control o de "Test" sirve como control negativo. Un fondo que oscurece la lectura de los resultados invalida la prueba e indica deterioro de reactivo, muestra inapropiada o un funcionamiento inapropiado de la prueba.

Los resultados que se espera obtener de los Controles se describen en la sección INTERPRETACIONES DE LOS RESULTADOS. Los Dispositivos de Prueba no deberán ser usados si las pruebas de control no producen los resultados correctos. El no obtener resultados correctos indica que los Dispositivos de Prueba son defectuosos o que la prueba no fue efectuada correctamente. **Si los resultados esperados para el control no son observados, repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.**

Los reactivos de Control Positivo y Control Negativo son fabricados en una matriz de solución acuosa. A pesar de que en esta prueba no se ha observado interferencia matriz-muestra, la matriz acuosa de los controles puede no controlar apropiadamente los efectos de la matriz-muestra.

VALORES ESPERADOS

Los estudios sobre la epidemiología del *H. pylori* han mostrado que este organismo está presente en todo el mundo.^{17, 22, 23} Se ha señalado la correlación entre la gastritis causada por el *H. pylori* y la edad, el origen étnico, el tamaño de la familia y la clase socioeconómica.^{24, 25} La prevalencia infecciosa del *H. pylori* en una población dada puede fluctuar entre 20% y 90%. Sin embargo, en los pacientes diagnosticados con úlcera duodenal, la presencia demostrada en todos los grupos etarios es de 80%.¹⁷ Los tratamientos de erradicación que se recomiendan actualmente tienen una tasa de eficacia de 75% a 90%.

La prueba de ImmunoCard STAT! HpSA HD detecta la presencia de antígenos de *H. pylori* en materias fecales humanas. Los valores esperados para cada población deberán ser determinados para cada laboratorio. La tasa de positivos puede variar según la situación geográfica, el método de recolección, manejo y transporte de las muestras, el tipo de prueba efectuada y el ambiente sanitario general de la población de pacientes en estudio.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La prueba es cualitativa y no debe realizarse ninguna interpretación cuantitativa con respecto a la intensidad de la línea positiva, cuando se comuniquen los resultados.
2. Los resultados de la prueba deben utilizarse junto con los resultados de estudios de epidemiología, la evaluación clínica del paciente y otros procedimientos de diagnóstico.
3. Se sabe que los antibióticos, los inhibidores de la bomba de protón, y las preparaciones de bismuto inhiben al *H. pylori* y la ingestión de estos antes de la prueba para la presencia de *H. pylori* (cultivo, histología, ensayo rápido de la ureasa, UBT, ensayo de detección de antígenos) pueden dar como resultados falsos negativos. Si el paciente ha ingerido uno de estos compuestos dentro de dos semanas antes de correr la prueba de ImmunoCard STAT! HpSA HD, este puede dar resultados falsos negativos. En tales casos, se repetirá el ensayo sobre una nueva muestra obtenida dos semanas después de haber terminado el tratamiento. Un resultado positivo para un paciente que ha ingerido estos compuestos dentro de las dos semanas anteriores a la realización de la prueba de ImmunoCard STAT! HpSA HD deberá considerarse correcto.
4. Si no se agrega una cantidad suficiente de materia fecal al Diluyente de Muestra, podrá obtenerse un resultado falso negativo. La adición de una cantidad excesiva puede dar resultados inválidos debido a la inhibición del flujo de la muestra.

- La sobre-incubación puede conducir a resultados falsos positivos de la prueba. La incubación a temperaturas menores o tiempos reducidos puede conducir a resultados falsos negativos.
- La prueba ImmunoCard STAT! HpSA HD está indicada para identificar el *H. pylori* detectando su presencia en heces humanas si la carga bacteriana es igual o mayor que el límite de detección del ensayo.
- Es importante controlar el tiempo de reacción. Si el tiempo de reacción es menor que el indicado (15 minutos), las muestras con una concentración de analito significativamente mayor que el límite de sensibilidad se verán con claridad; sin embargo, las muestras que se encuentren en el límite de detección no aparecerán (falsos negativos). Si el tiempo de reacción es mayor que 15 minutos, la sensibilidad de la prueba se verá afectada y podrían obtenerse resultados incorrectos (falsos positivos).

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Dos laboratorios independientes compararon el funcionamiento de la prueba ImmunoCard STAT! HpSA HD en paralelo con el método de referencia de ELISA, Premier Platinum HpSA PLUS (Meridian Bioscience, Inc. Cincinnati, OH). Sesenta y una muestras prospectivas (frescas) y 114 muestras retrospectivas (congeladas) fueron incluidas en la evaluación. La Tabla 1 provee los datos de funcionamiento para ImmunoCard STAT! HpSA HD. La Tabla 2 lista las lecturas de DO para falsos negativos de ImmunoCard STAT! HpSA HD.

Tabla 1. Datos de funcionamiento para ImmunoCard STAT! HpSA HD

Premier Platinum HpSA PLUS	ImmunoCard STAT! HpSA HD		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	50	3	53
Negativo	1	121	122
Total	51	124	175
Concordancia Positivo (95% CI)	94,3% (84,6 to 98,1%)		
Concordancia Negativo (95% CI)	99,2% (95,5 to 99,9%)		

Tabla 2. Lectura de DO por ELISA para muestras Falsos-Negativos por ImmunoCard STAT! HpSA HD

Muestra No.	Lectura de DO (corte 0.100)	Interpretación
64	0,117	ELISA pos. débil; justo arriba del corte negativo
96	0,924	ELISA pos
118	0,193	ELISA pos. débil; justo arriba del corte negativo

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El límite de detección inferior de esta prueba es de 8 ng/mL de antígeno sonicado preparado de la cepa TN1970 de *H. pylori*. Este límite no varía en muestras de materia fecal sólida (formada) a semi-sólida.

REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad de este ensayo se determinó usando (1) una muestra natural negativa y (2) muestras positivas artificiales preparadas a partir de distintas concentraciones del estándar de *H. pylori*. Un operador probó diez réplicas de cada muestra en un día. La concordancia de los resultados fue del 100 %.

Precisión entre los días: La precisión entre los días se determinó preparando cuatro curvas de dilución en serie (curvas de sensibilidad) del estándar de *H. pylori*. Las diluciones las probó el mismo operador en cuatro días distintos con una concordancia en los resultados del 100 %.

Precisión entre operadores: La precisión entre operadores se determinó usando tres diluciones en serie (curvas de sensibilidad) del estándar de *H. pylori*. A continuación, tres operadores analizaron las diluciones en el mismo día con una concordancia de los resultados del 100 %.

Precisión entre lotes: La precisión entre lotes se determinó analizando las disoluciones estándar con tres lotes distintos de producto. Las pruebas las realizó un operador en un día. La concordancia de los resultados fue del 100 %.

REACTIVIDAD CRUZADA/ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA

La reactividad cruzada se evaluó utilizando las siguientes cepas bacterianas y de levadura. A las heces positivas y negativas se les añadió $\geq 1 \times 10^6$ de bacteria/hongo/levadura. Ninguno de los microorganismos probados arrojó un resultado positivo en heces negativas o interfirió en la detección de una hez positiva. Tanto las heces positivas como las negativas fueron positivas cuando se les añadió la cepa 43504 de *H. pylori*.

Campylobacter coli, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter felis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella ssp*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Shigella ssp*

PRUEBAS PARA SUSTANCIAS INTERFERENTES

Se encontró que las siguientes sustancias no tenían ningún efecto sobre los resultados cuando estaban presentes en la materia fecal a las concentraciones indicadas:

Tums® Antiácido (5 mg/mL), Tagamet® (5 mg/mL), Prilosec® (5 mg/mL), Milanta® Antiácido (1:20), Pepto-Bismol® (1:20), Sulfato de bario (5%), Sangre total (50%), Leucocitos (50%), Mucina (3,4%)

immunocard STAT![®]

HpSA[®] HD

**Schneller Immunoassay zum Nachweis von
Helicobacter pylori-Antigenen in Stuhlproben**

REF

750020

IVD

For Professional use only

VERWENDUNGSZWECK

Der ImmunoCard STAT! HpSA HD Test bietet eine schnelle, qualitative In-vitro-Methode zum Nachweis von *Helicobacter pylori*-Antigenen in menschlichen Stuhlproben. Der Nachweis von Antigenen in Stuhlproben dient zur Unterstützung der Diagnose von Infektionen mit *H. pylori* und soll den Rückgang von *H. pylori*-Antigenen im Stuhl nach einer Behandlung nachweisen. In der herkömmlichen medizinischen Praxis wird die Durchführung jeglicher Tests zur Bestätigung des Rückgangs eines Antigens frühestens vier Wochen nach Therapieende empfohlen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Seit seiner Entdeckung vor mehr als 20 Jahren durch Marshall und Warren,¹ ist *Helicobacter pylori* jetzt als eines der weltweit häufigsten und medizinisch wichtigsten Pathogene bekannt. Es ist mit Sicherheit erwiesen, dass *Helicobacter pylori* als Krankheitserreger einer chronischer Gastritis und Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüren beteiligt sowie assoziiert ist mit Lymphomen im Lymphgewebe der Magenschleimhaut und dem Adenokarzinom des Magens.²⁻⁶

Beim Menschen scheint seine ökologische Nische auf Magen und Zwölffingerdarm beschränkt zu sein. Bei Patienten, die den Organismus beherbergen, unterscheidet man zwei Hauptgruppen. Die erste Gruppe hat keine Anzeichen oder Symptome einer Magen-Darmerkrankung und wird als „kolonisiert“ betrachtet. Die zweite Gruppe weist Anzeichen und Symptome einer Magen-Darm-Erkrankung auf und gilt als „infiziert“. Der Prozess, durch den eine Person kolonisiert oder infiziert wird, ist noch nicht geklärt.^{2, 3, 7-9} Es wurden zahlreiche Möglichkeiten der Übertragung von *Helicobacter pylori* auf den Menschen ins Auge gefasst, wie z.B. Tiere, kontaminiertes Wasser und die Mundhöhle als Reservoir.¹⁰

Diagnostische Tests auf *H. pylori* können als invasiv (Endoskopie, Biopsie) bzw. nicht-invasiv (Serologie, Harnstoff-Atemtest und Stuhl-Antigentest) kategorisiert werden. Bei invasiven Tests wird eine Biopsieprobe aus dem oberen Magen-Darm-Trakt entnommen und mikroskopisch untersucht. Das Gewebe wird für das Anlegen von *H. pylori*-Kulturen herangezogen oder im Urease-Schnelltest geprüft. Diese Vorgehensweise hat den Vorteil, dass aktive Infektionen nachweisbar sind, und zeichnet sich durch eine hohe Spezifität und einen hohen positiven Vorhersagewert aus. Nachteile der invasiven Tests sind u.a. Risiko und Unannehmlichkeit für den Patienten und stellenweise Kolonisierung, die bei der Biopsie nicht erfasst wird. Das Anlegen von Kulturen des Biopsiematerials ist zeitaufwändig und kann durch inhärente technische Schwierigkeiten falsch-negative Ergebnisse erbringen.^{2, 11-14}

