

H. PYLORI CHEK™

An Enzyme Immunoassay for the Qualitative Detection of
Helicobacter pylori Specific Antigen in Human Fecal Specimens
Catalog No. T5051 (96 Tests)

IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device
For Canadian Users: For Laboratory Use Only

ESPAÑOL p. 12

Immunoensayo enzimático para la detección cualitativa de antígeno
específico de *Helicobacter pylori* en muestras fecales humanas
N.º de catálogo T5051 (96 pruebas)

IVD Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

DEUTSCH p. 22

Enzymimmunoassay für den qualitativen Nachweis von *Helicobacter
pylori*-spezifischem Antigen in menschlichen Stuhlproben
Bestellnr. T5051 (96 Tests)

IVD *In-Vitro*-Diagnostikum

FRANCAISE p. 32

Test immunoenzymatique pour la détection qualitative de l'antigène
spécifique à *Helicobacter pylori* dans les échantillons de selles humaines
Réf. catalogue T5051 (96 tests)

IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Pour les utilisateurs canadiens : Réservé à un usage en laboratoire

ITALIANO p. 42

Un dosaggio immunoenzimatico per la determinazione qualitativa di un
antigene specifico di *Helicobacter pylori* in campioni fecali umani
N. di catalogo T5051 (96 test)

IVD Dispositivo medico diagnostico *in vitro*

Made in the USA

Developed and Manufactured by:



TECHLAB®

2001 Kraft Drive

Blacksburg, VA 24060-6358 USA

www.techlab.com

TEL 1-800-832-4522 USA

TEL 1-540-953-1664 Outside USA



EC REP Emurgo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

H. PYLORI CHEK™

INTENDED USE

The TECHLAB® *H. PYLORI CHEK*™ test is an enzyme immunoassay for the qualitative detection of *Helicobacter pylori* specific antigen. It is intended for use with human fecal specimens to aid in the diagnosis of *H. pylori* infection and to demonstrate loss of *H. pylori* antigen following treatment. The test can be used with unpreserved fecal specimens and fecal specimens preserved in transport media from patients suspected of *H. pylori* infection. Testing of patients to demonstrate loss of *H. pylori* antigen following treatment should be performed no sooner than 4 weeks after completion of the treatment regimen. Test results should be taken into consideration by the physician in conjunction with the patient history and symptoms.

Caution: U.S. Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

EXPLANATION

It is estimated that half of the global population is infected with *H. pylori*.¹ The majority of those infected remain asymptomatic and do not require treatment (colonized individuals). A minority of infected individuals develop gastritis, and a fraction of those further develop gastric ulcers or gastric cancer.² The diagnosis of *H. pylori* infection is endoscopy with biopsy – the biopsied tissue is tested for the presence of *H. pylori* by culture, histology, or rapid urease test. Under current guidelines, endoscopy is still recommended for the diagnosis of *H. pylori* infection in patients with alarm symptoms (e.g. GI bleeding, sudden weight loss, excessive vomiting, anemia), or patients over the age of 55. However, for younger patients not exhibiting alarm symptoms, non-invasive tests such as the urea breath test (UBT) or fecal antigen test are recommended for diagnosis of *H. pylori* infection.^{3,4} Following completion of a treatment regimen of antibiotics and a proton pump inhibitor (PPI), it is recommended that patients be tested to verify eradication of *H. pylori* infection.⁵ Serum antibody tests are also available, but these are unable to distinguish between past and current infection. By detecting antigen present in fecal specimens, the *H. PYLORI CHEK*™ test allows for the non-invasive detection of *H. pylori* when endoscopy is not required.

