

# immunocard STAT!<sup>®</sup>

HpSA<sup>®</sup>

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

REF 750220

IVD

Rx Only

CLIA CATEGORIZATION: WAIVED TEST (*All stool types*)

**Laboratories performing CLIA WAIVED tests:** If the user laboratory modifies the test system instructions, then the test is considered high complexity and subject to all applicable CLIA requirements.

## INTENDED USE

The ImmunoCard STAT! HpSA 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.<sup>1</sup>

## SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Since its discovery over 20 years ago by Marshall and Warren,<sup>2</sup> *Helicobacter pylori* is now recognized as one of the most common and medically important pathogens worldwide.<sup>1</sup> *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.<sup>1, 3-7</sup>

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.<sup>3, 4, 8-10</sup> Many possible routes of transmission of *Helicobacter pylori* to humans such as animals, contaminated water and oral reservoirs have been suggested.<sup>11</sup>

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.<sup>3, 12-15</sup>

CLIA stands for the United States (US) Clinical Laboratory Improvements Amendments that established quality standards for US laboratory testing. CLIA-waived tests are simple laboratory examinations and procedures that are cleared by the US Food and Drug Administration and that employ methodologies that are so simple and accurate as to render the likelihood of erroneous results negligible; or pose no reasonable risk of harm to the patient if the test is performed incorrectly.

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.<sup>3, 16,17</sup> 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.<sup>6,11, 18</sup> The stool antigen test has been evaluated extensively and has been accepted as an accurate non-invasive test both before and after treatment.<sup>19-21</sup> The recent Maastricht 2 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.<sup>22</sup>

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

## BIOLOGICAL PRINCIPLES

ImmunoCard STAT! HpSA is a rapid lateral flow immunoassay that utilizes a dissociated 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 after five minutes of incubation at room temperature indicates a positive result.

## REAGENTS

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

1. **ImmunoCard STAT! Test Device:** A chromatography strip housed in a plastic frame and enclosed in a foil pouch with a desiccant. The strip carries dissociated 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 salt solution containing sodium azide (0.095%) as a preservative. The Diluent is supplied in a red-capped vial with an applicator tip. Store at 2-8 C when not in use.
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 dropper vial. Store at 2-8 C when not in use.

## MATERIALS PROVIDED

1. ImmunoCard STAT! HpSA Test Devices, in individual foil pouches with a desiccant
2. Sample Diluent, in plastic dropper vials. Use as supplied.
3. Positive Control, in a plastic dropper vial. Use as supplied.
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.**
3. **Do not interchange reagents from different kit lot numbers. Do not use kit components beyond the labeled expiration date of the kit.**
4. **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.**
5. **Stool samples must be mixed thoroughly (regardless of consistency) to ensure a representative sample prior to sampling.**

- 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.
- Do not use the Sample Diluent or Positive Control if turbid. Turbidity may be a sign of microbial contamination.
- The Positive Control should be handled as potentially infectious even though it contains inactivated *H. pylori*.
- Hold reagent vials vertically when dispensing drops to ensure consistent drop size and delivery.
- Do not deviate from the method described here or falsely positive or falsely negative results may occur.
- Test instructions should be thoroughly read before performing any testing.
- Do not use a device if its pouch was punctured prior to use.
- On occasion, particulate matter may initially 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.
- Caution: Federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

#### HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS

There are no known hazards associated with this product.

#### SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

NOTE: Solid or formed, semisolid and liquid stool samples are approved matrices for CLIA WAIVED testing. **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 ( $\leq -20$  C) until tested. Specimens may be frozen and thawed twice. Mix stool samples thoroughly (regardless of consistency) before testing.

- 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  $\mu$ 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  $\mu$ L of stool may cause a false-negative test. The addition of more than 100  $\mu$ L of stool may cause invalid results due to restricted sample flow.**



Figure of 100  $\mu$ 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 µL of stool may cause invalid results due to restricted sample flow.**

## TEST PROCEDURE (QUALIFIES AS CLIA WAIVED PROCEDURE)

### A. Test

1. Bring all test devices, reagents and samples to room temperature (20-26 C) before testing.
2. Use 1 ImmunoCard STAT! Test Device for each patient sample.
3. Remove the ImmunoCard STAT! 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 4 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 within 1 minute. See the INTERPRETATION OF RESULTS section below for a description of positive and negative test results.

### 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! 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 4 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 4 drops of the Sample Diluent to the sample port (at arrow) of another Test Device.
7. Set a timer and incubate the tests at 20-26 C for 5 minutes.
8. After 5 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 six minutes, 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.*

#### **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.

**External controls: For laboratories performing CLIA-WAIVED tests, the reactivity of each new lot or shipment of ImmunoCard STAT! HpSA Test Devices must be verified on receipt using the external Positive and Negative Control reagents provided in the kit. Each untrained operator must test a positive and negative control at least once with each 20-test 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.

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. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) guidelines recommend that matrix control materials should be used when available.<sup>27</sup> If the user wishes to comply with the guideline, the user will need to provide control material in matrix.

#### **EXPECTED VALUES**

Studies on the epidemiology of *H. pylori* have shown that this organism is present worldwide.<sup>18, 23, 24</sup> Gastritis caused by *H. pylori* has been shown to correlate with age, ethnic background, family size and socioeconomic class.<sup>25,26</sup> 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%.<sup>18</sup> Currently recommended eradication treatments have an efficacy rate between 75% and 90%.

The ImmunoCard STAT! HpSA 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 the 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 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 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. Overincubation of tests may lead to false-positive test results. Incubating tests at reduced temperatures or times may lead to falsely negative results.
6. Performance characteristics have not been established for watery diarrheal stools. Watery stools composed mainly of fluid with little or no solid matter may give false negative test results.
7. **Laboratories performing CLIA WAIVED tests: If the user laboratory modifies the test system instructions, then the test is considered high complexity and subject to all applicable CLIA requirements.**

#### SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Comparative studies:** Four independent laboratories tested specimens in parallel with ImmunoCard STAT! HpSA and a reference ELISA in vitro diagnostic method, Premier Platinum HpSA (Meridian Bioscience, Inc, Cincinnati, OH). Some of the samples giving discordant results between the two assays were sent to and evaluated by a reference laboratory. The results of the parallel tests are given below. Corrected results are calculated following investigation of discordant samples by the referee laboratory.

	Initial Trial Results	Corrected Results
Total samples tested	457	457
Concordant test results	433	436
Positive samples	102	105
Negative samples	331	331
Discordant test results	21	20
Premier +, ImmunoCard -	6	6
Premier -, ImmunoCard +	15	14
Indeterminant test results	3	1
Premier equivocal, ImmunoCard +	2	1
Premier equivocal, ImmunoCard -	1	0
% correlation	95%	N/A

**Clinical studies:** Stool samples from 227 consecutive dyspeptic patients, who were not using acid suppressant therapy or antibiotics, and who were referred for endoscopy were tested with ImmunoCard STAT! HpSA. Biopsy specimens were taken for histology, rapid urease test and culture. Patients were defined as infected with *H. pylori* if histology and urease tests were positive, or if culture was positive. Eighty five of the 227 patients were found *H. pylori* positive. The results are summarized in the following table.

Diagnostic accuracy of ImmunoCard STAT! HpSA.

	<i>H. pylori</i> status by endoscopy/biopsy/gold standard		Total
	True Positive	True Negative	
IC STAT! HpSA +	77	12	89
IC STAT! HpSA -	8	130	138
Total	85	142	227
Estimated clinical sensitivity (95% CI)	90.6% (84.9 to 97.1%)		
Estimated clinical specificity (95% CI)	91.5% (87.5 to 96.5%)		
Predictive value, positive test (95% CI)	86.5% (79.9 to 94.1%)		
Predictive value, negative test (95% CI)	94.2% (90.1 to 97.9%)		
Correlation (CI 95%)	91.2% (87.3 to 94.7%)		

Correlation of ImmunoCard STAT! HpSA test results with eradication treatment

	<i>H. pylori</i> status by endoscopy/biopsy/gold standard		Total
	True Positive	True Negative	
IC STAT! HpSA +	21	0	21
IC STAT! HpSA -	1	63	64
Total	22	63	85
Estimated clinical sensitivity (95% CI)	95.4% (86.0 to 100%)		
Estimated clinical specificity (95% CI)	100%		
Predictive value, positive test (95% CI)	100%		
Predictive value, negative test (95% CI)	98.4% (94.5 to 100%)		
Correlation (CI 95%)	98.8% (96.8 to 100%)		

**Additional Studies:** The performance of dissociated anti-*H. pylori* antibody was compared in parallel studies using the ImmunoCard STAT! HpSA assay (predicate device with native antibody configuration) using 150 samples that were prospectively collected and qualified using Premier Platinum HpSA PLUS (EIA) and the predicate. The samples were collected from patients suspected of having *H. pylori* infections. The percent positive and negative agreements in comparison to the predicate device were 98.3% (56/57, CI = 90.7 – 99.7%) and 98.9% (92/93, CI = 94.1 – 99.8%), respectively.

#### ANALYTICAL SENSITIVITY

The lower limit of detection of this assay is 64 ng/mL in tests with sonicated antigen prepared from *H. pylori* strain TV1970. This limit does not vary from formed (solid) to semi-solid stool.

#### REPRODUCIBILITY

The reproducibility of ImmunoCard STAT! HpSA was determined with known negative (n=5) and positive (n=5) samples, that were coded and randomly sorted to prevent their identities. Two of the five positive samples were near the limit of detection for the assay. The reproducibility samples were tested on three consecutive days by three independent test sites. The samples produced the expected results 100% of the time.

## ASSAY SPECIFICITY

The specificity of ImmunoCard STAT! HpSA was tested utilizing the following bacterial, viral and yeast strains. Positive and negative stools were spiked with  $\geq 1 \times 10^7$  bacteria or yeast or  $1 \times 10^5$  viruses. None of the microorganisms tested yielded a positive result in the negative stool or interfered with detection of the positive stool. Both the negative and positive stool was positive when spiked with *Helicobacter pylori* strain 43504.

Adenovirus Type 2, Adenovirus Type 40, Coxsackie Type B1, Coxsackie Type B6, Echovirus Type 22, Feline calicivirus, Rotavirus, Bacillus species, *Borrelia burgdorferi*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* (2), *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* (2), *E. coli* (2), *E. coli* O157:H7 (2), *E. fergusonii*, *Helicobacter felis*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella dublin*, *Salmonella* (Group B), *Salmonella hilversum*, *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan 1), *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia liquefaciens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*

## 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%), Leukocytes (50%), Mucin (3.4%), Stearic acid/palmitic acid (fecal fat) (4%), Hemoglobin (tarry stool) (12.5%)

## CONSUMER PRECISION STUDY

Meridian conducted consumer precision testing of ImmunoCard STAT! HpSA in 2003 following the recommended method for qualitative tests described in FDA *Draft Guidance for Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Criteria for Waiver*, March 1, 2001. A total of 302 untrained users participated at four test sites. Participants tested proficiency panels consisting of strong negative, weak negative, strong positive and weak positive sample types. Weak positive and weak negative samples were expected to produce incorrect results 15-20% of the time. Trained laboratory personnel generated expected results for each sample type. In the hands of untrained users, invalid results occurred with 4% of weak negative, 2% of strong negative, and 3% of weak positive samples. There were no invalid tests associated with strong positive samples and the untrained user. No invalid results occurred in tests by the trained user. The table below shows the data obtained by untrained and trained users and the calculated confidence intervals for each sample type.