Der Harnstoff-Atemtest (UBT) stellt eine nicht-invasive Diagnostikmethode für den Nachweis der sehr aktiven *H. pylori*-Urease dar. Obwohl der Harnstoff-Atemtest äußerst empfindlich und spezifisch ist, hat er auch eine Reihe erheblicher Nachteile. Der Harnstoff-Atemtest ist zeitaufwändig, erfordert besondere Nachweisgeräte und macht die Einnahme isotopisch markierten Harnstoffs seitens des Patienten notwendig.^{2, 15, 16} Ebenfalls nicht-invasive serologische Tests, die auf dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* beruhen, eignen sich für ein primäres Screening von Patienten mit Anzeichen unkomplizierter Infektionen, ermöglichen jedoch keine Differenzierung zwischen einer früheren Exposition und einer aktiven Infektion.^{5, 10, 17} Der Stuhl-Antigentest ist gründlich erforscht und als genauer, nicht-invasiver Test für den Einsatz vor und nach der Behandlung anerkannt.¹⁸⁻²⁰ Der kürzlich erschienene „Maastricht 4 Consensus Report“ empfiehlt den Einsatz von Stuhl-Antigentests und Harnstoff-Atemtests zur Unterstützung der Diagnose einer *H. pylori*-Erkrankung in der ärztlichen Praxis.²¹

ImmunoCard STAT! HpSA HD ist entwickelt worden, um *H. pylori* Antigen in menschlichem Stuhl nachzuweisen.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Der ImmunoCard STAT! HpSA HD Test ist ein schneller Immunoassay mit lateraler Flussrichtung, der monoklonale Anti-*H. pylori*-Antikörper als Erfassungs- und Nachweis-Antikörper verwendet. Eine verdünnte Stuhlprobe des Patienten wird in die Probenöffnung der Testvorrichtung gegeben. Erscheint innerhalb der 5-15-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur eine rosarote Linie im Ablesefenster neben dem Buchstaben T, ist das Ergebnis positiv. Proben mit einer hohen Konzentration des *H. pylori*-Antigens können nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten ein positives Ergebnis zeigen. Zum Nachweis bei Proben mit niedriger Konzentration des *H. pylori*-Antigens sowie zur Bestätigung negativer Ergebnisse bedarf es einer zusätzlichen Inkubationszeit von 10 Minuten.

REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

1. **ImmunoCard STAT! HpSA-HD-Testvorrichtung:** Ein in einem Kunststoffrahmen befindlicher chromatografischer Teststreifen, in einem verschlossenen Folienbeutel mit Trockenmittel. Auf dem Streifen befinden sich monoklonale Anti-*H. pylori*-Erfassungsantikörper für den Test und ein tierisches Protein als Kontrolle. Außerdem enthalten die Streifen an rote Latexpartikel konjugiertes Anti-*H. pylori* und an blaue Latexpartikel konjugiertes Anti-Protein als Nachweisantikörper für den Test bzw. die Kontrolle. Die Testvorrichtungen bis zur Verwendung bei 2-8 °C lagern. Nicht einfrieren.
2. **Probendiluent:** Eine gepufferte Tris Salzlösung mit 1% bovinem Albumin und Detergenzien. Natriumazid (0,095%) ist als Konservierungsmittel hinzugefügt. Der Probenverdünnungspuffer wird in einem mit roten Deckel versehenen Tropffläschchen aus Kunststoff mit einem Applikator geliefert. Wie geliefert verwenden. Bis zur Verwendung bei 2-8 °C lagern. Der Probenverdünnungspuffer wird als Negativkontrolle verwendet.
3. **Positive Kontrolle:** Eine Suspension von inaktiviertem *H. pylori* in einer ausgewogenen Salzlösung mit Natriumazid (0,095%) als Konservierungsmittel. Das Reagenz wird gebrauchsfertig in einem Tropffläschchen aus Plastik geliefert. Wie geliefert verwenden. Bis zur Verwendung bei 2-8 °C lagern.
4. 100 µL-Transferpipetten

NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Einmal-Handschuhe aus Latex, die beim Umgang mit den Stuhlproben getragen werden sollten, da derartige Proben potenziell biogefährlich sind
2. Vortexer für das Suspensieren der Stuhlproben im Probendiluent (OPTIONAL)
3. Intervallzeitgeber