PRINCIPLE OF THE TEST

The *H. PYLORI CHEK*™ test uses antibodies specific to *H. pylori* antigen. The *Microassay Plate* in the kit contains immobilized capture antibodies against *H. pylori* antigen. The *Conjugate* consists of antibodies specific to *H. pylori* antigen conjugated to horseradish peroxidase. In the assay, an aliquot of a diluted fecal specimen is transferred to a microassay well containing the *Conjugate*. If the antigen is present in the specimen, it will bind to the *Conjugate* and to the immobilized capture antibody during the incubation phase. Any unbound material is removed during the washing steps. Following the addition of *Substrate*, a color is detected due to the enzyme-antibody-antigen complexes that formed in the presence of antigen.

MATERIALS PROVIDED

MA | PLT *Microassay Plate* – 12 strips, each consisting of 8 wells coated with antibodies to *H. pylori* antigen (stored with desiccant)

CONJ | ENZ *Conjugate (7 mL)* – Antibodies to *H. pylori* antigen coupled to horseradish peroxidase in a buffered protein solution containing 0.05% ProClin® 300

Signal Word: Warning – 0.05% ProClin® 300

H317: May cause an allergic skin reaction

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362,

P363, P364, P501

DIL | SPE *Diluent (40 mL)* – Buffered protein solution. The *Diluent* is also to be used as the negative control solution (see TEST PROCEDURE) containing 0.05% ProClin® 300.



Signal Word: Warning – 0.05% ProClin® 300

H317: May cause an allergic skin reaction

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



CONTROL +

Positive Control (3.5 mL) - *H. pylori* antigen in a buffered protein solution containing 0.05% ProClin® 300

Signal Word: Warning – 0.05% ProClin® 300

H317: May cause an allergic skin reaction

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



H₂SO₄, **0.6N**

Stop Solution (7 mL) – 0.6 N sulfuric acid. CAUTION: Avoid contact with skin or eyes; flush with water immediately if contact occurs

Signal Word: Danger

H314: Causes severe skin burns and eye damage

P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353,

P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501



SUBS **REAG**

Substrate (14 mL) – solution containing tetramethylbenzidine and peroxide

WASHBUF **20X**

Wash Buffer Concentrate (50 mL) – 20X concentrate containing phosphate buffered saline, detergent, and 0.2% thimerosal

Signal Word: Warning

H373: May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure

H411: Toxic to aquatic life with long lasting effects

P260, P273, P314, P391, P501



contains mercury



ACCESSORIES

100 Disposable plastic transfer pipettes

2 Plastic adhesive sheets

1 Wash Solution Label

50 Wooden Applicator sticks

MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Squirt bottle for wash reagent

Vortex mixer

Timer

Discard container

Absorbent paper

Disposable gloves

950 mL distilled water for diluting wash reagent

ELISA plate reader capable of reading at 450 nm, 450/620 nm, or 450/630 nm

Small tubes for dilution of fecal specimens (e.g., plastic 2 mL conical microcentrifuge tubes)

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of this kit is given on the box label. Expiration dates for each component are listed on the individual labels. The kit should be stored between 2°C and 8°C and should be returned to the refrigerator as soon as possible after use.

PRECAUTIONS

1. Rx Only – Prescription Only
2. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.
3. Each component in the kit should be inspected for any signs of leakage. Upon arrival, the kit should be inspected to ensure that components are not frozen or warm to the touch due to improper shipping conditions.
4. Reagents from different kits should not be mixed. Do not use a kit past the assigned expiration date.
5. Bring all components to room temperature before use to ensure proper kit reactivity. Remove the reagents from the foam insert to reduce the time needed to warm to room temperature.
6. Do not freeze the reagents. The kit should be stored between 2°C and 8°C.
7. Caps and tips are color-coded; do NOT mix or interchange!
8. When handling assay wells, avoid scratching the bottom of the wells because this may result in elevated absorbance readings.