Sample Type	Participant Type	Strong Negative -- % Negative (95% CI)	Weak Negative -- % Negative (95% CI)	Weak Positive -- % Positive (95% CI)	Strong Positive -- % Positive (95% CI)	% Invalid
Negative	Untrained User	51/51 (100%) CI = 93.0-100%	95/96 (99%) CI = 94.3-100%	N/A	N/A	3.3% (5/152)
	Trained User	52/52 (100%) CI = 93.2-100%	100/100 (100%) CI = 95.4-100%	N/A	N/A	0% (0/152)
Positive	Untrained User	N/A	N/A	83/94 (88.3%) CI = 80.0-94.0%	44/51 (86.3%) CI = 73.7-94.3%	2.0% (3/149)
	Trained User	N/A	N/A	97/97 (100%) CI = 96.3-100%	52/52 (100%) CI = 93.2-100%	0% (0/149)



**ITALIANO**

# immunocard STAT!<sup>®</sup>

HpSA<sup>®</sup>

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

REF 750220

IVD

Rx Only

CLASSIFICAZIONE CLIA: ANALISI ESENTE (*tutti i tipi di campioni fecali*)

Laboratori che eseguono analisi con ESENZIONE CLIA: se un laboratorio modifica le istruzioni del sistema di analisi, l'analisi verrà considerata di alta complessità e dovrà soddisfare tutti i requisiti CLIA.

## FINALITÀ D'USO

ImmunoCard STAT! HpSA è una procedura rapida *in vitro* per la ricerca qualitativa degli antigeni di *Helicobacter pylori* nelle feci umane. L'identificazione dell'antigene nelle feci è da utilizzarsi come supporto per la diagnosi dell'infezione da *H. pylori* e per verificare l'avvenuta eradicazione di *H. pylori* al termine della specifica terapia. La prassi medica convenzionale raccomanda che i test per la conferma dell'eradicazione del batterio vengano eseguiti, indipendentemente dal metodo utilizzato, almeno quattro settimane dopo il completamento della terapia.<sup>1</sup>

## SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Dopo la sua scoperta, avvenuta più di 20 anni fa da parte di Marshall e Warren,<sup>2</sup> l'*Helicobacter pylori* è oggi riconosciuto in tutto il mondo come uno degli agenti patogeni più comuni e importanti.<sup>1</sup> 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.<sup>1, 3-7</sup>

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.<sup>3, 4, 8-10</sup> 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.<sup>11</sup>

CLIA è l'acronimo di "Clinical Laboratory Improvements Amendments", un'organizzazione che stabilisce gli standard di qualità dei laboratori analisi negli USA. I test classificati come CLIA-ESENTI sono esami e procedure approvati dall' FDA (US Food and Drug Administration) che utilizzano metodologie così semplici ed accurate da rendere quasi nulla la probabilità di ottenere risultati erronei; sono classificati come CLIA esenti anche quei test che, anche in caso di utilizzo erraneo, non possono causare rischi per la salute del paziente.

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.<sup>3, 12-15</sup>

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.<sup>3, 16, 17</sup> 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.<sup>6, 11, 18</sup> 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.<sup>15-21</sup> Il recente Maastricht 2 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.<sup>22</sup>

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

## PRINCIPI BIOLOGICI

Il test ImmunoCard STAT! HpSA utilizza un anticorpo monoclonale dissociato 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", dopo cinque minuti di incubazione a temperatura ambiente, indica un risultato positivo.

## REAGENTI

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

1. **Dispositivo test ImmunoCard STAT! HpSA:** 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 dissociato 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 di 2-8 C, quando non vengono usati. Non congelare.
2. **Diluyente del campione:** soluzione salina tamponata contenente sodio azide (0,095%) come conservante. Il diluyente viene fornito in un flacone con cappuccio rosso e con applicatore all'estremità. Conservare a temperature di 2-8 C quando non viene usato.
3. **Controllo positivo:** sospensione di *H. pylori* inattivato, in soluzione salina bilanciata contenete sodio azide (0,095%) come conservante. Il reagente viene fornito pronto per l'uso in un flacone contagocce. Conservare a 2-8 C quando non viene usato.

## MATERIALI FORNITI

1. Dispositivi per test ImmunoCard STAT! HpSA, contenuti in confezioni singole d'alluminio con essiccante.
2. Diluyente del campione, in flaconi contagocce monouso di plastica. Usare come fornito.
3. Controllo positivo, in un flacone contagocce di plastica. Usare come fornito.
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.**
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. **Prima di eseguire un test, attendere fino a quando i componenti del kit e i campioni raggiungono la temperatura ambiente (20-26 C); reagenti e/o campioni freddi possono ridurre la sensibilità dell'analisi. Dopo la refrigerazione, può darsi che i reagenti impieghino 20-30 minuti per riscaldarsi.**
5. **Prima del test, miscelare bene i campioni fecali (indipendentemente dalla loro consistenza) per garantire l'uso di un campione rappresentativo.**
6. **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.**
7. **Non usare il diluente del campione o il controllo positivo se risulta torbido. La torbidità può essere un segno di contaminazione microbica.**
8. **Maneggiare il controllo positivo come potenzialmente infettivo, anche se contiene *H. pylori* inattivato.**
9. **Mantenere i flaconi dei reagenti in posizione verticale durante la dispensazione delle gocce, al fine di assicurarne portata e dosaggio costanti.**
10. **Se non ci si attiene al metodo qui descritto si rischia di ottenere risultati falso-positivi o risultati falso-negativi.**
11. **Leggere le istruzioni per il test nella loro interezza prima di eseguire un'analisi.**
12. **Non usare un dispositivo la cui confezione sia stata forata prima dell'uso.**
13. **La presenza di particolato nel campione fecale potrebbe talvolta interferire con il flusso del campione nel dispositivo test. Nei casi in cui il dispositivo test non dovesse assorbire immediatamente il campione diluito, toccare delicatamente il fondo del pozzetto del campione con un bastoncino applicatore per muovere particolato presente nel campione teso, che potrebbe impedire l'assorbimento. In alternativa, ripetere l'analisi con un nuovo dispositivo test, prelevando dal flacone del diluente una nuova aliquota di campione.**
14. **Attenzione: La legge Federale negli Stati Uniti prevede che questo test sia venduto solo ad un utilizzatore abilitato ad operare nella salute.**

## DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

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

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

NOTA: il test può essere effettuato (con ESENZIONE CLIA) su campioni fecali solidi o formati, semi-solidi e liquidi. **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 ( $\leq -20$  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 µL). 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 µL di feci può causare un test falsamente negativo. L'aggiunta di più di 100 µL può causare risultati non validi a causa del flusso limitato del campione.**

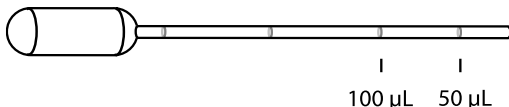


Figura di una pipette di 100 µL

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 (PROCEDURA ESENTE DAI REQUISITI CLIA)

### 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 per ogni campione.
3. Rimuovere il dispositivo per il test ImmunoCard STAT! HpSA 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 picchiettare 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 4 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. Al termine dei 5 minuti di incubazione, leggere i risultati entro 1 minuto. Vedere la sezione **INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI** per la descrizione dei risultati positivi e negativi del test.

## **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! 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 4 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 4 gocce di diluente per campioni nella porta del campione di test (in corrispondenza della freccia) di un altro dispositivo di test.
7. Regolare il timer e incubare i test a 20-26 C per 5 minuti.
8. Al termine dei 5 minuti di incubazione, leggere i risultati entro 1 minuto.

## **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. Una linea ROSA-ROSSA appare alla lettera "T" nella finestra di lettura dopo 6 minuti, oppure in quel punto è presente una linea di un colore diverso da 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 DI QUALITÀ**

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

### **Controlli interni: I controlli interni sono contenuti nel 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.

**Controlli esterni: per i laboratori che eseguono analisi con ESENZIONE CLIA, la reattività di ogni nuovo lotto o spedizione di dispositivi per il test ImmunoCard STAT! HpSA deve essere verificata al ricevimento usando i reagenti di controllo positivo e negativo inclusi nel kit. Tutti gli operatori non addestrati devono analizzare almeno una volta un controllo positivo ed un controllo negativo per ogni kit da 20 test.** Il numero di ulteriori test eseguiti con i controlli esterni sarà determinato da disposizioni locali o statali e/o da organizzazioni accreditanti.

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 dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributorer 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. Le linee guida dell'ente statunitense National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) raccomandano l'uso delle matrici di controllo quando disponibili.<sup>27</sup> Se l'utente desidera conformarsi a tali linee guida, dovrà procurarsi il materiale di controllo in matrice.

## VALORI ATTESI

Ricerche epidemiologiche sull'*H. pylori* hanno dimostrato che questo organismo è presente in tutto il mondo.<sup>18, 23, 24</sup> Gastriti causate dall'*H. pylori* sono state associate a fattori quali età, origine etnica, dimensione del nucleo familiare e classe socioeconomica.<sup>25, 26</sup> 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%.<sup>18</sup> Attualmente, le terapie di eradicazione raccomandate hanno una percentuale di successo del 75-90%.

Il test ImmunoCard STAT! HpSA 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.

## LIMITI 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 ricavate dall'esame clinico del paziente e da altre procedure diagnostiche.
3. Antimicrobici, inibitori della pompa protonica e preparati a 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, 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 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. Le caratteristiche delle prestazioni non sono state stabilite per feci diarroiche acquose. Feci acquose composte prevalentemente di liquido con materia solida scarsa o del tutto assente possono fornire risultati falsamente negativi.
7. **Laboratori che eseguono analisi con ESENZIONE CLIA: se un laboratorio modifica le istruzioni del sistema di analisi, l'analisi verrà considerata di alta complessità e dovrà soddisfare tutti i.**

#### PRESTAZIONI SPECIFICHE

**Studi comparativi:** quattro laboratori indipendenti hanno analizzato in parallelo campioni con ImmunoCard STAT! HpSA e con Premier Platinum HpSA (Meridian Bioscience, Inc., Cincinnati, Ohio, USA), un metodo diagnostico ELISA di riferimento. Alcuni dei campioni che hanno prodotto risultati discordanti fra le due analisi sono stati inviati e controllati da un laboratorio di riferimento. I risultati dei test paralleli sono riportati di seguito. I risultati corretti sono stati calcolati dopo la verifica sui campioni discordanti eseguita dal laboratorio di riferimento.

	Risultati iniziali del test	Risultati corretti
Totale campioni analizzati	457	457
Risultati concordanti	433	436
Campioni positivi	102	105
Campioni negativi	331	331
Risultati discordanti	21	20
Premier +, ImmunoCard –	6	6
Premier –, ImmunoCard +	15	14
Risultati non determinanti	3	1
Premier ambigui, ImmunoCard +	2	1
Premier ambigui, ImmunoCard –	1	0
% di correlazione	95%	N/A

**Studi clinici:** con ImmunoCard STAT! HpSA sono stati analizzati consecutivamente campioni fecali di 227 pazienti dispeptici, che non avevano fatto uso di antibiotici o terapie a base di antiacidi, e che erano stati candidati per endoscopia. Campioni bioptici sono stati quindi prelevati per esame istologico, il test rapido all'ureasi e la coltura. I pazienti venivano definiti infetti da *H. pylori* se i test istologici e all'ureasi registravano risultati positivi, o se la coltura risultava positiva. Ottantacinque dei 227 pazienti sono stati confermati positivi per l'*H. pylori*. I risultati sono riassunti nella tabella seguente.

Accuratezza diagnostica dell'ImmunoCard STAT! HpSA prima del trattamento di eradicazione di *H. pylori*.