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Patientenproben können Krankheitserreger enthalten und sind daher als potenziell biogefährliche Substanzen zu handhaben und zu entsorgen. Während des gesamten Verfahrens sind Einweghandschuhe zu tragen.
3. Reagenzien verschiedener Kit-Chargennummern nicht gegeneinander austauschen. Kitkomponenten nicht über das in der Kitkennzeichnung angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
4. Prüfen Sie die Testvorrichtung auf Schäden bevor Sie die Schutzfolie entfernen. Testvorrichtungen deren Folienbeutel Löcher aufweisen bzw. deren Folienbeutel nicht vollständig verschlossen sind, nicht verwenden. Der Verfall unsachgemäß gelagerter Teststreifen kann zu falsch-negativen Reaktionen führen.
5. Den Probenverdünnungspuffer oder die positive Kontrolle nicht verwenden, falls sie trübe aussehen. Trübheit kann ein Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination sein.
6. Die positive Kontrolle als potenziell infektiös handhaben, obwohl sie inaktiviertes *H. pylori* enthält.
7. Weichen Sie nicht von der hier beschriebenen Methode ab. Denn dies kann zu falsch-positiven bzw. falsch-negativen Ergebnissen führen.
8. Die Gebrauchsanleitungen sind vor jeder Testdurchführung gründlich durchzulesen.
9. Verwenden Sie die Testvorrichtungen nicht, wenn die Folie vor der Verwendung durchstoßen wurde.
10. Als antimikrobiellen Wirkstoff enthält der Probenverdünnungspuffer Natriumazid. Vermeiden Sie direkten Kontakt mit Haut und Schleimhäuten. Sorgen Sie für eine ordnungsgemäße Entsorgung. Verwenden Sie den Puffer nicht, wenn er Zeichen von Kontamination oder Präzipitation aufweist.
11. Zur Vermeidung einer Kontamination lagern Sie den Probenverdünnungspuffer bei 2-8 C.
12. In Bereichen, in denen Reagenzien oder Proben bearbeitet werden, darf weder gegessen, getrunken, geraucht noch Essen vorbereitet oder aufbewahrt werden.
13. Nach Abschluss des Verfahrens reinigen Sie die Arbeitsoberflächen mit Seife und Wasser und desinfizieren Sie abschließend mit einer geeigneten Lösung. Zum Schluss entsorgen Sie die Handschuhe und waschen Sie zuerst die Hände durch kräftiges Aneinanderreiben mit Seife und Wasser.
14. Alle Kitkomponenten und Stuhlproben sollten vor ihrer Verwendung Raumtemperatur erreicht haben. Kalte Reagenzien und/oder Proben können die Funktionalität des Tests beeinträchtigen. Zum Erreichen der Raumtemperatur werden 20 bis 30 Minuten empfohlen.
15. Es ist sehr wichtig, der Reaktionsvorrichtung die richtige Menge der extrahierten Probe hinzuzufügen. Wird eine geringere Menge als erforderlich verwendet, kann die Chromatographie möglicherweise nicht vollständig erfolgen, da die Probe nicht die Reaktionsfläche erreicht. Ist die Menge hingegen höher als angegeben, kann die Chromatographie möglicherweise nicht korrekt ausgeführt werden, weil die Probe aufgrund einer höheren als der empfohlenen Viskosität die Membran nicht passiert.
16. Verwendete Produkte sollten gemäß den geltenden Vorschriften entsorgt werden.
17. Verwenden Sie den Test nicht, wenn vor der Durchführung des Tests im Ergebnisbereich farbige Linien erscheinen.
18. Die Entnahme einer geeigneten Probenmenge ist sehr wichtig: etwa 50 mg bei festen Proben (ein kleines Pellet mit einem Durchmesser von etwa 5-6 mm) oder 100 µL bei flüssigen oder halbfesten Proben; diese Mengen werden in 1 mL des im Kit enthaltenen Probenverdünnungspuffers extrahiert. Wird eine größere Menge als 50 mg (fest) oder 100 µL (halbfest oder flüssig) Stuhl verwendet, kann dies zu einem ungültigen Ergebnis führen, da eine zu hohe Probenmenge den Probenfluss beeinträchtigen kann.
19. Die äußere Packung des Testkits erst entsorgen, wenn der gesamte Inhalt aufgebraucht ist. Die äußere Packung enthält wichtige Informationen zur CE-Kennzeichnung und zu den Komponentenchargen.
20. KEINE Stuhlproben verwenden, die sich in Transportmedien oder auf Tupfern befinden oder mit konservierenden Medien gemischt sind.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

Es gibt keine bekannten Gefahren die mit diesem Produkt verbunden sind.

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Kit bei 2-8 °C aufbewahren, wenn es nicht in Gebrauch ist. Die Haltbarkeit (das Verfallsdatum) für dieses Produkt ist auf dem Etikett der Kitpackung angegeben.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

1. Vor der Durchführung eines Tests Kitkomponenten und Proben Raumtemperatur (20–26 °C) erreichen lassen, da kalte Reagenzien und/oder Proben die Testempfindlichkeit reduzieren können. Reagenzien können 20–30 Minuten benötigen, um sich nach der Kühlung zu erwärmen.
2. Die Stuhlproben müssen vor der Probennahme gründlich gemischt werden (unabhängig von der Konsistenz), um eine repräsentative Probe zu gewährleisten.
3. Die Reagenzröhrchen bei der Ausgabe von Tropfen senkrecht halten, um eine gleichförmige Tropfengröße und Abgabe zu gewährleisten.
4. Gelegentlich können Partikel den Probenfluss beeinträchtigen. Wenn die Testvorrichtung die verdünnte Probe nicht ohne Weiteres absorbiert, die Unterseite der Probeneingangsöffnung vorsichtig mit einem Applikatorstäbchen berühren, um feste Stuhlpartikel zu bewegen, die die Absorption verhindern. Alternativ kann ein neuer Aliquot aus dem Verdünnungsmittel entnommen und erneut getestet werden. Verdünnte Proben, die eine hohe Partikelkonzentration enthalten, können zentrifugiert (1–5 Minuten bei 700 x G) oder 3–5 Minuten stehen gelassen werden, damit sich die festen Partikel am Boden des Teströhrchens absetzen können.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Die Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert. Es ist keine Vorbereitung erforderlich.

PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG

Stuhlproben in Transportmedien, auf Abstrichtupfern oder mit Konservierungsmittel vermischte Stuhlproben NICHT VERWENDEN. Die Proben sind in einem luftdichten Behälter zu transportieren und bis zum Test bei 2-8 °C zu lagern. Die Proben sind so bald wie möglich zu testen, können jedoch bei 2-8 °C bis zu 72 Stunden lang aufbewahrt werden. Ist eine Testdurchführung innerhalb dieser Frist nicht möglich, sollten die Proben unmittelbar nach Eingang eingefroren und bis zum Testen gefroren (bei ≤ -20°C) gelagert werden. Die Proben dürfen zweimal tiefgeköhlt und wieder aufgetaut werden. Die Stuhlproben (ungeachtet ihrer Konsistenz) vor dem Testen gründlich mischen.