9. Unused microwells must be placed back inside of the resealable pouch with the desiccant to protect them from moisture.
10. Hold reagent bottles vertically when dispensing to ensure proper drop size and correct volume.
11. Microbial contamination of reagents may decrease the accuracy of the assay. Avoid microbial contamination of reagents by using sterile disposable pipettes if removing aliquots from reagent bottles.
12. All reagents, with the exception of the *Wash Buffer Concentrate*, are supplied in ready-to-use bottles. Reagents can be dispensed directly from the dropper bottles or decanted for use with multichannel pipettes. If excess reagent has been decanted, the excess should be discarded. Do not pour back into the bottle. The *Substrate* should be stored in and used from the light-protected bottle in which it is supplied. If an aliquot is removed from the original bottle for any reason, do not return unused *Substrate* to the original bottle. The *Substrate* is light sensitive and should be protected from direct sunlight or UV sources.
13. Perform the washing procedure as directed to avoid high background reactions.
14. The test has been optimized for sensitivity and specificity. Do not deviate from the specified procedure. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test.
15. Fecal specimens may contain potentially infectious agents and should be handled at "Biosafety Level 2" as recommended in the CDC/NIH Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories."
16. Handle specimens and used microassay wells as if capable of transmitting infectious agents. Wear disposable gloves when doing the test.
17. The *Conjugate*, *Diluent*, and *Wash Buffer* reagents contain 0.05% ProClin® 300 as a preservative. Although the concentration is low, ProClin® 300 is known to be harmful (skin sensitization may occur). If skin sensitization/irritation or rash occurs, get medical advice/attention. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
18. The 20X *Wash Buffer Concentrate* contains 0.2% Thimerosal as a preservative. Once diluted to normal use concentration this solution is classified as non-hazardous. The *Stop Solution* contains 0.6N sulfuric acid. Flush with water immediately if contact occurs. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
19. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations. Do not place in trash, dispose of as hazardous waste.

PRELIMINARY PREPARATIONS

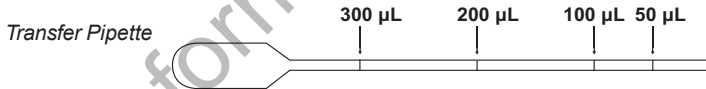
1. **All reagents must be at room temperature prior to use in the assay.**
2. **Prepare 1X Wash Solution.** The *Wash Buffer Concentrate* is supplied as a 20X concentrate (a precipitate may be noticed). It should be diluted to a total volume of 1 liter by adding 50 mL of the concentrate to 950 mL of distilled water. The 1X *Wash Solution* can be stored between 2° and 8°C for up to the expiration date of the kit.
3. **Assay Strip Preparation.** Each strip contains 8 wells coated with antibodies specific to *H. pylori* antigen. Each specimen or control will use one of these coated wells. Determine the number of wells to be used. Avoid contact with the base of the wells. Assay wells not used must be returned to the foil pouch and carefully resealed with desiccant.

COLLECTION, HANDLING, AND STORAGE OF FECAL SPECIMENS

Acceptable Sample Type	Do Not Use
Fresh Fecal Specimens	Fecal Specimens in Formalin-based fixative (e.g., sodium acetate formalin, 10% formalin)
Frozen Fecal Specimens	Fecal Specimens in alcohol-based fixative (e.g., polyvinyl alcohol)
Specimens in Transport Media (Cary Blair, C&S)	Concentrated Fecal Specimens

Storage Condition	Recommended Storage Time
Fresh Unpreserved Samples and Samples in Cary Blair or C&S Transport Media Stored between 2°C and 8°C	96 hours
Fresh Unpreserved Samples and Samples in Cary Blair or C&S Transport Media Stored between 20°C and 25°C	96 hours
Frozen Unpreserved Samples Stored at $\leq -10^{\circ}\text{C}$	14 days

- Use standard in-house collection and handling procedures for fecal specimens. Collect fecal specimens in clean, leak-proof containers.
- Fecal specimens that are stored frozen may be thawed up to 2 times. If using frozen specimens, thaw at room temperature.
- Set up and label one test tube for each sample as necessary.
- Add 200 μL Diluent to each tube for unpreserved specimens. For specimens in Cary Blair or C&S Transport media, add 100 μL Diluent to each tube.**
- Obtain one disposable plastic transfer pipette (supplied with the kit) for each sample.