	Stato <i>H. pylori</i> mediante endoscopia/biopsia/gold standard		Totale
	Vero positivo	Vero negativo	
IC STAT! HpSA +	77	12	89
IC STAT! HpSA -	8	130	138
Totale	85	142	227
Stima sensibilità clinica (95% CI)	90,6% (84,9 a 97,1%)		
Stima specificità clinica (95% CI)	91,5% (87,5 a 96,5%)		
Valore premonitore, test positivo (95% CI)	86,5% (79,9 a 94,1%)		
Valore premonitore, test negativo (95% CI)	94,2% (90,1 a 97,9%)		
Correlazione (CI 95%)	91,2% (87,3 a 94,7%)		

Correlazione dei risultati dell'ImmunoCard STAT! HpSA dopo il trattamento di eradicazione di *H. pylori*

	Stato <i>H. pylori</i> mediante endoscopia/biopsia/gold standard		Totale
	Vero positivo	Vero negativo	
IC STAT! HpSA +	21	0	21
IC STAT! HpSA -	1	63	64
Totale	22	63	85
Stima sensibilità clinica (95% CI)	95,4% (da 80,0 a 100%)		
Stima specificità clinica (95% CI)	100%		
Valore premonitore, test positivo (95% CI)	100%		
Valore premonitore, test negativo (95% CI)	98,4% (da 94,5 a 100%)		
Correlazione (CI 95%)	98,8% (da 96,8 a 100%)		

**Studi Aggiuntivi:** Le prestazioni dell'anticorpo dissociato anti-*H. pylori* sono state analizzate in studi comparativi con il test ImmunoCard STAT! HpSA (test di riferimento con anticorpo nella configurazione nativa) utilizzando 150 campioni che sono stati raccolti in modalità prospettica e caratterizzati utilizzando Premier Platinum HpSA PLUS (test su piastra ELISA) ed il test di riferimento. I campioni sono stati ottenuti da pazienti con sospetta infezione da *H. pylori*. La concordanza percentuale positiva e la concordanza percentuale negativa, rispetto al test di riferimento, sono risultate rispettivamente 98,3% (56/57, CI = 90,7 – 99,7%) e 98,9% (92/93, CI = 94,1 – 99,8%).

#### SENSIBILITÀ ANALITICA

Il limite inferiore di rivelazione (LoD) di questo test è risultato essere di 64 ng/mL, in prove effettuate usando antigene sonicated preparato dal ceppo di *H. pylori* TV1970. Questo limite non varia sia che vengano usate feci formate (solide) che semi-solide.

#### RIPRODUCIBILITÀ

La riproducibilità dell'ImmunoCard STAT! HpSA è stata determinata con campioni noti negativi (n=5) e positivi (n=5), che erano stati codificati e scelti casualmente per impedirne l'identificazione. Due dei cinque campioni positivi risultavano vicino al limite di rivelazione del test. Per determinare la riproducibilità del test i campioni sono stati analizzati per tre giorni consecutivi in tre diversi luoghi. I campioni hanno prodotto i risultati attesi il 100% delle volte.



## SPECIFICITÀ DEL TEST

La specificità di ImmunoCard STAT! HpSA è stata analizzata utilizzando i ceppi batterici, virali e di lieviti riportati di seguito. Le feci positive e negative sono state inoculate con batteri o lievito a concentrazione  $\geq 1 \times 10^7$  o  $1 \times 10^5$  virus. 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*.

Adenovirus Type 2, Adenovirus Type 40, Coxsackie Type B1, Coxsackie Type B6, Echovirus Type 22, calcivirus felino, Rotavirus, Bacillus spp., *Borrelia burgdorferi*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* (2), *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* (2), *E. coli* (2), *E. coli* O157:H7 (2), *E. fergusonii*, *Helicobacter felis*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella dublin*, *Salmonella* (Group B), *Salmonella hilversum*, *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia liquefaciens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*

## 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%), Leucociti (50%), Mucina (3,4%), Acido stearico/acido palmitico (grasso fecale) (4%), Emoglobina (feci scure) (12,5%)

## STUDIO SULLA PRECISIONE DEI CONSUMATORI

Meridian ha condotto dei test sulla precisione dei consumatori che hanno utilizzato ImmunoCard STAT! HpSA nel 2003, attenendosi al metodo per i test qualitativi consigliato nella pubblicazione della FDA *Draft Guidance for Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Criteria for Waiver*, 1 marzo 2001. Un totale di 302 utenti non addestrati ha partecipato in quattro sedi di analisi. I partecipanti hanno analizzato pannelli di controllo composti da tipi di campione alto negativi, basso negativi, alto positivi e basso positivi. Si prevedeva che i campioni basso positivi e basso negativi dovessero produrre risultati incorretti il 15-20% delle volte. Il personale di laboratorio addestrato ha prodotto i risultati attesi per ciascun tipo di campione. Nel caso degli utenti non addestrati, sono stati ottenuti risultati non validi per il 4% dei campioni basso negativi, il 2% dei campioni alto negativi e il 3% dei campioni basso positivi. Non sono stati ottenuti test non validi associati a campioni alto positivi e ad utenti non addestrati. Non sono stati ottenuti risultati non validi per i test eseguiti dagli utenti addestrati. La tabella seguente mostra i dati ottenuti dagli utenti non addestrati e dagli utenti addestrati, e gli intervalli di confidenza per ciascun tipo di campione.

Tipo di campione	Tipo di partecipante	Alto negativo	Basso negativo	Basso positivo	Alto positivo	% non valido
		% negativo (95% CI)	% negativo (95% CI)	% positivo (95% CI)	% positivo (95% CI)	
Negativo	Utente non addestrato	51/51 (100%) CI = 93,0-100%	95/96 (99%) CI = 94,3-100%	N/A	N/A	3,3% (5/152)
	Utente addestrato	52/52 (100%) CI = 93,2-100%	100/100 (100%) CI = 96,4-100%	N/A	N/A	0% (0/152)
Positivo	Utente non addestrato	N/A	N/A	83/94 (88,3%) CI = 80,0-94,0%	44/51 (86,3%) CI = 73,7-94,3%	2,0% (3/149)
	Utente addestrato	N/A	N/A	97/97 (100%) CI = 96,3-100%	52/52 (100%) CI = 93,2-100%	0% (0/149)

# immunocard STAT!<sup>®</sup>

HpSA<sup>®</sup>

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

REF 750220

IVD

Rx Only

CLASSIFICATION CLIA : TEST EXEMPTÉ (tous les types de selles)

**Aux laboratoires effectuant des tests CLIA-exemptés: si le laboratoire utilisant le test modifie les instructions du système du test, alors le test est considéré comme étant d'une complexité élevée et est sujet à toutes les exigences CLIA applicables.**

#### BUT DE LA METHODE

Le test ImmunoCard STAT! HpSA est une méthode qualitative rapide *in vitro* permettant la détection d'antigènes de *Helicobacter pylori* dans les échantillons de selles humaines. La détection de ces antigènes dans les selles a pour but d'aider au diagnostic d'une infection par *H. pylori* et de démontrer l'élimination de ces antigènes dans les selles après traitement. Les pratiques médicales conventionnelles recommandent la réalisation de tests par n'importe quelle méthode pour confirmer l'élimination des antigènes au moins quatre semaines après la fin du traitement.<sup>1</sup>

#### RESUME ET EXPLICATION DU TEST

*Helicobacter pylori* a été découverte il y a plus de 20 ans par Marshall et Warren.<sup>2</sup> Cet organisme est maintenant reconnu comme étant l'un des pathogènes les plus communs et les plus importants à l'échelle mondiale.<sup>1</sup> 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.<sup>1,3-7</sup>

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.<sup>3,4,8-10</sup> Plusieurs voies de transmission possibles de *Helicobacter pylori* à l'homme ont été suggérées : animaux, eau contaminée, réservoirs buccaux.<sup>11</sup>

CLIA (pour Clinical Laboratory Improvements Amendments) est propre aux Etats-Unis et établit des standards de qualité pour les tests en laboratoire. Les tests dits CLIA-exemptés sont des examens et des procédures approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) utilisant des méthodologies si simples et précises que la probabilité de résultats incorrects est négligeable, ou qui ne posent aucun risque majeur au patient même si le dosage est réalisé de façon erronée.

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.<sup>3, 12-15</sup>

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.<sup>3, 16, 17</sup> 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.<sup>5, 11, 18</sup> 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.<sup>19-21</sup> Le récent *Rapport de consensus de Maastricht 2* 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.<sup>22</sup>

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

## PRINCIPES BIOLOGIQUES

Le test ImmunoCard STAT! HpSA utilise des anticorps monoclonaux anti-*H. pylori* dissociés 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 » après cinq minutes d'incubation à température ambiante indique un résultat positif.

## REACTIFS

**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:** bandelette chromatographique dans un boîtier en plastique emballé dans une pochette en aluminium avec un dessiccateur. La bandelette porte des anticorps de capture monoclonaux anti-*H. pylori* dissociés 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 saline tamponnée contenant de l'azotate de sodium (0,095 %) comme conservateur. Le diluant est fourni dans un flacon à capuchon rouge muni d'un bâtonnet applicateur. Conserver entre 2 et 8 C entre les utilisations.
3. **Contrôle positif:** suspension de *H. pylori* inactivé dans une solution saline tamponnée contenant de l'azotate de sodium (0,095 %) comme conservateur. Le réactif est fourni prêt à l'emploi dans un flacon compte-gouttes. Conserver entre 2 et 8 C entre les utilisations.

## MATERIEL FOURNI

1. Cartes de tests ImmunoCard STAT! HpSA, emballées sous pochette aluminium individuelle avec dessiccateur.
2. Diluant pour échantillon, en flacons compte-gouttes en plastique. Prêt à l'emploi.
3. Contrôle positif, en flacon compte-gouttes en plastique. Prêt à l'emploi.
4. Pipettes de transfert de 100 µL

## MATERIEL NECESSAIRE 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.**
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. **Laisser les éléments du coffret et les échantillons atteindre la température ambiante (20-26 C) avant de réaliser un test, car des réactifs et/ou des échantillons froids peuvent réduire la sensibilité du test. 20 à 30 minutes peuvent être nécessaires aux réactifs pour se réchauffer au sortir du réfrigérateur.**
5. **Les échantillons fécaux doivent être bien mélangés (quelle que soit leur consistance) pour assurer un échantillon représentatif avant de procéder au prélèvement.**
6. **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.**
7. **Ne pas utiliser le diluant pour échantillon ou le contrôle positif s'ils sont troubles. La turbidité peut être un signe de contamination microbienne.**
8. **Le contrôle positif contient des bactéries *H. pylori* inactivées. Il doit cependant être manipulé comme s'il était potentiellement infectieux.**
9. **Tenir le flacon de réactif à la verticale lors de la distribution pour assurer que les gouttes ont une taille correcte et qu'elles sont distribuées régulièrement.**
10. **Bien suivre la méthode décrite ici sous peine d'obtenir des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.**
11. **Bien lire les instructions du test avant d'effectuer l'analyse.**
12. **Ne pas utiliser le dispositif si l'on remarque avant utilisation que sa pochette est percée.**
13. **Il peut arriver que les particules de selles inhibent le flux de l'échantillon. Lorsque le dispositif de test n'absorbe pas facilement l'échantillon dilué, toucher délicatement le fond de la fenêtre de l'échantillon avec un bâtonnet applicateur pour bouger les particules solides de selles qui empêchent l'absorption. Alternativement, on peut prendre une nouvelle aliquote d'échantillon à partir du diluant et tester de nouveau.**
14. **Attention: La loi fédérale aux Etats-Unis limite ce dispositif aux seuls autorisés.**

## DANGER ET MISES EN GARDE

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

## PRELEVEMENT ET PREPARATION DES L'ECHANTILLONS

REMARQUE : les échantillons de selles solides ou formées, semi-solides et liquides sont des matrices approuvées pour des tests CLIA-exemptés. **NE PAS UTILISER des selles placées dans des milieux de transport, sur des écouvillons ou bien 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 ( $\leq -20$  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). À 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 µL). Ajouter l'échantillon dans le flacon de diluant pour échantillon. À l'aide de la même pipette, bien mélanger doucement l'échantillon dilué en pressant sur la poire de la pipette trois fois. Bien reboucher le flacon et bien 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 µL de selles peut entraîner un résultat faussement négatif. 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.**



Schéma de la pipette de 100 µL

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 pastille de 5 à 6 mm). Transférer la pastille dans le flacon de diluant pour échantillon. Bien reboucher le flacon et bien mélanger en passant en agitant par inversion le contenu pendant 15 secondes. Alternativement, mélange 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 (PROCEDURE CLIA EXEMPTÉE)

### 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 pour chaque échantillon de patient.
3. Retirer la carte de test ImmunoCard STAT! HpSA 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. Inscrive le nom du patient sur la carte. Préparer l'échantillon selon les instructions de la rubrique ci-dessous PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON
5. Tout en maintenant le flacon d'échantillon dilué à la verticale, tapoter doucement son culot sur la paille 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 4 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. Au bout des 5 minutes, lire les résultats dans la minute qui suit le temps d'incubation. Se reporter à la section INTERPRETATION DES RESULTATS ci-dessous pour une description des résultats positifs et négatifs du test.