1. **Flüssige oder halbfeste Stuhlproben** – Den roten Verschluss des Probenverdünnungspufferfläschchens abschrauben (Fläschchen mit rotem Verschluss). Mit Hilfe einer sauberen, geeichten Transferpipette (im Kit enthalten) die angemischte Probe bis zur zweiten Markierung von der Pipettenspitze (100 µL) aufnehmen. Die Probe in das Probenverdünnungspufferfläschchen abgeben. Mit Hilfe derselben Transferpipette die verdünnte Probe gründlich, jedoch behutsam mischen; hierzu den Pipettenbalg dreimal zusammendrücken. Das Fläschchen wieder fest verschließen und den Inhalt 15 Sekunden durch gründliches aber behutsames Schwenken durchmischen. Alternativ hierzu kann das Material auch 15 Sekunden lang mit einem Vortexer gemischt werden. **HINWEIS: Vorsicht beim Pipettieren von halbfesten Stuhlproben. Wenn weniger als 100 µL Stuhlprobe hinzugefügt werden, kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Wenn mehr als 100 µL Stuhlprobe hinzugefügt werden, kann dies durch einen eingeschränkten Probenfluss in einem ungültigen Ergebnis resultieren.**



Abbildung der 100 µL Pipette

2. **Geformte/Feste Stuhlproben** – Den roten Verschluss des Probenverdünnungspufferfläschchens abschrauben (Fläschchen mit rotem Verschluss). Mit Hilfe des weißen Kunststoffspatels im roten Verschluss eine kleine Stuhlmenge (ein Klümpchen von 5–6 mm Durchmesser) aufnehmen. Das Klümpchen in das Probenverdünnungspufferfläschchen transferieren. Das Fläschchen wieder gut verschließen und den Inhalt durch 15 Sekunden andauerndes Schwenken gründlich, aber behutsam, durchmischen. Alternativ hierzu kann das Material auch 15 Sekunden lang mit einem Vortexer gemischt werden. Hölzerne Applikatorstäbchen können auch dazu benutzt werden, feste Stuhlproben in das Probediluent zu transferieren. **HINWEIS: Wenn ein zu geringes Stuhlvolumen transferiert wird oder die Stuhlprobe nicht vollständig im Probediluent vermischt und suspendiert wird, kann dies falsch-negative Testergebnisse zur Folge haben. Es ist darauf zu achten, dass weder mehr noch weniger als die vorgeschriebene Menge transferiert wird. Das Hinzufügen von mehr als 100 µL Stuhlprobe kann infolge eingeschränkten Probenflusses zu ungültigen Ergebnissen führen.**

TESTDURCHFÜHRUNG

A. Test

1. Alle Testvorrichtungen, Reagenzien und Proben vor dem Testen auf Zimmertemperatur (20–26 °C) bringen.
2. Für jede Patientenprobe jeweils 1ne ImmunoCard STAT! HpSA-HD- Testvorrichtung verwenden.
3. Die ImmunoCard STAT! HpSA-HD- Testvorrichtung aus dem Folienbeutel entnehmen. Die Teststreifen sind dort markiert, wo die Test- und Kontrolllinien erscheinen sollen. Die mit einem Pfeil markierte Probenöffnung ist das Testfenster, durch das die Probe hinzugefügt wird.
4. Die Testvorrichtungen mit dem Namen des Patienten versehen. Die Probe gemäß den Anweisungen im vorhergehenden Abschnitt „PROBENAHEME UND -VORBEREITUNG“ vorbereiten.
5. Das Fläschchen mit der verdünnten Probe senkrecht halten und vor dem weiteren Vorgehen den Boden vorsichtig auf die Arbeitsfläche auf tippen.
6. Das obere Ende des Fläschchens mit der verdünnten Probe mit saugfähigem Papier abdecken, um Spritzer zu vermeiden.
7. Die außen am roten Verschluss befindliche rote Spitze abbrechen. (Nicht den weißen Spatel an der Innenseite des Verschlusses abbrechen.)
8. Drehen Sie das Fläschchen um und geben Sie 3 Tropfen des verdünnten Probenmaterials in die Probenöffnung (dort, wo sich der Pfeil befindet) der Testvorrichtung. Die Spitze des Fläschchens darf den Teststreifen nicht berühren.
9. Einen Timer entsprechend einstellen und den Test 5 Minuten lang bei 20–26 °C inkubieren.
10. Nach Verstreichen der 5 Minuten lesen Sie die Ergebnisse ab. Positive Ergebnisse können berichtet werden, negative Test MÜSSEN für weitere 10 Minuten inkubiert und dann erneut abgelesen werden. Beschreibungen positiver bzw. negativer Testergebnisse enthält der Abschnitt ERGEBNISINTERPRETATION.
11. Werten Sie das Ergebnis nach 15 Minuten NICHT mehr aus.

B. Kontrollen

Positive und negative Kontrollen dienen sowohl zum Nachweis der Reaktivität und Spezifität aller Reagenzien als auch zu deren Fähigkeit zur Erbringung der erwarteten Ergebnisse.

1. Alle Kontrollreagenzien vor dem Testen auf 20–26 °C bringen.
2. Für jede positive und negative Kontrollprobe je 1ne ImmunoCard STAT! Testvorrichtung verwenden. Beschriften Sie jede Testvorrichtung mit der zu testenden Kontrolle.
3. Die Reagenzfläschchen zur Reagenzienabgabe kopfüber halten.
4. Geben Sie 3 Tropfen der Positivkontrolle in die Probenöffnung (dort, wo sich der Pfeil befindet) einer Vorrichtung. **Die Spitze des Fläschchens darf die Probenöffnung nicht berühren.**

5. Die rote Spitze an der Außenseite des roten Verschlusses eines frischen Probenverdünnungspufferfläschchens abbrechen.
6. Geben Sie 3 Tropfen des Probenverdünners (Negativkontrolle) in die Probenöffnung.
7. Stellen Sie einen Timer und inkubieren Sie die Tests bei 20-26 °C für 15 Minuten.
8. Lesen Sie die Ergebnisse nach 15 Minuten nach Abschluss des Tests innerhalb von 1 Minute ab.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Negatives Testergebnis: Nur eine BLAUE Linie (Kontrolllinie) verläuft quer über das mittlere Fenster der Testvorrichtung, am Buchstaben „C“. (*H. pylori*-Antigene fehlen oder sind nur in Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze vorhanden.) Es sollten keine sonstigen Linien sichtbar sein. Der Hintergrund sollte die Testablesung nicht beeinträchtigen.