- Mix all specimens thoroughly regardless of consistency - it is essential that the samples be evenly suspended before sampling.**
 - For **fresh or frozen/thawed specimens**, using the disposable plastic transfer pipette, add 50 μL (first graduation mark) of fecal specimen to the tube containing *Diluent* and mix well. If the specimen cannot be pipetted, use an applicator stick to transfer approximately 0.05 g of feces. This is about the size of a small pea (about 3mm in diameter).
 - For specimens in **Cary Blair or C&S Transport media**, add 100 μL (second graduation mark) of fecal specimen to the tube containing *Diluent* and mix well.
- Close each tube of diluted sample and mix thoroughly. Proper mixing can be achieved by vortexing or inverting the tube several times. Do not allow the sample to remain in the *Diluent* for >2 hours.
- If using semi-automated or automated washing equipment, once diluted, specimens must be centrifuged (5000 x g for 10 minutes) to remove any particulate matter from the supernatant before transfer to assay wells.

TEST PROCEDURE

- Bring all reagents and the required number of test strips to room temperature before use.

2. **Add 1 drop (50 μ L) of Conjugate (red cap) to each well.** Gently mix the *Conjugate* in the bottle by inverting several times. Be sure to hold each bottle vertically when adding the drops. Use 1 well for each fecal specimen, 1 well for the *Positive Control* and 1 well for the negative control. Identification marks may be written directly on side of well.
3. **Using a new transfer pipette, transfer 100 μ L of diluted specimen (or supernatant from the centrifuged diluted sample if using automated washing equipment) to the assay well.** Add 1 drop (50 μ L) of the *Positive Control* (black cap) to the positive control well and 100 μ L of the *Diluent* (negative control) to the negative control well. Tap the sides of the plate to mix.
4. Cut the adhesive plastic sheet to the size necessary to cover the wells. **Cover the wells and incubate them at 37°C \pm 2°C for 50 minutes.**
5. Shake out contents of assay wells into a discard pan.
6. **Wash each well using the 1X Wash Solution in a squirt bottle with a fine-tipped nozzle,** directing the *Wash Solution* to the bottom of the well with force. Fill the wells, and then shake the *Wash Solution* out of the well into a discard pan. Slap the inverted plate on a dry paper towel.
Note: If using semi-automated or automated washing equipment, add 350 μ L of 1X Wash Solution to each well. Wash for a total of 5 times.
7. Repeat step 6 four additional times using a dry paper towel each time. If any particulate matter is seen in the wells, continue washing until all the particulate matter is removed.
8. After washing, completely remove any residual liquid in the wells by striking the plate onto a dry paper towel until no liquid comes out. Dispose of paper towels and specimen containers properly.
9. **Add 2 drops (100 μ L) of Substrate (blue cap) to each well.** Gently tap the wells to mix the *Substrate*. Incubate the wells at room temperature for 10 minutes. Gently tap the wells at 5 minutes.
10. **Add 1 drop (50 μ L) of Stop Solution (yellow cap) to each well.** Gently tap the wells and wait 2 minutes before reading. The addition of the *Stop Solution* converts the blue color to a yellow color which may be quantitated by measuring the optical density at 450 nm on a microplate ELISA reader. The instrument should be blanked against air. If a dual wavelength reader is used, blank against air at 620 or 630 and read at 450 nm. Wipe the underside of each well before measuring the optical density. If an ELISA reader is unavailable, the test may be read visually in good light against a white background. Read within ten minutes after adding *Stop Solution*.