## 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! pour chaque contrôle positif et négatif. Incrire sur chaque carte le nom du contrôle à doser.
3. Tenir les flacons de réactif inversés pour déposer les gouttes de réactif.
4. Ajouter 4 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 4 gouttes du diluant d'échantillon dans l'orifice d'échantillonnage de test (au niveau de la flèche) d'un autre dispositif de test.
7. Régler le minuteur sur 5 minutes et incubé le test entre 20 à 26 C.
8. Au bout des 5 minutes, lire les résultats dans la minute qui suit la fin du temps d'incubation 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 bande ROSE-ROUGE apparaît au niveau de la lettre « T » dans la fenêtre après six minutes, ou une ligne d'une autre couleur que rose-rouge est visible dans cet emplacement.
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.**

## CONTRÔLE DE QUALITE

**Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives 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.

**Contrôles externes: pour les laboratoires effectuant des tests CLIA-exemptés, la réactivité de chaque nouveau lot et de chaque nouvelle livraison de test ImmunoCard STAT! HpSA doit être vérifiée à la réception ou avant l'utilisation, en utilisant les contrôles positifs et négatifs externes, fournis dans le coffret. Chaque nouvel opérateur doit tester un contrôle positif et un contrôle négatif au moins une fois tous les 20 coffrets de test.** 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.

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. Les directives du National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, organisme national américain des normes des laboratoires cliniques) recommandent d'utiliser, s'ils sont disponibles, des matériaux de contrôle pour matrice.<sup>27</sup> Si l'utilisateur désire se conformer à la directive, il doit fournir un matériau de contrôle dans la même solution que l'échantillon.

#### VALEURS ATTENDUES

Des études sur l'épidémiologie de *H. pylori* ont indiqué que cet organisme est présent dans le monde entier.<sup>18, 23, 24</sup> 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.<sup>25, 26</sup> 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.<sup>18</sup> Les traitements d'éradication actuellement recommandés ont un taux d'efficacité se situant entre 75 et 90 %.

Le test ImmunoCard STAT! HpSA détecte la présence d'antigènes de *H. pylori* dans des 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 des tests doivent être interprétés en fonction des informations disponibles sur l'évaluation clinique du patient et d'autres démarches diagnostiques.
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, 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 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.

- 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.
- Les performances n'ont pas été établies pour des selles diarrhéiques aqueuses. Les selles aqueuses principalement composées de liquide avec peu ou très peu de matière solide peuvent donner des résultats faussement négatifs.
- Laboratoires effectuant des tests CLIA-exemptés: si le laboratoire utilisant le test modifie les instructions du système du test, alors le test est considéré comme étant d'une complexité élevée et est sujet à toutes les exigences CLIA applicables.**

## PERFORMANCE DU TEST

**Etudes comparatives:** quatre laboratoires indépendants ont testé des échantillons en parallèle avec le test ImmunoCard STAT! HpSA et une méthode diagnostique de référence in vitro: le test Elisa Premier Platinum HpSA (Meridian Bioscience, Inc., Cincinnati, Ohio, USA). Certains des échantillons donnant des résultats discordants entre les deux dosages ont été envoyés à un laboratoire de référence pour évaluation. Le tableau suivant présente les résultats des tests en parallèle. Les résultats corrigés sont calculés après l'étude des échantillons discordants par le laboratoire de référence.

	Résultats de l'essai initial	Résultats corrigés
Nombre total d'échantillons testés	457	457
Résultats de tests concordants	433	436
Echantillons positifs	102	105
Echantillons négatifs	331	331
Résultats de tests discordants	21	20
Premier +, ImmunoCard -	6	6
Premier -, ImmunoCard +	15	14
Résultats de tests indéterminés	3	1
Premier ambigu, ImmunoCard +	2	1
Premier ambigu, ImmunoCard -	1	0
% corrélation	95%	N/A

**Etudes cliniques:** des échantillons fécaux provenant de 227 patients dyspeptiques consécutifs, qui n'étaient pas sous traitement anti-acide ni antibiotique et qui ont été reçus pour une endoscopie, ont été soumis au test ImmunoCard STAT! HpSA. Des échantillons biopsiques ont été prélevés à des fins d'histologie, de test rapide à l'uréase et de culture.

Les patients ont été définis comme étant infectés par *H. pylori* si l'histologie, les tests à l'uréase ou la culture étaient positifs. Sur les 227 patients, 85 d'entre eux ont été diagnostiqués *H. pylori* positifs. Le tableau suivant récapitule les résultats.

### Précision diagnostique du test ImmunoCard STAT! HpSA avant et après traitement d'éradication *H. pylori*.

	Status <i>H. pylori</i> par endoscopie/biopsie/méthode de référence		Total
	Vrai positif	Vrai négatif	
IC STAT! HpSA +	77	12	89
IC STAT! HpSA -	8	130	138
Total	85	142	227
Sensibilité clinique estimée (95% IC)	90,6% (84,9 à 97,1%)		
Spécificité clinique estimée (95% IC)	91,5% (87,5 à 96,5%)		
Valeur prédictive positive(95% IC)	86,5% (79,9 à 94,1%)		
Valeur prédictive négative (95% IC)	94,2% (90,1 à 97,9%)		
Corrélation (95% IC)	91,2% (87,3 à 94,7%)		



### Corrélation des résultats du test ImmunoCard STAT! HpSA avec traitement d'éradication

	Status <i>H. pylori</i> par endoscopie/biopsie/méthode de référence		Total
	Vrai positif	Vrai négatif	
IC STAT! HpSA +	21	0	21
IC STAT! HpSA -	1	63	64
Total	22	63	85
Sensibilité clinique estimée (95% IC)	95,4 % (80,0 à 100%)		
Spécificité clinique estimée (95 % IC)	100 %		
Valeur prédictive positive (95% IC)	100 %		
Valeur prédictive négative (95% IC)	98,4% (94,5 à 100 %)		
Corrélation ( 95% IC)	98,8% (96,8 à 100 %)		

**Études supplémentaires:** Les performances de l'anticorps anti-*H. pylori* dissocié ont été analysées dans des études comparatives en utilisant l'ImmunoCard STAT! HpSA (dispositif de référence présentant une configuration d'anticorps native) et 150 échantillons recueillis de façon prospective et caractérisés avec le Premier Platinum HpSA PLUS (EIA) et le test de référence. Les échantillons ont été prélevés chez des patients suspectés d'avoir des infections à *H. pylori*. Les pourcentages de concordance des positifs et négatifs par rapport au test de référence étaient de 98,3% (56/57, CI = 90,7 à 99,7%) et 98,9% (92/93, CI = 94,1 à 99,8%), respectivement.

#### SENSIBILITE ANALYTIQUE

La limite inférieure de détection de ce dosage est de 64 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.

#### REPRODUCTIBILITE DU TEST

La reproductibilité du test ImmunoCard STAT! HpSA a été déterminé en utilisant des échantillons négatifs (n=5) et positifs (n=5) connus. Les échantillons étaient codés et classés de façon aléatoire pour ne pas être reconnus. Deux des cinq échantillons positifs étaient proches de la limite de détection du dosage. Les échantillons de reproductibilité ont été testés durant trois jours consécutifs par trois sites indépendants. Les résultats attendus ont été observés dans tous les cas (100%).

#### SPECIFICITE DEL TEST

La spécificité du test ImmunoCard STAT! HpSA a été testée en utilisant les souches bactériennes, virales et de levure suivantes. Des selles positives et négatives ont été ensemencées avec  $\geq 1 \times 10^7$  de bactéries ou de levure ou  $1 \times 10^5$  de virus. 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 été ensemencées avec la souche 43504 de *Helicobacter pylori*.

Adenovirus Type 2, Adenovirus Type 40, Coxsackie Type B1, Coxsackie Type B6, Echovirus Type 22, Feline calicivirus, Rotavirus, espèces *Bacillus*, *Borrelia burgdorferi*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* (2), *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* (2), *E. coli* (2), *E. coli* O157:H7 (2), *E. fergusonii*, *Helicobacter felis*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella dublin*, *Salmonella* (Group B), *Salmonella hilversum*, *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia liquefaciens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*

## 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 %), Acide stéarique/acide palmitique (graisses fécales) (4 %), Hémoglobine (selles visqueuses) (12,5 %)

## ETUDE DE PRECISION POUR LE CLIENT

Meridian a mené une vérification de précision pour ImmunoCard STAT! HpSA en 2003 selon la méthode recommandée pour les analyses qualitatives décrite dans *Draft Guidance for Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Criteria for Waiver*, mars 1, 2001 de la FDA. Un total de 302 utilisateurs non formés a participé répartis sur quatre sites de test. Les participants ont analysé des échantillonnages constitués d'échantillons fortement négatifs, faiblement négatifs, fortement positifs et fortement négatifs. On s'attendait à ce que les échantillons faiblement positifs et faiblement négatifs donnent des résultats incorrects 15 à 20% du temps. Le personnel laborantin formé a généré les résultats attendus pour chaque type d'échantillon. Entre les mains d'utilisateurs non formés, les résultats non valides se sont produits 4% du temps pour les échantillons faiblement négatifs, 2% du temps pour les échantillons fortement négatifs et 3% du temps pour les échantillons faiblement positifs. Aucun test non valide n'a été associé aux échantillons fortement positifs et à un utilisateur non formé. Il n'y a eu aucun résultat non valide avec un utilisateur formé. Le tableau ci-dessous résume les données obtenues par les utilisateurs non formés et formés ainsi que les intervalles de confiance calculés pour chacun des types d'échantillon.

Type d'échantillon	Participant	Fortement négatif -- % négatif (IC à 95%)	Faiblement négatif -- % négatif (IC à 95%)	Faiblement positif -- % positif (IC à 95%)	Fortement positif -- % positif (IC à 95%)	% non valide
Négatif	Utilisateur non formé	51/51 (100 %) IC = 93,0-100%	95/96 (99 %) IC = 94,3-100%	s.o.	s.o.	3,3% (5/152)
	Utilisateur formé	52/52 (100 %) IC = 93,2-100%	100/100 (100%) IC = 96,4-100%	s.o.	s.o.	0% (0/152)
Positif	Utilisateur non formé	s.o.	s.o.	83/94 (88,3%) IC = 80,0-94,0%	44/51 (86,3%) IC = 73,7-94,3 %	2,0% (3/149)
	Utilisateur formé	s.o.	s.o.	97/97 (100%) IC = 96,3-100%	52/52 (100%) IC = 93,2-100%	0% (0/149)

**ESPAÑOL**

# immunocard STAT!<sup>®</sup>

HpSA<sup>®</sup>

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

REF 750220

IVD

Rx Only

COMPLEJIDAD DE CLIA – EXENTA (TODO TIPO DE HECES)

**Laboratorios que ejecutan la prueba CLIA – Exenta:** Si el laboratorio que usa la prueba modifica las instrucciones del sistema de prueba, entonces la prueba se considera de alta complejidad y sujeta a todo los requisitos de CLIA que apliquen.