Positives Testergebnis: Außer der BLAUEN Linie (Kontrolllinie), verläuft auch eine weitere, ROSAROTE Linie (Testlinie), quer über das Mittelfenster des Teststreifens, am Buchstaben „T“. Die Ausprägung der Linie ist abhängig von der Antigenkonzentration in der Probe. Jede auch noch so schwache rosarote Linie ist als positives Ergebnis zu werten. (Eine positive Testlinie zeigt an, dass die Probe *H. pylori*-Antigene enthält.) Der Hintergrund sollte die Testablesung nicht beeinträchtigen.

Ungültige Testergebnisse:

1. Die BLAUE Linie (Kontrolllinie) fehlt, wobei eine ROSAROTE Linie (Testlinie) sichtbar sein kann oder auch nicht;
2. Nach einer Gesamtinkubationszeit von 15 Minuten erscheint eine ROSA-RÖTLICHE Linie im Fenster auf der Höhe des Buchstabens „T“ oder an dieser Position befindet sich eine Linie mit einer anderen Farbe als ROSA-RÖTLICH;
3. Beim Buchstaben „C“ erscheint keine Kontrolllinie. (Der Test ist ungültig, da eine Veränderung oder das Fehlen der Kontrolllinie eine inkorrekte Durchführung des Testverfahrens oder Reagenzienzerfall anzeigt.)

Lässt sich ein Test nur schwer interpretieren, ist er mit derselben Probe zu wiederholen, um die Möglichkeit eines Fehlers auszuschließen. Nehmen Sie eine neue Probe und testen Sie diese erneut, falls die ursprüngliche Probe wiederholt nicht ablesbare Ergebnisse erbringt.

QUALITÄTSKONTROLLE

Den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durchführen.

Die Reaktivität der ImmunoCard STAT! HpSA-HD-Teststreifen ist unmittelbar nach Erhalt mittels der im Kit enthaltenen externen positiven und negativen Kontrollreagenzien zu prüfen. Die Anzahl der zusätzlichen Tests mit den externen Kontrollen ist abhängig von den Auflagen der Örtlichen, - Landes- und Bundesvorschriften oder der Zulassungsbehörden.

Interne Kontrollen: Interne Kontrollen sind in die Testvorrichtung integriert und werden daher bei jedem Test durchgeführt.

1. Eine farbige Linie an der Kontrolllinie dient als positive Kontrolle und bedeutet, dass der Test korrekt durchgeführt wurde, dass die Probe hinzugegeben wurde, dass der Probenfluss gut war und dass die Testreagenzien zum Verwendungszeitpunkt aktiv waren.
2. Ein leerer Hintergrund um die Kontroll- oder Testlinie stellt eine negative Kontrolle dar. Ein Hintergrund, der die Ablesung der Testergebnisse erschwert, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.

Die für die Kontrollen zu erwartenden Ergebnisse sind im Abschnitt AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE erläutert. Die Testvorrichtungen sollten nicht verwendet werden, falls die Kontrolltests keine korrekten Ergebnisse erbringen. Werden die erwarteten Ergebnisse nicht erzielt, bedeutet dies entweder, dass die Teststreifen defekt sind, oder dass der Test nicht korrekt durchgeführt wurde. **Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, wiederholen Sie zur Ermittlung der Fehlerquelle als Erstes die Kontrolltests. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.**

Das positive und das negative Kontrollreagenz werden in einer wässrigen Lösungsmatrix hergestellt. Obwohl bei diesem Assay keine Störung durch die Probenmatrix beobachtet wurde, kann es sein, dass die wässrige Matrix der Kontrollen keine adäquate Kontrolle für Probenmatrixeffekte bietet.

ERWARTETE WERTE

Untersuchungen der Epidemiologie von *H. pylori* erwiesen, dass dieser Organismus in aller Welt vorkommt.^{17,22,23} Es wurde eine Korrelation zwischen durch *H. pylori* verursachter Gastritis und Alter, ethnischer Abstammung, Familiengröße und sozioökonomischer Schicht der betroffenen Personen nachgewiesen.^{24, 25} Die Häufigkeit der *H. pylori*-Infektionen in einer bestimmten Population kann zwischen 20% und 90% variieren. Bei Patienten mit diagnostizierten Zwölffingerdarmgeschwüren wurde jedoch in jeder Altersgruppe eine Häufigkeit von etwa 80% festgestellt.¹⁷ Die heute empfohlenen Eradikationstherapien zeigen eine Wirksamkeit von 75% bis 90%.