QUALITY CONTROL

1. Positive and negative controls must be run with each series of test specimens. The positive control demonstrates that the assay is functioning properly for the detection of *H. pylori* antigen in fecal specimens. The negative control demonstrates that the assay is not reacting nonspecifically.
2. Positive and negative controls must fall within their respective ranges (below) or the test results are not valid. If these results are not observed, call Technical Services.
 - a) **Positive Control must be a visible yellow color.** If read on a spectrophotometer, the OD at 450 nm or using dual wavelength at 450/620 nm or 450/630 nm must be ≥ 0.500 . Any well that gives a positive reading without visible color should be repositioned, wiped on the underside of the well, and read again.
 - b) **Negative Control must be visually clear.** If read on a spectrophotometer, the OD at 450 nm must be < 0.120 . If read at 450/620 nm or 450/630 nm the absorbance must be < 0.080 . If not, the test is invalid and should be repeated, paying attention to the wash procedure.
3. Visual readings must be taken in good light against a white background.

INTERPRETATION OF RESULTS

	Spectrophotometric Reading	
	Single Wavelength at 450 nm	Dual Wavelength at 450/620 nm or 450/630 nm
Negative	OD < 0.120	OD < 0.080
Positive	OD ≥ 0.120	OD ≥ 0.080

A positive result in the *H. PYLORI CHEK*[™] test confirms the presence of *H. pylori* antigen in the sample; a negative result indicates the absence of antigen or insufficient levels of antigen for detection.

Visual Interpretation

The negative control well should be colorless or have only a faint yellow color. The *Positive Control* well should give a visible yellow color. If these results are not observed, call Technical Services. A test sample is considered positive if it has an obvious yellow color when compared to the negative control well. It may be less yellow or more yellow than the color observed in the positive control well. A test sample is considered negative if the reaction is colorless or less yellow than the negative control well.

LIMITATIONS OF THE *H. PYLORI CHEK*[™] TEST

1. The *H. PYLORI CHEK*[™] test is used to detect *H. pylori* antigen in fecal specimens. The test confirms the presence of *H. pylori* antigen in the sample, and this information should be taken under consideration by the physician in light of the clinical history and physical examination of the patient.
2. A negative test result does not preclude the possibility of the presence of *H. pylori* antigen in the specimen which may occur if the level of antigen is below the detection limit of the test.
3. False negative results may occur if a patient has used antibiotics, proton pump inhibitors (PPIs) or bismuth compounds in the 14 days prior to fecal sample collection, as these medications are known to inhibit *H. pylori*. In these cases, a new fecal sample should be collected and tested 14 days after treatment has stopped. Positive results from patients that have used antibiotics, PPIs, or bismuth compounds in the 14 days prior to fecal sample collection are still considered accurate.
4. Transferring too little sample, or failure to mix and completely suspend the sample in the *Diluent*, may result in a false-negative test result.
5. The *H. PYLORI CHEK*[™] test is qualitative. The intensity of the color should not be interpreted quantitatively.
6. No data exists on the effects of colonic washes, barium enemas, laxatives, or bowel preparations on the performance of the *H. PYLORI CHEK*[™] test. These procedures can result in extensive dilution or the presence of additives that may affect test performance.
7. Performance characteristics have not been established in asymptomatic populations.

EXPECTED VALUES

The *H. PYLORI CHEK*[™] test detects the presence of *Helicobacter pylori* antigen in human fecal samples. *H. pylori* infection is a global phenomenon with reported prevalence rates in adults ranging from 20% to 95%.¹ In addition to geographical location, factors such as age, ethnicity, and socioeconomic status also affect the prevalence rate.^{6,7} *H. pylori* is purportedly the cause of 70%-85% of gastric ulcers and 90%-95% of duodenal ulcers.⁸ Historically, treatment regimens to eradicate *H. pylori* infection reported success rates ranging from 76%-94%, but the efficacy of standard treatment regimens has declined due

to factors such as the increased prevalence of antibiotic resistant *H. pylori* strains.⁹ The effectiveness of eradication therapy can improve significantly when a tailored regimen is prescribed.¹⁰

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of the *H. PYLORI CHEK™* test was evaluated at 6 independent sites. Patients were recruited that were undergoing endoscopy as part of routine care. A composite reference method (CRM) comparison was used in the evaluation consisting of rapid urease and histology of the biopsy samples. The following table shows a summary of the clinical performance data. The results of the study show that the *H. PYLORI CHEK™* test, by dual wavelength spectrophotometric analysis, exhibited sensitivity of 100% and specificity of 96.1% with CRM biopsy results. Testing was also conducted by visual reading of plates. Visual results were the same as dual wavelength spectrophotometric results 99% of the time.