#### USO INDICADO

La prueba ImmunoCard STAT! HpSA es un procedimiento cualitativo, rápido para la detección e in vitro de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal humana. El objetivo de la detección de antígenos es facilitar el diagnóstico de la infección por *H. pylori* y demostrar la desaparición de antígenos en la materia fecal después del tratamiento. La práctica médica convencional recomienda que las pruebas por cualquier método para confirmar la desaparición de antígenos se hagan por lo menos cuatro semanas después de haberse terminado la terapia.<sup>1</sup>

#### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Desde que fue descubierto por Marshall y Warren,<sup>2</sup> más de 20 años atrás, el *Helicobacter pylori* es reconocido ahora como uno de los patógenos más comunes y médicamente más importantes de todo el mundo.<sup>1</sup> El *Helicobacter pylori* está firmemente establecido como agente etiológico en la gastritis crónica, la afección de úlcera péptica, el linfoma tisular linfoide y el adenocarcinoma gástrico asociados con la mucosa.<sup>1, 3, 7</sup>

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.<sup>3, 4, 8-10</sup> 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.<sup>11</sup>

CLIA (Clinical Laboratory Improvements Amendments) representa en los Estados Unidos la Reforma de Mejoras para los Laboratorios Clínicos, la cual establece estándares de calidad para los laboratorios en los Estados Unidos. Pruebas que son CLIA – Exenta son pruebas simples de laboratorio con procedimientos que son aprobados por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (US FDA) y que utilizan metodologías que son tan simples y certeras que la oportunidad de obtener resultados erróneos son insignificantes o no poseen un riesgo adverso al paciente si la prueba se corre incorrectamente.

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.<sup>3, 12-15</sup>

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.<sup>3, 16, 17</sup>

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.<sup>6, 11, 18</sup> 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.<sup>19-21</sup> El reciente Informe del Consenso Maastricht 2 recomienda el uso de pruebas de antígeno en materia fecal y pruebas de UBT como auxiliares de diagnóstico de la enfermedad por *H. pylori* en el ámbito de la atención primaria.<sup>22</sup>

La prueba ImmunoCard STAT! HpSA 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 utiliza un desasociado 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, al cabo de cinco 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.

## REACTIVOS

**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:** una tira cromatográfica alojada en un soporte plástico y envuelta en una bolsa de complejo aluminico con un desecante. La tira contiene el anticuerpo monoclonal de captura desasociado 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 salina tamponada ("buffer") que contiene azida de sodio (0,095%) como agente preservante. El Diluyente de Muestra se suministra en un frasco de tapa roja con una punta aplicadora. Almacene a una temperatura de 2-8 C cuando no esté en uso.
3. **Control positivo:** una suspensión de *H. pylori* inactivada en una solución salina tamponada que contiene azida sódica (0,095%) como agente preservante. El reactivo se suministra listo para usar. Almacene a una temperatura de 2-8 C cuando no esté en uso.

## MATERIALES PROPORCIONADOS

1. Dispositivos de ensayo ImmunoCard STAT! HpSA, en bolsas de complejo aluminico individuales con desecante.
2. Diluyente de la Muestras, en frasco gotero plástico. Listo para usar.
3. Control Positivo, en frasco gotero de plástico. Listo para usar.
4. Pipetas de transferencia de 100 µL.

## **MATERIALES NO PROPORCIONADOS**

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 riesgo biológico.
2. Agitador mecánico (Vortex®) para efectuar la suspensión de la materia fecal en el Diluyente para Muestra (OPCIONAL)
3. Reloj.

## **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.
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. Deje que los componentes del lote y las muestras alcancen la temperatura ambiente (20-26 C) antes de realizar la prueba, porque los componentes o muestras frías pueden reducir la sensibilidad del ensayo. Los reactivos pueden tomar de 20 a 30 minutos para alcanzarla temperatura ambiente después de la refrigeración.
5. Las muestras de materia fecal deben ser cuidadosamente mezcladas (cualquiera que sea su consistencia) para asegurar que éstas sean representativas del material antes de obtener la muestra.
6. Inspeccione los Dispositivos de ensayo antes de sacarlos de la bolsa de complejo aluminio. No utilice Dispositivos de ensayo que tengan agujeros en la bolsa complejo 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.
7. No utilice el Diluyente de Muestra o el Control Positivo si están turbios. La turbidez puede ser una señal de contaminación microbiana.
8. Aunque el Control Positivo contiene *H. pylori* inactivado, éste debe manejarse como potencialmente peligroso.
9. Aguante el vial de reactivo completamente vertical cuando dispense las gotas para asegurarse de que son consistente en el tamaño.
10. No se desvíe del método descrito aquí ya que puede obtener resultados falsos positivos o falsos negativos.
11. Debe leer las instrucciones de como ejecutar la prueba completamente antes de correr la prueba.
12. No debe usar el dispositivo de prueba si la bolsa está perforada antes de usarse.
13. A veces, partículas pueden interferir con el flujo de la muestra. En casos donde el dispositivo de muestra no absorbe la muestra con facilidad, puede gentilmente tocar el fondo del pocillo de muestra con un aplicador de madera, moviendo las partículas sólidas de la muestra que puedan prevenir la absorción. Alternamente, se puede remover otra muestra del Diluyente y correr la prueba de nuevo.
14. Cuidado: Leyes Federales limitan la venta del dispositivo por o en la orden de un médico.

## **DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN**

No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

## RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

NOTA: Muestras de heces sólidas o formadas, semisólidas y líquidas son aprobadas como matrices para uso con la prueba de CLIA – Exento. **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 período 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 ( $\leq -20$  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 kit), aspire la muestra que ha sido mezclada hasta la segunda marca desde la punta (100  $\mu$ 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  $\mu$ L de materia fecal puede causar un resultado falso negativo. La adición de más de 100  $\mu$ L de materia fecal puede ocasionar resultados inválidos debido a que la muestra no fluye apropiadamente.**



Figura de la pipeta de 100  $\mu$ 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 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  $\mu$ L de materia fecal puede invalidar el resultado debido a que la muestra no fluye apropiadamente.**

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA (CUALIFICA COMO PROCEDIMIENTO CLIA - EXENTO)

### 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 por cada muestra del paciente.
3. Retire el Dispositivo de ensayo ImmunoCard STAT! HpSA de la bolsa de complejo aluminio. El dispositivo está marcado para indicar donde aparecerá la línea de "test" y control. El puerto de muestreo marcado con una flecha es la ventana donde se añade la muestra.
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 4 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. Al final de los 5 minutos, lea los resultados dentro de 1 minuto. Vea la sección de INTERPRETACION DE RESULTADOS para la descripción de los resultados positivos y negativos.

## 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!* 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 4 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 4 gotas del diluyente de la muestra en el puerto de muestreo (en la flecha) de otro dispositivo de prueba.
7. Inicie el cronómetro e incube la prueba a 20-26 C por 5 minutos.
8. Al final de los 5 minutos, lea los resultados dentro de 1 minuto.

## 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 contigua 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. (Una 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. Si la línea ROSA-ROJA aparece en la ventana del dispositivo contigua a la letra "T" después de seis minutos, o si en la misma posición hay una línea de un color distinto al rosa-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.***

**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 el prueba e indica deterioro de reactivo, muestra inapropiada o un funcionamiento inapropiado de la prueba.

**Controles Externos: Para Laboratorios ejecutando pruebas CLIA – Exenta, la reactividad de cada lote nuevo o embarque de Dispositivo de Prueba ImmunoCard STAT! HpSA debe de ser verificado al ser recibido usando los controles Positivos y Negativos externos incluidos en el kit.** Cada operador no entrenado debe correr un control positivo y negativo por lo menos una vez por cada 20 pruebas. 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.

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. Las pautas del Comité Estadounidense para Estándares de Laboratorio Clínico (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) recomiendan usar materiales de control de matriz cuando éstos son disponibles.<sup>27</sup> Si el usuario desea cumplir con esta pauta él mismo deberá proporcionar material de control en matriz.

## VALORES ESPERADOS

Los estudios sobre la epidemiología del *H. pylori* han mostrado que este organismo está presente en todo el mundo.<sup>18, 23, 24</sup> 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.<sup>25, 26</sup> 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%.<sup>18</sup> Los tratamientos de erradicación que se recomiendan actualmente tienen una tasa de eficacia de 75% a 90%.

La prueba de ImmunoCard STAT! HpSA 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 usarse en conjunto con la información clínica disponible del paciente y otros procedimientos diagnósticos.



- Se sabe que los antibióticos, los inhibidores de la bomba de protones, 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. En tales casos, se repetirá el ensayo sobre una nueva muestra obtenida dos semanas después de haber suprimido el tratamiento. Un resultado positivo para un paciente que hay ingerido esos compuestos dentro de las dos semanas anteriores a la realización de la prueba de ImmunoCard STAT! HpSA deberá considerarse exacto.
- 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.
- No se han establecido las características de funcionamiento en materias fecales diarreas líquidas. Las materias fecales líquidas, compuestas principalmente por fluidos con poco o ningún material sólido, pueden dar resultados falsos negativos de la prueba.
- Laboratorios que realizan pruebas CLIA-Exenta: Si el laboratorio de uso modifica las instrucciones del sistema de prueba, entonces la prueba se considera de alta complejidad y sujeta a todos los requisitos de CLIA.**

## CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

**Estudios comparativos:** cuatro laboratorios independientes ensayaron muestras en paralelo con la prueba ImmunoCard STAT! HpSA y un método de referencia de diagnóstico *in vitro* de ELISA; Premier Platinum HpSA (Meridian Bioscience, Inc., Cincinnati, OH). Algunas de las muestras que dieron resultados discordantes entre las dos pruebas fueron enviadas a un laboratorio de referencia para ser evaluadas. Los resultados de las pruebas paralelos se indican a continuación. Los resultados corregidos fueron calculados de conformidad con la investigación de las muestras discordantes hecha por el laboratorio de referencia.

	Resultados iniciales	Resultados corregidos
Total de muestra ensayadas	457	457
Resultados concordantes	433	436
Muestras positivas	102	105
Muestras negativas	331	331
Resultados discordantes	21	20
Premier +, ImmunoCard -	6	6
Premier -, ImmunoCard +	15	14
Resultados indeterminados	3	1
Premier equivoco, ImmunoCard +	2	1
Premier equivoco, ImmunoCard -	1	0
% de correlación	95%	N/A%

**Estudios clínicos:** Se realizaron ensayos con la prueba ImmunoCard STAT! HpSA de muestras de materia fecal de 227 pacientes dispépticos consecutivos, que no estaban recibiendo terapia supresora de ácidos ni antibióticos, y que habían sido referidos para endoscopia. Se extrajeron muestras de biopsia para histología, prueba rápida de ureasa y cultivo. Se definió a los pacientes como infectados con *H. pylori* si la histología y las pruebas de ureasa daban resultados positivos, o si el cultivo era positivo. Se determinó que ochenta y cinco de los 227 pacientes tuvieron resultados positivos para *H. pylori*. Los resultados se resumen en el cuadro siguiente.

Exactitud diagnóstica de ImmunoCard STAT! HpSA antes y después del tratamiento de erradicación de *H. pylori*.

	Estado de <i>H. pylori</i> en endoscopia/biopsia/prueba de referencia		Total
	Positivo verdadero	Negativo verdadero	
IC STAT! HpSA +	77	12	89
IC STAT! HpSA -	8	130	138
Total	85	142	227
Sensibilidad clínica estimada (IC 95%)	90,6% (84,9 a 97,1%)		
Especificidad clínica estimada (IC 95%)	91,5% (87,5 a 96,5%)		
Valor predictivo de un test positivo (IC 95%)	86,5% (79,9 a 94,1%)		
Valor predictivo de un test negativo (IC 95%)	94,2% (90,1 a 97,9%)		
Correlación (IC 95%)	91,2% (87,3 a 94,7%)		

Correlación entre los resultados de la prueba ImmunoCard STAT! HpSA y el tratamiento de erradicación

	Estado de <i>H. pylori</i> en endoscopia/biopsia/prueba de referencia		Total
	Positivo verdadero	Negativo verdadero	
IC STAT! HpSA +	21	0	21
IC STAT! HpSA -	1	63	64
Total	22	63	85
Sensibilidad clínica estimada (IC 95%)	95,4% (80,0 a 100%)		
Especificidad clínica estimada (IC 95%)	100%		
Valor predictivo de un test positivo (IC 95%)	100%		
Valor predictivo de un test negativo (IC 95%)	98,4% (94,5 a 100%)		
Correlación (IC 95%)	98,8% (96,8 a 100%)		

**Estudios Adicionales:** El rendimiento del anticuerpo desasociado de anti-*H. pylori* se comparó en estudios paralelos al ensayo ImmunoCard STAT! HpSA (el dispositivo predicado configurado con anticuerpos nativos) usando 150 muestras que fueron obtenidas prospectivamente y cualificadas usando Premier Platinum HpSA PLUS (EIA) y el predicado. Las muestras fueron recogidas de pacientes con sospecha de tener infección de *H. pylori*. El porcentaje positivo y negativo de concordancia en comparación al predicado fue 98,3% (56/57, CI = 90,7 – 99,7%) y 98,9% (92/93, CI = 94,1 – 99,8%), respectivamente.