Der ImmunoCard STAT! HpSA-HD-Test dient zum Nachweis von *H. pylori*-Antigenen im menschlichen Stuhl. Jedes Labor sollte Erwartungswerte für bestimmte Populationen bestimmen. Der Prozentsatz der positiven Befunde kann je nach geografischer Lage, Methode der Probennahme, Handhabung und Transport, verwendetem Test und allgemeinen gesundheitlichen Umgebungsbedingungen der untersuchten Patientenpopulation variieren.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Es handelt sich um einen qualitativen Test, und es darf bei der Ergebnisausgabe keine quantitative Interpretation der Intensität der positiven Linie unternommen werden.
2. Die Testergebnisse sollten unter Berücksichtigung von Informationen aus epidemiologischen Studien, klinischer Evaluierung von Patienten und anderen diagnostischen Verfahren genutzt werden.
3. Antibiotika, Protonenpumpenhemmer und Wismutzubereitungen unterdrücken *H. pylori* bekanntermaßen, und die Einnahme dieser Mittel vor dem Testen auf *H. pylori* (Kultur, histologische Untersuchung, Urease-Schnelltest, Harnstoff-Atemtest, Antigen) kann zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Hat ein Patient diese Substanzen innerhalb von zwei Wochen vor der Durchführung des ImmunoCard STAT! HpSA-HD-Tests eingenommen, kann es zu einem falsch-negativen Ergebnis kommen. In derartigen Fällen sollte der Test anhand einer neuen, zwei Wochen nach Absetzen der Behandlung genommenen, Probe wiederholt werden. Ein positives Ergebnis bei einem Patienten, der diese Substanzen innerhalb von zwei Wochen vor der Durchführung des ImmunoCard STAT! HpSA-HD-Tests eingenommen hat, ist als korrekt zu erachten.
4. Die Zugabe einer unzureichenden Stuhlprobenmenge zum Probenverdünnungsmittel kann ein falsch-negatives Testergebnis zur Folge haben. Die Zugabe einer zu großen Stuhlmenge kann auf Grund der Hemmung des einwandfreien Probenflusses zu ungültigen Testergebnissen führen.
5. Eine übermäßige Testinkubation kann zu falsch-positiven Testergebnissen führen. Geringe Temperaturen oder eine zu kurze Dauer bei der Testinkubation können zu falsch-negativen Ergebnissen führen.
6. Der ImmunoCard STAT! HpSA HD-Test dient der Identifizierung von *H. pylori* durch den Nachweis seines Vorhandenseins in humanen Stuhlproben, wenn die Bakterienbelastung gleich oder höher als die Nachweisgrenze des Assays ist.
7. Es ist wichtig, die Reaktionszeit zu kontrollieren. Erreicht die Reaktionszeit nicht die angegebenen 15 Minuten, sind die Ergebnisse bei Proben, deren analytische Konzentration deutlich über der Sensitivitätsgrenze liegt, klar zu erkennen. Proben, die an der Nachweisgrenze liegen, werden jedoch nicht angezeigt (falsch negative Ergebnisse). Wenn die Reaktionszeit mehr als 15 Minuten beträgt, wird die Sensitivität des Tests verändert, was zu falschen Ergebnissen führen kann (falsch positive Ergebnisse).

LEISTUNGSMERKMALE

Zwei unabhängige Laboratorien haben die Leistungsmerkmale von ImmunoCard STAT! HpSA HD mit der Referenzmethode des Enzymimmunoassays, Premier Platinum HpSA PLUS (Meridian Bioscience, Inc. Cincinnati, OH) verglichen. Einundsechzig prospektive (frische) und 114 retrospektive (gefrorene) Proben wurden in die Evaluation eingeschlossen. Tabelle 1 liefert die Daten der Leistungsmerkmale von ImmunoCard STAT! HpSA HD. Tabelle 2 listet die OD-Werte für die ImmunoCard STAT! HpSA HD falsch-negativer Proben auf.

Tabelle 1. Daten der Leistungsmerkmale für ImmunoCard STAT! HpSA HD

	ImmunoCard STAT! HpSA HD		
Premier Platinum HpSA PLUS	Positiv	Negativ	Insgesamt
Positiv	50	3	53
Negativ	1	121	122
Insgesamt	51	124	175
Positive Übereinstimmung (95% CI)	94,3% (84,6 to 98,1%)		
Negative Übereinstimmung (95% CI)	99,2% (95,5 to 99,9%)		

Tabelle 2. Enzymimmunoassay OD-Werte für Falsch-Negative ImmunoCard STAT! HpSA HD Proben

Probennummer	OD-Wert (Schwellenwert 0,100)	Interpretation
64	0,117	EIA schwach pos; gerade über dem negativen Schwellenwert
96	0,924	EIA pos
118	0,193	EIA schwach pos; gerade über dem negativen Schwellenwert

ANALYSE-SENSIBILITÄT

Die untere Nachweisgrenze dieses Assays ist 8 ng/mL bei Tests mit Ultraschall-Antigen, gewonnen aus dem *H. pylori*-Stamm TV1970. Dieser Grenzwert ist bei geformten (festen) sowie bei halbfesten Stühlen der gleiche.

WIEDERHOLBARKEIT UND REPRODUZIERBARKEIT

Die Wiederholbarkeit des Tests wurde durch Verwendung (1) einer natürlichen negativen und (2) künstlichen positiven Proben bestimmt, die aus verschiedenen Konzentrationen des *H. pylori*-Standards vorbereitet wurden. Zehn Replikate jeder Probe wurden zu einem Zeitpunkt von einem Bediener getestet. Die Übereinstimmung der Ergebnisse betrug 100 %.

Präzision zwischen Tagen: Die Präzision zwischen Tagen wurde bestimmt, indem vier serielle Verdünnungskurven (Empfindlichkeitskurven) des *H. pylori*-Standards vorbereitet wurden. Die Verdünnungen wurden an vier verschiedenen Tagen vom gleichen Bediener mit einer Übereinstimmung der Ergebnisse von 100% getestet.

Präzision zwischen Bedienern: Die Präzision zwischen Bedienern wurde bestimmt, indem drei serielle Verdünnungen (Empfindlichkeitskurven) des *H. pylori*-Standards verwendet wurden. Die Verdünnungen wurden am gleichen Tag von drei Bedienern mit einer Übereinstimmung der Ergebnisse von 100% getestet.

Präzision zwischen Chargen: Die Präzision zwischen Chargen wurde bestimmt, indem die Standardverdünnungen mit drei verschiedenen Produktchargen analysiert wurden. Die Tests wurden von einem Bediener an einem Tag durchgeführt. Die Übereinstimmung der Ergebnisse betrug 100%.