Age and Gender Distribution

Age and gender information was available for 109 patients. The ages ranged from 19 to 82 years. Of the 109 patients tested, 66% were female and 34% were male. No difference in test performance was observed based on patient age or gender.

Initial Diagnosis *H. PYLORI CHEK™* test versus Composite Reference Method (CRM)

N = 109	CRM Positive	CRM Negative
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positive	32	3*
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negative	0	74

	95% Confidence Limits	
Sensitivity	100.0%	89.3% - 98.9%
Specificity	96.1%	89.2% - 98.7%

*All three specimens tested positive initially by the *H. PYLORI CHEK™* test, but negative upon re-testing with the *H. PYLORI CHEK™* test.

Post-Therapy

For Eradication (post-therapy), there were 9 samples from patients being tested post therapy. The results show that the *H. PYLORI CHEK™* test exhibited a sensitivity of 77.8% with the composite reference method.

N = 9	CRM Positive	CRM Negative
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positive	7*	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negative	2**	0

	95% Confidence Limits	
Sensitivity	77.8%	45.3% - 93.7%

* One specimen tested positive by visual read but negative by spectrophotometric interpretation (OD_{450/620} 0.034).

** One specimen tested negative initially but positive upon re-testing with the *H. PYLORI CHEK™* test.

Retrospective Sample Study

A supplemental retrospective sample study was performed comparing the *H. PYLORI CHEK™* test to an FDA cleared commercial ELISA. For this study, 196 samples (75 positive and 121 negative by the commercial ELISA) were evaluated. There was 100% correlation of results between the assays.

N = 196	FDA Cleared Commercial ELISA Positive	FDA Cleared Commercial ELISA Negative
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positive	75	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negative	0	121

	95% Confidence Limits	
Percent Positive Agreement	100.0%	95.1% - 100.0%
Percent Negative Agreement	100.0%	96.9% - 100.0%

REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the *H. PYLORI CHEK™* test was determined using 8 fecal specimens that were coded to prevent identification during testing. Testing was performed at 2 independent laboratories and on-site at TECHLAB, Inc. The samples were tested in triplicate twice a day over a 5-day period by multiple technicians at each site using 2 different kit lots. The results were consistent among the different locations, and exhibited a correlation of 97.5%.

CROSS REACTIVITY

The *H. PYLORI CHEK™* test was evaluated for cross-reactivity with common intestinal organisms and viruses listed below. None of the organisms or viruses were shown to interfere with the performance of the *H. PYLORI CHEK™* test.

Acinetobacter baumannii

Bacillus cereus

Bacillus subtilis

Borrelia burgdorferi

Campylobacter coli

Campylobacter fetus

Campylobacter helveticus

Campylobacter hyointestinalis

Campylobacter jejuni

Campylobacter lari

Campylobacter upsaliensis

Candida albicans

Clostridium bifermentans

Clostridium difficile

Clostridium perfringens

Edwardsiella tarda

Enterobacter cloacae

Enterococcus faecalis

Escherichia coli

Escherichia coli EIEC

Escherichia coli EPEC

Escherichia coli ETEC

Escherichia coli O157:H7 (non-toxigenic)

Escherichia coli O157:H7 (toxigenic)

Haemophilus influenzae

Lactobacillus acidophilus

Listeria monocytogenes

Peptostreptococcus anaerobius

Porphyromonas asaccharolytica

Prevotella melaninogenica

Proteus vulgaris

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas fluorescens

Salmonella typhimurium

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (Cowan's)

Streptococcus agalactiae

Yersinia enterocolitica

Adenovirus Types 2, 40
Human Coronavirus
Coxsackievirus B1, B2, B3, B6

Echovirus 9, 22
Enterovirus 70
Human Rotavirus

INCLUSIVITY STUDY

The following strains, which include isolates representing described *H. pylori* populations, were tested for reactivity with the *H. PYLORI CHEK™* test. All strains tested generated a positive result.