#### **SENSIBILIDAD ANALÍTICA**

El límite de detección inferior de este prueba es de 64 ng/mL de antígeno sonicado preparado de la cepa TN1970 de *H. pylori*. Este límite no varía de materia fecal sólida (formada) a semi-sólida.

#### **REPRODUCIBILIDAD**

La reproducibilidad de ImmunoCard STAT! HpSA fue determinada con muestras conocidas negativas (n=5) y positivas (n=5), las cuales fueron corridas sin marcas o identificación. Dos de las muestras positivas estaban cerca del límite de detección de la prueba. Las muestras de reproducibilidad se corrieron en tres días consecutivos y en tres instituciones independientes. Las muestras produjeron los resultados esperados 100% del las veces.

## ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA

Se evaluó la especificidad de la prueba ImmunoCard STAT! HpSA utilizando las siguientes cepas de bacterias, virus y levaduras. Las muestras positivas y negativas fueron inyectadas con una cantidad de  $\geq 1 \times 10^7$  bacterias o levaduras o  $1 \times 10^5$  virus. Ninguno de los microorganismos evaluados arrojó un resultado positivo en las muestras de materia fecal negativas ni interfirió con la detección de las muestras de materia fecal positivas. Tanto las muestras de materia fecal positivas como las negativas dieron resultados positivos cuando se inyectaron con la cepa *Helicobacter pylori* 43504.

Adenovirus Tipo 2, Adenovirus Tipo 40, Coxsackie Tipo B1, Coxsackie Tipo B6, Echovirus Tipo 22, Calicivirus felino, Rotavirus, cepas de Bacilo, *Borrelia burgdorferi*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* (2), *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* (2), *E. coli* (2), *E. coli* O157:H7 (2), *E. fergusonii*, *Helicobacter felis*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella dublin*, *Salmonella* (Grupo B), *Salmonella hiversum*, *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (cepa Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia liquefaciens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* y *Yersinia enterocolitica*.

## PRUEBAS PARA SUBSTANCIAS 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%), Ácido esteárico o palmítico (grasa fecal) (4%), Hemoglobina (melenas) (12,5%)

## ESTUDIO DE PRECISIÓN DEL CONSUMIDOR

Meridian llevó a cabo un estudio de precisión del consumidor de ImmunoCard STAT! HpSA en 2003 siguiendo el método recomendado para pruebas cualitativas descrito en el documento de la FDA "Draft Guidance for Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Criteria for Waiver" marzo 1ro del 2001. Participaron un total de 302 usuarios sin entrenamiento en cuatro localidades. Los participantes corrieron paneles de proficiencia que consistían de muestras negativos altos, negativos bajos, positivos fuertes y positivos débiles. Las muestras positivo débiles y negativo bajos se esperaba que dieran resultados incorrectos de 15-20% del tiempo. Personal de laboratorio que está entrenado generaron los resultados esperados para cada tipo de muestra. En las manos de usuarios no entrenados, se obtuvo resultados inválidos con 4% de los negativos bajos, 2% con los negativos altos y 3% con los positivos débiles. No hubo resultados inválidos asociado con las muestras positivas fuertes y los usuarios no entrenados. No hubo resultados inválidos con los usuarios entrenados. La tabla abajo contiene los resultados obtenidos por los usuarios entrenado y no entrenados, y el intervalo de confianza calculado para cada tipo de muestra.

Tipo de Muestra	Tipo de Participante	Alto Negativo % Negativo (95% CI)	Bajo Negativo % Negativo (95% CI)	Débil Positivo % Positivo (95% CI)	Fuerte Positivo % Positivo (95% CI)	% Inválido
Negativo	Usuario No Entrenado	51/51 (100%) CI =93.0-100%	95/96 (99%) CI =94.3-100%	N/A	N/A	3.3% (5/152)
	Usuario Entrenado	52/52 (100%) CI = 93.2-100%	100/100 (100%) CI =96.4-100%	N/A	N/A	0% (0/152)
Positivo	Usuario No Entrenado	N/A	N/A	83/94 (88.3%) CI = 80.0-94.0%	44/51 (86.3%) CI = 73.7-94.3%	2.0% (3/149)
	Usuario Entrenado	N/A	N/A	97/97 (100%) CI = 96.3-100%	52/52 (100%) CI = 93.2-100%	0% (0/149)

**DEUTSCH**

# immunocard STAT!<sup>®</sup>

HpSA<sup>®</sup>

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

**REF** 750220

**IVD**

**Rx Only**

**CLIA-KATEGORIE** (CLIA = Clinical Laboratory Improvement Act, ein US-amerikanischer Laboroptimierungserlass): „WAIVED TEST“, d. h. ein von bestimmten Auflagen befreiter „einfacher“ Test (für alle Stuhltypen)

Labors, die CLIA-WAIVED-Tests durchführen: Verändert das Anwenderlabor die Testsystemanweisungen, ist der Test als einer zu erachten der hohe Komplexität aufweist und der damit allen einschlägigen CLIA-Auflagen unterliegt.

## VERWENDUNGSZWECK

Der ImmunoCard STAT! HpSA Test bietet eine schnelle, qualitative In-vitro-Methode zum Nachweis von *Helicobacter pylori*-Antigenen im menschlichen Stuhl. Der Nachweis dieser Koproantigene soll die Diagnose von *H. pylori*-Infektionen unterstützen und nach einer Behandlung die Eradikation der *H. pylori*-Antigene aus dem Stuhl demonstrieren. In der herkömmlichen medizinischen Praxis wird allgemein empfohlen, alle Testmethoden zum Nachweis der Eradikation der Antigene mindestens vier Wochen nach Beendigung der Therapie auszuführen.<sup>1</sup>

## ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Seit seiner Entdeckung vor mehr als 20 Jahren durch Marshall und Warren,<sup>2</sup> ist *Helicobacter pylori* als eines der weltweit häufigsten und medizinisch wichtigsten Pathogene bekannt.<sup>1</sup> Es ist mit Sicherheit erwiesen, dass *Helicobacter pylori* an den Ursachen chronischer Gastritis, Ulkuskrankheit, Lymphom im Lymphgewebe der Magenschleimhaut und Adenokarzinom des Magens maßgeblich beteiligt ist.<sup>1, 3-7</sup>

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.<sup>3, 4, 8-10</sup> 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.<sup>11</sup>

CLIA (für Clinical Laboratory Improvements Amendments) ist ein US-amerikanischer Laboroptimierungserlass. Die CLIA "Waived" Tests sind einfache Laboranalysen und Testanweisungen die von der FDA (US Food and Drug Administration) überprüft wurden. Diese Methoden sind so einfach und genau dass die Möglichkeit ungültiger Resultate sehr gering ist und ebenso erweisen Sie ein geringes Risiko für den Patienten sollte der Test unkorrekt durchgeführt worden sein.

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 untersucht. 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.<sup>3, 12-15</sup>

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.<sup>3, 16, 17</sup> 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.<sup>6, 11, 18</sup> Der Stuhl-Antigentest ist gründlich erforscht und als genauer, nicht-invasiver Test für den Einsatz vor und nach der Behandlung anerkannt.<sup>19-21</sup> Der kürzlich erschienene „Maastricht 2 Consensus Report“ empfiehlt den Einsatz von Stuhl-Antigentests und Harnstoff-Atemtests zur Unterstützung der Diagnose einer *H. pylori*-Erkrankung in der ärztlichen Praxis.<sup>22</sup>

Der ImmunoCard STAT! HpSA ist ein schneller Immunoassay mit lateraler Flussrichtung und dient zum Nachweis von *H. pylori*-Antigenen im menschlichen Stuhl.

## **BIOLOGISCHE PRINZIPIEN**

Der ImmunoCard STAT! HpSA-Test verwendet dissoziierte monoklonale Anti-*H. pylori*-Antikörper als Erfassungs- und Nachweisantikörper. Eine verdünnte Stuhlprobe des Patienten wird in die Probenöffnung des Testgeräts gegeben. Erscheint nach einer fünf Minuten dauernden Inkubation bei Raumtemperatur eine rosarote Linie im Ablesefenster neben dem Buchstaben T, ist das Ergebnis positiv.

## **REAGENZIEN**

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

1. ImmunoCard STAT! HpSA-Testgerät: Ein in einem Kunststoffrahmen befindlicher chromatografischer Teststreifen, in einem verschlossenen Folienbeutel mit Trockenmittel. Auf dem Streifen befinden sich dissoziierte 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 Geräte bis zur Verwendung bei 2-8 C lagern. Nicht einfrieren.
2. Proben diluent: Eine gepufferte Salzlösung mit Natriumazid (0,095 %) als Konservierungsmittel. Das Probenverdünnungsmittel wird in einem Fläschchen mit rotem Verschluss und Spatelspitze geliefert. Bis zur Verwendung bei 2-8 C lagern.
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 Tropferfläschchen geliefert. Bis zur Verwendung bei 2-8 C lagern.

## **ENTHALTENE MATERIALIEN**

1. ImmunoCard STAT! HpSA-Testgeräte, in einzelnen Folienbeuteln mit Trockenmittel.
2. Proben diluent, in Tropferfläschchen aus Kunststoff. Im Lieferzustand zu verwenden.
3. Positive Kontrolle, in einem Tropferfläschchen aus Kunststoff. Im Lieferzustand zu verwenden.
4. 100-µL-Transferpipetten

## **BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN**

1. Einmal-Handschuhe aus Latex, die beim Umgang mit den Stuhlproben getragen werden sollten, da derartige Proben potenziell biogefährlich sind
2. Vortexmischer für das Suspendieren 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.
3. Reagenzien verschiedener Kit-Chargennummern nicht gegeneinander austauschen. Kitkomponenten nicht über das in der Kitkennzeichnung angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
4. Die Kitkomponenten und Proben vor Durchführung eines Tests Zimmertemperatur (20-26 C) erreichen lassen, da kalte Reagenzien und/oder Proben die Assay-Empfindlichkeit beeinträchtigen können. Das Aufwärmen der Reagenzien nach der Entnahme aus dem Kühlschrank kann 20-30 Minuten in Anspruch nehmen.
5. Stuhlproben sind (ungeachtet ihrer Konsistenz) gründlich zu mischen, um vor der Probenahme eine repräsentative Probe zu garantieren.-
6. Vor dem Entfernen des Folienbeutels das Testgerät untersuchen. Testgeräte deren Folienbeutel Löcher aufweisen bzw. deren Folienbeutel nicht vollständig verschlossen sind, nicht verwenden. Der Zerfall unsachgemäß gelagerter Teststreifen kann zu falsch-negativen Reaktionen führen.
7. Probendiluent oder positive Kontrolle nicht verwenden, falls sie trübe aussehen. Trübheit kann ein Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination sein.
8. Die positive Kontrollprobe ist als potenziell infektiös zu handhaben, obwohl sie inaktivierte *H. pylori* enthält.
9. Die Reagenzienfläschchen bei der Tropfenabgabe senkrecht halten, um eine einheitliche Tropfengröße und Zufügung zu gewährleisten.
10. Abweichungen von der hier beschriebenen Methode können zu falsch-positiven bzw. falsch-negativen Ergebnissen führen.
11. Die Testanweisungen sind vor jeder Testdurchführung gründlich durchzulesen.
12. Geräte, deren Beutel vor Gebrauch punktiert wurden, nicht verwenden.
13. Mitunter können Feststoffe den Probenfluss anfänglich stören. Wenn das Testgerät die verdünnte Probe nicht problemlos absorbiert, die Unterseite der Probenöffnung vorsichtig mit einem Spatelstäbchen berühren, um evtl. die Stuhlpartikel, die die Absorption verhindern zu verschieben. Es kann auch eine neue Teilmenge der Probe aus dem Probenverdünnungsmittel aufgenommen und ein neuer Test durchgeführt werden.
14. Vorsicht: Der Verkauf oder die Verschreibung dieses Produkts durch einen niedergelassenen Arzt unterliegt den Beschränkungen des Bundesgesetzes.