KREUZREAKTIVITÄT/TESTSPEZIFITÄT

Die Kreuzreaktivität wurde unter Verwendung der folgenden Bakterien- und Hefestämme beurteilt. Positive und negative Stuhlproben wurden mit $\geq 1 \times 10^6$ Bakterien/Pilz/Hefen versetzt. Keiner der getesteten Mikroorganismen führte beim negativen Stuhl zu einem positiven Ergebnis oder beeinträchtigte den Nachweis beim positiven Stuhl. Sowohl der negative als auch der positive Stuhl erwiesen sich nach Zusatz des *Helicobacter pylori*-Stamms 43504 als positiv.

Campylobacter coli, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Helicobacter felis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella ssp.*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Shigella ssp.*

STÖRSUBSTANZEN-TESTS

Die folgenden Substanzen zeigten bei Vorliegen im Stuhl in den angegebenen Konzentrationen keine Auswirkungen auf die Ergebnisse.

Tums®-Säurehemmer (5 mg/mL), Tagamet® (5 mg/mL), Prilosec® (5 mg/mL), Mylanta®-Säurehemmer (1:20), Pepto-Bismol® (1:20), Bariumsulfat (5%), Vollblut (50%), Leukozyten (50%), Mucin (3,4%)

REFERENCES

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; i:1311-1314.
2. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:720-41.
3. Gregson DB, Simor AE. *Helicobacter pylori* and inflammatory disease of the stomach and duodenum. *Stomach and Bowel*, 1991; Sep:29-30, 35-7.
4. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325:1127-31.
5. Sanders MK, Peura DA. *Helicobacter pylori*-associated diseases. *Curr Gastro Reports* 2002; 4:448-54.
6. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345:784-9.
7. Graham DY. *Helicobacter pylori*: Its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6:105-13.
8. Malaty HM, Graham DY, Klein PD, et al. Transmission of *Helicobacter pylori* infection. *Studies in families of healthy individuals*. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26:927-32.
9. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric campylobacter. *Med J Austral* 1985; 142:436-439.
10. Veralovic J, Fox JG. *Helicobacter*. In: Murray PR et al eds. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. Washington DC:ASM Press, 2003; 915-28.
11. Alpert LC, Graham DY, Evans Jr DJ, et al. Diagnostic possibilities for *Campylobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1989; 1:17-26.
12. Barthel JS, Everett ED. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: The "gold standard" and the alternatives. *Rev Infect Dis* 1990; 12:S107-14.
13. Nichols L, Sughayer M, DeGirolami PC, et al. Evaluation of diagnostic methods for *Helicobacter pylori* gastritis. *Am J Clin Pathol* 1991; 95:769-73.
14. Vaira D, Vakil N. Blood, urine, stool, breath, money and *Helicobacter pylori*. *Gut* 2001; 48:287-9.
15. Graham DY, Klein PD, Evans Jr DJ, et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. *Lancet* 1987; i:1174-7.
16. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, et al. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 1991; 100:1495-1501.
17. Talley NJ, Newell DG, Ormand JE, et al. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol* 1991; 29:1635-9.
18. Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. *Lancet* 1999; 354:30-3.

19. Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, et al. Non invasive antigen-based assay for assessing *Helicobacter pylori* eradication: a European Multicentre Study. *Am J Gastroenterol* 2002; 95:925-9.
20. Montiero L, de Mascarel A, Sarraqueta A, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection: Noninvasive Methods Compared to Invasive Methods and Evaluation of Two New Tests. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:353-22.
21. Malfertheiner P, Megraud F, Morain O, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection – The Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:167-80.
22. Murray DM. Clinical relevance of infection by *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Newlett* 1993; 15:33-7.
23. Loffeld RJLF, Stobberingh E, Van Spreeuwel JP, et al. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. *J Med Microbiol* 1991; 32:105-9.
24. Morris A, Nicholson G, Lloyd G, et al. Seroepidemiology of *Campylobacter pyloridis*. *N Z Med J* 1986; 99:657-9.
25. Fiedorek SC, Malaty HM, Evans DL, et al. Factors influencing the epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in children. *Pediatrics* 1991; 88:578-582.



REV. 05/23



Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
3471 River Hills Drive
Cincinnati, OHIO - 45244 USA
www.meridianbioscience.com

Contacts:

Main Telephone (+1) 513.271.3700
Customer Service/Orders 800.543.1980
Technical Support Center 800.343.3858
Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124
E-mail: info@meridianbioscience.com

EC REP

Meridian Bioscience Europe, SRL
Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese
(Milano) ITALY
www.meridianbioscience.com

Contacts:

Main Telephone (+39) 0331.433636
E-mail: info@meridianbioscience.eu
Technical Support: MBE-TechService@meridianbioscience.eu
Customer Service/Orders:

- For Italian Customers:
ordini@meridianbioscience.com
- For Distributors / International Customers:
Export.CustomerService@meridianbioscience.eu

**UK Authorised
Representative**

Launch Diagnostics
Ash House
Ash Road
Longfield
DA3 8JD
UK

CH REP

MedEnvoy Switzerland
Gotthardstrasse 28
6302 Zug
Switzerland

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Meridian products carrying the European Conformity (CE) mark fulfil the requirements of Directive 98/79/EC or the Regulation 2017/746 on in-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recano il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfanno i requisiti della Direttiva 98/79/CE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portent la marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 98/79/CE ou du Règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian con la marca de conformidad europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 98/79/CE o el Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Kennzeichnung erfüllen die Anforderungen der EU-Richtlinie 98/79/EG bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenzubereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
			CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligro / WARNUNG: Risikogefahr
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Numero de catalogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Solamente per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Solo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi / Contenu suffisant pour <n> test / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de température / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugat enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Numero de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de prueba / Testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugat / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillon / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration 20X / Solution de lavage dil lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
Rx Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Détection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No use if package esta dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	TUBE	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	CH REP	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at the numbers reported above or contact your Local Distributor