ATCC 700392
ATCC 43526
ATCC 700824

JP26
ATCC 43504
ATCC 43579

INTERFERING SUBSTANCES (U.S. FORMULATION)

The following substances had no effect on positive or negative *H. PYLORI CHEK™* test results analyzed at the concentrations indicated:

Barium sulfate (5% w/v), Benzalkonium Chloride (1% w/v), Ciprofloxacin (0.25% w/v), Ethanol (1% w/v), Hog gastric mucin (3.5% w/v), Human blood (40% v/v), Hydrocortisone (1% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Leukocytes (0.05% v/v), Maalox® Advanced (5% v/v), Mesalazine (10% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), MiraLax® (7% w/v), Mineral Oil (10% w/v), Mylanta® (4.2 mg/mL), Naproxen Sodium (5% w/v), Nonoxynol-9 (1% w/v), Nystatin (1% w/v), Palmitic Acid/Fecal Fat (40% w/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Phenylephrine (1% w/v), Prilosec OTC® (5 µg/mL), Sennosides (1% w/v), Simethicone (10% w/v), Stearic Acid/Fecal Fat (40% w/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS® (50 µg/mL), Human Urine (5% v/v), and Vancomycin (0.25% w/v).

ANALYTICAL SENSITIVITY

The Limit of Detection (LoD) for the *H. PYLORI CHEK™* test was established at 6.70 ng/mL in fecal matrix (0.13 ng/test) for *Helicobacter pylori* antigen using cell lysate antigen prepared from *H. pylori* strain ATCC 43526. For specimens in Cary Blair media, the LoD was established at 26.57 ng/mL (0.33 ng/test). For specimens in C&S media, the LoD was established at 18.19 ng/mL (0.23 ng/test).

PRECISION – INTRA-ASSAY

For the determination of intra-assay performance, 8 fecal samples were analyzed by the *H. PYLORI CHEK™* test. The samples included 2 negative, 2 high negative, 2 low positive, and 2 moderate positive samples. Each specimen was assayed a total of five times using two different kit lots. Positive specimens tested as expected and negative specimens consistently tested negative.

PRECISION – INTER-ASSAY

For the determination of inter-assay performance, 8 fecal samples were analyzed by the *H. PYLORI CHEK™* test. The samples included 2 negative, 2 high negative, 2 low positive, and 2 moderate positive samples. The samples were tested twice a day by multiple technicians over a 12-day period using 2 different kit lots. The positive samples tested as expected 98.3% of the time and the negatives tested as expected 97.8% of the time.

FRESH VERSUS FROZEN SAMPLES

The effect of long term frozen specimen storage on antigen stability was evaluated. For the analysis, a total of 32 fecal specimens was tested with the *H. PYLORI CHEK™* test. The fecal specimens consisted of 2 negative fecal samples, 5 high negative fecal samples, 10 low positive fecal samples, and 15 positive fecal samples covering the range of the test (50 ng/mL – 1200 ng/mL). Samples were prepared and stored $\leq -10^{\circ}\text{C}$ and $\leq -70^{\circ}\text{C}$ and tested at 0, 5, 10, and 14 days. No conversion of positive-to-negative or negative-to-positive was observed in any of the samples at the specified time points.

PROZONE

To ensure that a high concentration of *H. pylori* antigen does not interfere with a positive reaction in the *H. PYLORI CHEK*™ test, high positive samples were prepared by spiking a negative fecal pool at concentrations up to 10 times the highest concentration of antigen observed in a positive clinical specimen. A total of 5 different dilutions of *H. pylori* antigen was prepared and tested in triplicate. The results demonstrated that there was no overall prozone effect, that elevated levels of antigen did not affect the detection of the antigen.