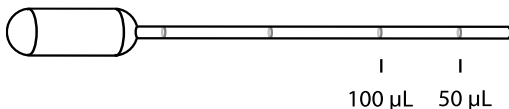
## **GEFÄHREN UND SICHERHEITSHINWEISE**

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

## PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG

HINWEIS: Feste oder geformte, halb feste und flüssige Stuhlproben sind das genehmigte Probenmaterial für CLIA-WAIVED-Tests. **Stuhl in Transportmedien, auf Abstrichupfern oder mit Konservierungsmittel vermischten Stuhl 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, können die Proben unmittelbar nach Eingang eingefroren und bis zum Testen gefroren (bei  $\leq -20$  C) gelagert werden. Proben dürfen zweimal tiefgekühlt und wieder aufgetaut werden. Stuhlproben (ungeachtet ihrer Konsistenz) vor dem Testen gründlich mischen.

1. **Flüssige oder halb feste Stühle** – Den roten Verschluss des Probenverdünnungsmittelfläschchens 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  $\mu$ L) aufnehmen. Die Probe in das Probenverdünnungsmittelfläschchen abgeben. Mit Hilfe der-selben Transferpipette die verdünnte Probe gründlich, jedoch behutsam mischen; hierzu den Pipettenbalg dreimal zusammendrücken. Das Fläschchen wieder fest verschließen und den Inhalt durch 15 Sekunden andauerndes Schwenken gründlich durchmischen. Alternativ hierzu kann das Material auch 15 Sekunden lang mit einem Vortexmischer gemischt werden. **HINWEIS: Vorsicht beim Pipettieren von halbfestem Stuhl. Wenn weniger als 100  $\mu$ L Stuhl hinzugefügt werden, kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Wenn mehr als 100  $\mu$ L Stuhl hinzugefügt werden, kann es durch eingeschränkten Probenfluss zu einem ungültigen Ergebnis kommen.**



Figur von 100  $\mu$ L pipette

2. **Gerformte/Feste Stühle** – Den roten Verschluss des Probenverdünnungsmittelfläschchens 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 Probenverdünnungsmittelfläschchen transferieren. Das Fläschchen wieder gut verschließen und den Inhalt durch 15 Sekunden andauerndes Schwenken gründlich durchmischen. Alternativ hierzu kann das Material auch 15 Sekunden lang mit einem Vortexmischer gemischt werden. Hölzerne Applikatorstäbchen können auch dazu benutzt werden, festen Stuhl in das Probendiluent zu transferieren. **HINWEIS: Wenn ein zu geringes Stuhlvolumen transferiert wird oder der Stuhl nicht vollständig im Probendiluent vermischt und suspendiert wird, kann dies falsch-negative Testergebnisse zur Folge haben. Es ist darauf zu achten, weder mehr noch weniger als die vorgeschriebene Menge zu transferieren. Das Hinzufügen von mehr als 100  $\mu$ L Stuhl kann infolge eingeschränkten Probenflusses zu ungültigen Ergebnissen führen.**

## TESTDURCHFÜHRUNG (DARF ALS CLIA-WAIVED-VERFAHREN ANGESEHEN WERDEN)

### A. Test

1. Alle Testgeräte, Reagenzien und Proben vor dem Testen auf Zimmertemperatur (20-26 C) bringen.
2. Für jede Patientenprobe jeweils 1 ImmunoCard STAT! HpSA-Testgerät verwenden.
3. Das ImmunoCard STAT! HpSA-Testgerät aus dem Folienbeutel entnehmen. Das Testgerät ist 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. Das Gerät mit dem Namen des Patienten versehen. Die Probe gemäß den Anweisungen im vorhergehenden Abschnitt „PROBENNAHME 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 4 Tropfen des verdünnten Probenmaterials in die Probenöffnung (dort, wo sich der Pfeil befindet) der Testvorrichtung. Die Spitze des Fläschchens darf das Testgerät nicht berühren.
9. Einen Zeitgeber entsprechend einstellen und den Test 5 Minuten lang bei 20–26 C inkubieren.
10. Nach Ablauf von 5 Minuten das Ergebnis innerhalb von 1 Minute ablesen. Beschreibungen positiver bzw. negativer Testergebnisse enthält der Abschnitt ERGEBNISINTERPRETATION.

## 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 1 Immuno Card STAT!-Testgerät verwenden. Jedes Gerät mit der Bezeichnung der zu testenden Kontrolle versehen.
3. Die Reagenzfläschchen zur Reagenzienabgabe umdrehen.
4. Geben Sie 4 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 Probenverdünnungsmittelfläschchens abbrechen.
6. Geben Sie 4 Tropfen des Probenverdünners in die Probenöffnung (dort, wo sich der Pfeil befindet) einer anderen Testvorrichtung.
7. Einen Zeitgeber entsprechend einstellen und die Tests 5 Minuten lang bei 20–26 C inkubieren.
8. Nach Ablauf von 5 Minuten die Ergebnisse innerhalb von 1 Minute nach Testabschluss ablesen.

## AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

**Negatives Testergebnis:** Nur eine BLAUE Linie (Kontrolllinie) verläuft quer über das Mittelfenster des Geräts, 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 behindern.

**Positives Testergebnis:** Außer der BLAUEN Linie (Kontrolllinie), verläuft auch eine weitere, ROSAROTE Linie (Testlinie) quer über das Mittelfenster des Geräts, 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 erachten. (Eine positive Testlinie zeigt an, dass die Probe *H. pylori*-Antigene enthält.) Der Hintergrund sollte die Testablesung nicht behindern.

### Ungültige Testergebnisse:

1. Die BLAUE Linie (Kontrolllinie) fehlt, wobei eine ROSAROTE Linie (Testlinie) sichtbar sein kann oder auch nicht;
2. Eine ROSAROTE Linie erscheint nach sechs Minuten im Fenster beim Buchstaben „T“, oder es liegt an dieser Stelle eine andersfarbige (nicht rosarote) Linie vor;
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 der-selben Probe zu wiederholen, um die Möglichkeit eines Fehlers auszuschließen. Eine neue Probe einholen und erneut testen, falls die ursprüngliche Probe wiederholt nicht ablesbare Ergebnisse erbringt.**



## QUALITÄTSKONTROLLE

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

**Interne Kontrollen: Interne Kontrollen sind in das Testgerät 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 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, macht den Test ungültig und ist ein Anzeichen für Reagenzienzerfall, ungeeignete Probe oder inkorrekte Testdurchführung.

**Externe Kontrollen: Labors, die CLIA-WAIVED-Tests durchführen, müssen die Reaktivität jeder neuen Kitcharge oder jeder neuen Lieferung der ImmunoCard STAT! HpSA-Testgeräte nach dem Erhalt mit Hilfe der im Kit enthaltenen externen positiven und negativen Kontrollreagenzien überprüfen. Jeder nicht geschulte Benutzer muss für jeden 20-Test-Kit mindestens einmal eine positive und eine negative Kontrolle testen.** Die Anzahl der zusätzlichen Tests mit den externen Kontrollen ist abhängig von den Auflagen der Örtlichen, - Landes- und Bundesvorschriften oder der Zulassungsbehörden.

Die für die Kontrollen zu erwartenden Ergebnisse sind im Abschnitt ERGEBNISINTERPRETATION erläutert. Die Testgeräte nicht verwenden, falls die Kontrolltests keine korrekten Ergebnisse erbringen. Werden die erwarteten Ergebnisse nicht erzielt, bedeutet dies entweder, dass die Testgeräte defekt sind, oder dass der Test nicht korrekt durchgeführt wurde. **Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, zur Ermittlung der Ursache des Versagens als Erstes die Kontrolltests wiederholen. 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 Distributor.** 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. Die Richtlinien des US-amerikanischen Normenausschusses National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) empfehlen die Anwendung von Matrixkontrollmaterialien wenn Sie zur Verfügung stehen.<sup>27</sup> Wenn der Benutzer dieser Richtlinie folgen möchte, sind Kontrollmaterialien in Matrix von ihm zu stellen.

## ERWARTETE WERTE

Untersuchungen der Epidemiologie von *H. pylori* erwiesen, dass dieser Organismus in aller Welt vorkommt.<sup>18, 23, 24</sup> Es wurde eine Korrelation zwischen durch *H. pylori* verursachter Gastritis und Alter, ethnischer Abstammung, Familiengröße und sozioökonomischer Schicht der betroffenen Personen nachgewiesen.<sup>25, 26</sup> 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.<sup>15</sup> Die heute empfohlenen Eradikationstherapien zeigen eine Wirksamkeit von 75% bis 90%.

Der ImmunoCard STAT! HpSA-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 Probenahme, 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 sind in Verbindung mit den verfügbaren Daten aus der klinischen Untersuchung des Patienten und anderen Diagnostikverfahren heranzuziehen.
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-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-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 ungünstigen 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. Es wurden keine Leistungsmerkmale für wässrige durchfallartige Stühle erstellt. Wässrige Stühle, die hauptsächlich aus Flüssigkeit bestehen und nur geringen bis keinen Feststoffanteil aufweisen, können falsch-negative Testergebnisse erbringen.
7. **Labors, die CLIA-WAIVED-Tests durchführen: Verändert das Anwenderlabor die Testsystemanweisungen. ist der Test als ein Test von hoher Komplexität zu erachten und unterliegt damit allen einschlägigen CLIA-Auflagen.**

## LEISTUNGSMERKMALE

**Vergleichende Studien:** Vier unabhängige Labors führten parallele Tests an Proben unter Verwendung des ImmunoCard STAT! HpSA Tests und einer in-vitro-diagnostischen ELISA-Referenzmethode, Premier Platinum HpSA Test (Meridian Bioscience, Inc., Cincinnati, OH) durch. Einige der Proben, bei denen die Testergebnisse der beiden Assays voneinander abwichen, wurden an ein drittes Referenzlabor gesandt und dort untersucht. Die Ergebnisse der parallelen Tests sind unten angeführt. Die korrigierten Ergebnisse wurden nach der Untersuchung der abweichenden Proben durch das schiedsrichterliche Labor errechnet.

	Ursprüngliche Studienergebnisse	Korrigierte Ergebnisse
Insgesamt getestete Proben	457	457
Übereinstimmende Testergebnisse	433	436
Positive Proben	102	105
Negative Proben	331	331
Abweichende Testergebnisse	21	20
Premier +, ImmunoCard -	6	6
Premier -, ImmunoCard +	15	14
Unbestimmte Testergebnisse	3	1
Premier zweideutig, ImmunoCard +	2	1
Premier zweideutig, ImmunoCard -	1	0
Korrelation (in %)	95%	N/A

**Klinische Studien:** Stuhlproben von 227 fortwährend dyspeptischen Patienten, die weder mit Säurehemmern noch mit Antibiotika therapiert und zwecks einer Endoskopie überwiesen wurden, wurden mit dem ImmunoCard STAT! HpSA Test getestet. Es wurden Biopsieproben für histologische Untersuchungen, Urease-Schnelltests und Kulturen entnommen. Die Patienten wurden als mit *H. pylori* infiziert erachtet, wenn die histologischen Untersuchungen und die Urease-Tests positiv waren bzw. wenn die Kulturen positiv ausfielen. Fünfundachtzig der 227 Patienten wurden als *H. pylori*-positiv befunden. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Diagnostische Genauigkeit des ImmunoCard STAT! HpSA Tests

	<i>H. pylori</i> -Status, ermittelt durch Endoskopie/Biopsie/Goldstandard		Gesamt
	Wirklich positiv	Wirklich negativ	
IC STAT! HpSA +	77	12	89
IC STAT! HpSA -	8	130	138
Gesamt	85	142	227
Geschätzte klinische Empfindlichkeit (95%-VB)	90,6% (84,9 bis 97,1%)		
Geschätzte klinische Spezifität (95%-VB)	91,5% (87,5 bis 96,5%)		
Vorhersagewert, positiver Test (95%-VB)	86,5% (79,9 bis 94,1%)		
Vorhersagewert, negativer Test (95%-VB)	94,2% (90,1 bis 97,9%)		
Korrelation (95%-VB)	91,2% (87,3 bis 94,7%)		

Korrelation der ImmunoCard STAT! HpSA-Testergebnisse mit der Eradikationsbehandlung

	<i>H. pylori</i> -Status, ermittelt durch Endoskopie/Biopsie/Goldstandard		Gesamt
	Wirklich positiv	Wirklich negativ	
IC STAT! HpSA +	21	0	21
IC STAT! HpSA -	1	63	64
Gesamt	22	63	85
Geschätzte klinische Empfindlichkeit (95%-VB)	95,4 % (80,0 bis 100 %)		
Geschätzte klinische Spezifität (95%-VB)	100 %		
Vorhersagewert, positiver Test (95%-VB)	100 %		
Vorhersagewert, negativer Test (95%-VB)	98,4 % (94,5 bis 100 %)		
Korrelation (95%-VB)	98,8 % (96,8 bis 100 %)		

**Zusätzliche Untersuchungen:** Die Leistung des dissoziierten anti-*H. pylori* Antikörpers wurde in parallelen Untersuchungen unter Verwendung des ImmunoCard STAT! HpSA Tests (das Vorgängerprodukt mit nativer Antikörperstruktur) verglichen. Hierfür wurden 150 Proben eingesetzt, die mit dem Enzymimmunoassay Premier Platinum HpSA PLUS (EIA) und dem Vorgängerprodukt prospektiv gesammelt und qualifiziert worden sind. Es wurden Proben von Patienten mit Verdacht auf vorliegenden *H. pylori* Infektionen gesammelt. Die prozentualen Werte der positiven und negativen Übereinstimmungen lagen im Vergleich mit dem Vorgängerprodukt bei 98,3% (56/57, CI = 90,7 – 99,7%) und 98,9% (92/93, CI = 94,1 – 99,8%).

#### TESTEMPFINDLICHKEIT

Die untere Nachweisgrenze dieses Assays ist 64 ng/mL bei Tests mit Ultraschall-Antigen, gewonnenen aus dem *H. pylori*-Stamm TV1970. Dieser Grenzwert ist bei geformten (festen) sowie bei halbfesten Stühlen der gleiche.

## REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des ImmunoCard STAT! HpSA Tests wurde mit bekannten negativen (n=5) und positiven (n=5) Proben getestet. Um eine Identifizierung dieser Stühle während des Testens zu vermeiden, wurden die Stühle kodiert und wahllos sortiert. Zwei der fünf positiven Proben waren nah an der Nachweisgrenze des Tests. Drei unabhängige Labore testeten die Proben an drei aufeinanderfolgenden Tagen. Die Proben erzeugten zu 100% die erwarteten Ergebnisse.

## TESTSPEZIFITÄT

Die Spezifität des ImmunoCard STAT! HpSA Tests wurde anhand folgender Bakterien-, Viren- und Hefebakterienstämmen untersucht. Positive und negative Stuhlproben wurden mit  $\geq 1 \times 10^7$  Bakterien oder Hefen versetzt oder  $1 \times 10^5$  viren. 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.

Adenovirus Typ 2, Adenovirus Typ 40, Coxsackie Typ B1, Coxsackie Typ B6, Echovirus Typ 22, Feline calicivirus, Rotavirus, Bacillus-Arten, *Borrelia burgdorferi*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* (2), *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* (2), *E. coli* (2), *E. coli* O157:H7 (2), *E. fergusonii*, *Helicobacter felis*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella dublin*, *Salmonella* (Gruppe B), *Salmonella hilversum*, *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia liquefaciens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Yersinia enterocolitica*

## 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 %), Stearinsäure/Palmitinsäure (Fettstuhl) (4 %), Hämoglobin (Teerstuhl) (12,5 %)

## VERBRAUCHERPRÄZISIONSSTUDIE

Meridian führte in 2003 Verbraucherpräzisionstests des ImmunoCard STAT! HpSA-Tests durch, bei der die empfohlene Methode für qualitative Tests angewandt wurde, wie sie in der FDA-Publikation *Draft Guidance for Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Criteria for Waiver* vom 1. März 2001 beschrieben ist. Insgesamt nahmen an dieser Studie 302 ungeschulte Anwender an vier Teststandorten teil. Die Teilnehmer testeten Leistungsprofile, die aus stark negativen, schwach negativen, stark positiven und schwach positiven Probenbeständen bestanden. Es wurde erwartet, dass die schwach positiven und die schwach negativen Proben in 15–20 % aller Fälle unkorrekte Ergebnisse erbringen würden. Geschultes Laborpersonal erstellte Erwartungswerte für jeden einzelnen Probenbestand. Bei Anwendung durch ungeschulte Personen kam es bei 4 % der schwach negativen, bei 2 % der stark negativen und bei 3 % der schwach positiven Proben zu ungültigen Ergebnissen. Bei stark positiven Proben und ungeschulten Anwendern gab es keine ungültigen Tests. Bei geschulten Anwendern kam es nicht zu ungültigen Testergebnissen. In der folgenden Tabelle sind die von ungeschulten und geschulten Anwendern erzielten Daten aufgeführt sowie die berechneten Vertrauensbereiche für die einzelnen Probenbestände.

Proben- typ	Teilnehmer- typ	Stark negativ -- Prozent-satz negativer Tester- gebnisse (95%-VB)	Schwach negativ -- Prozent-satz negativer Tester- gebnisse (95%-VB)	Schwach positiv -- Prozent-satz positiver Tester- gebnisse (95%-VB)	Stark positiv -- Prozent-satz positiver Tester- gebnisse (95%-VB)	Prozent-satz un-gültiger Tests
Negativ	ungeschulte Anwender	51/51 (100%) VB = 93,0-100%	95/96 (99%) VB = 94,3-100%	N/Z	N/Z	3,3% (5/152)
	geschulte Anwender	52/52 (100%) VB = 93,2-100%	100/100 (100%) VB = 96,4-100%	N/Z	N/Z	0% (0/152)
Positiv	ungeschulte Anwender	N/Z	N/Z	83/94 (88,3%) VB = 80,0-94,0%	44/51 (86,3%) VB = 73,7-94,3%	2,0% (3/149)
	geschulte Anwender	N/Z	N/Z	97/97 (100%) VB = 96,3-100%	52/52 (100%) VB = 93,2-100%	0% (0/149)

## REFERENCES

1. Veralovic J. *Helicobacter pylori*. Pathology and diagnostic strategies. Am J Clin Pathol 2003; 119:403-12.
2. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984; i:1311-1314.
3. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev 1997; 10:720-41.
4. Gregson DB, Simor AE. *Helicobacter pylori* and inflammatory disease of the stomach and duodenum. Stomach and Bowel, 1991; Sep:29-30, 35-7.
5. 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.
6. Sanders MK, Peura DA. *Helicobacter pylori*-associated diseases. Curr Gastro Reports 2002; 4:448-54.
7. 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.
8. Graham DY. I. *Helicobacter pylori*: Its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. J Gastroenterol Hepatol 1991; 6:105-13.
9. 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.
10. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric campylobacter. Med J Austral 1985; 142:436-439.
11. Veralovic J, Fox JG. *Helicobacter*. In: Murray PR et al eds. Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. Washington DC: ASM Press, 2003; 915-28.
12. Alpert LC, Graham DY, Evans DJ Jr et al. Diagnostic possibilities for *Campylobacter pylori* infection. Eur J Gastroenterol Hepatol 1989; 1:17-26.
13. Barthel JS, Everett ED. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: The "gold standard" and the alternatives. Rev Infect Dis 1990; 12:S107-14.
14. Nichols L, Sughayer M, DeGirolami PC et al. Evaluation of diagnostic methods for *Helicobacter pylori* gastritis. Am J Clin Pathol 1991; 95:769-73.
15. Vaira D, Vakil N. Blood, urine, stool, breath, money and *Helicobacter pylori*. Gut 2001; 48:287-9.
16. Graham DY, Klein PD, Evans DJ Jr et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. Lancet 1987; i:1174-7.
17. 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.
18. 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.
19. 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.

20. 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.
21. Montiero L, de Mascarel A, Sarrasqueta A, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection: Noninvasive Methods Compared to Invasive Methods and Evaluation of Two New Tests. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:353-8.
22. 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.
23. Murray DM. Clinical relevance of infection by *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Newlett* 1993;15:33-7.
24. Loffeld R.J.L.F, 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.
25. Morris A, Nicholson G, Lloyd G, et al. Seroepidemiology of *Campylobacter pyloridis*. *N Z Med J* 1986; 99:657-9.
26. Fiedorek SC, Malaty HM, Evans DL, et al. Factors influencing the epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in children. *Pediatrics* 1991; 88:578-582.
27. National Committee on Clinical Laboratory Standards. C24-A. Internal quality control. Principles and definitions. Approved Guideline. Villanova PA: NCCLS, 1991.



REV. 05/23



Manufactured By

**Meridian Bioscience, Inc.**  
3471 River Hills Drive  
Cincinnati, OHIO - 45244 USA  
[www.meridianbioscience.com](http://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](mailto:info@meridianbioscience.com)

**AUSTRALIAN  
SPONSOR**

**Emergo Australia**  
Level 20, Tower II  
Darling Park  
201 Sussex Street  
Sydney, NSW 2000  
Australia

**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, Guia de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	<b>CONTROL +</b>	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
<b>LOT</b>	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	<b>CONTROL -</b>	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
<b>IVD</b>	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	<b>EC REP</b>	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 fulfill the requirements of Directive 90/269/EEC 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 90/269/CEE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portant le marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 90/269/CEE ou du Règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian que llevan el marca de conformidad europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 90/269/CEE o del Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Zertifizierung erfüllen die Anforderungen der Europäischen 90/269/EEC bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	<b>SMP PREP DIL SPE</b>	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
<b>REF</b>	Catalogue number / Numero de catalogo / Référence du catalogue / Numero de catalogo / Bestellnummer		<b>CAUTION: Risk of DANGER / ATTENTION: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Risiko Gefahr</b>
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Eingrieren
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller	<b>BUF RXN</b>	Reaction Buffer / Tampon de reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampon de Reacción / Reaktionspuffer
	Contains sufficient for <math>n</math> tests / Contiene sufficiente per <math>n</math> saggi / Contenu suffisant pour <math>n</math> tests / Contenido suficiente para <math>n</math> ensayos / Inhalt ausreichend für <math>n</math> Prüfungen		For IVD Performance Evaluation Only / Solamente per valutazione delle prestazioni / Réactif IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Temperature Limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	<b>SOLN STOP</b>	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
<b>SN</b>	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	<b>CONJ ENZ</b>	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
<b>TEST</b>	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / testgerät	<b>CONTROL</b>	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	<b>REAG</b>	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
<b>BUF</b>	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampon / Puffer	<b>BUF WASH</b>	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampon de lavado / Waschpuffer
<b>CONJ</b>	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
<b>SUBS</b>	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	<b>DIL SPE</b>	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
<b>R. Only</b>	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig	<b>BUF WASH 20X</b>	Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentrieretes Waschkonzentrat
	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	<b>DET REAG</b>	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	<b>TUBE</b>	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß
		<b>CH REP</b>	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.