For Informational Use Only

H. PYLORI CHEK™

USO PREVISTO

La prueba TECHLAB® *H. PYLORI CHEK™* es un inmunoensayo enzimático para la detección cualitativa del antígeno específico de *Helicobacter pylori*. Está destinada a utilizarse con muestras fecales humanas como ayuda en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* y para demostrar la eliminación del antígeno de *H. pylori* después del tratamiento. La prueba puede utilizarse con muestras fecales no sometidas a conservación y con muestras fecales conservadas en medios de transporte en las que se tiene sospecha de una infección por *H. pylori*. La prueba a pacientes para demostrar la eliminación del antígeno de *H. pylori* después del tratamiento no debería realizarse antes de 4 semanas tras la finalización del tratamiento. Los resultados de la prueba deben tenerse en cuenta, por parte del médico, junto con la historia clínica y los síntomas del paciente.

Atención: La Ley Federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo o bajo prescripción médica.

FUNDAMENTO

Se estima que la mitad de la población mundial está infectada por *H. pylori*.¹ La mayoría de las personas infectadas son asintomáticas y no necesitan tratamiento (individuos colonizados). Una minoría de los individuos infectados desarrolla gastritis y una mínima parte de ellos desarrolla úlceras o cáncer gástricos.² El diagnóstico de la infección por *H. pylori* es la endoscopia con biopsia: el tejido extirpado se analiza para detectar la presencia de *H. pylori* mediante cultivo, histopatología o la prueba rápida de la ureasa. Las directrices actuales todavía recomiendan la endoscopia para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en los pacientes con síntomas de alarma (como hemorragia GI, pérdida repentina de peso, vómito excesivo o anemia) o en los pacientes de más de 55 años. Sin embargo, en pacientes más jóvenes sin síntomas de alarma, se recomienda usar pruebas no invasivas, como la prueba del aliento con urea marcada (PAU) o la prueba del antígeno en heces, para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*.^{3,4} Al finalizar un tratamiento con antibióticos y un inhibidor de la bomba de protones (IBP), se recomienda someter a análisis a los pacientes para verificar la erradicación de la infección por *H. pylori*.⁵ También están disponibles pruebas de anticuerpos séricos, aunque estas no son capaces de distinguir entre infección pasada y actual. Mediante la detección del antígeno presente en las muestras fecales, la prueba *H. PYLORI CHEK™* permite la detección no invasiva de *H. pylori* cuando no se requiere endoscopia.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba *H. PYLORI CHEK™* utiliza anticuerpos específicos frente al antígeno de *H. pylori*. La *placa de microanálisis* del kit contiene anticuerpos de captura frente al antígeno de *H. pylori* inmovilizados. El *conjugado* consiste en anticuerpos específicos frente al antígeno de *H. pylori* unidos a peroxidasa de rábano picante. En el ensayo, una alícuota de una muestra fecal diluida se transfiere a un pocillo de microanálisis que contiene el *conjugado*. Si el antígeno está presente en la muestra, se unirá al *conjugado* y al anticuerpo de captura inmovilizado durante la fase de incubación. El material no unido se elimina durante los pasos de lavado. Tras añadir el *sustrato* se observa un color debido a los complejos de enzima-anticuerpo-antígeno que se formaron en presencia del antígeno.

MATERIALES SUMINISTRADOS

MA	PLT
----	-----

Placa de microanálisis: 12 tiras, cada una con 8 pocillos recubiertos con anticuerpos frente al antígeno de *H. pylori* (conservadas con desecante).

CONJ	ENZ
------	-----

Conjugado (7 ml): anticuerpos específicos frente al antígeno de *H. pylori*, unidos a peroxidasa de rábano picante en una solución proteínica tamponada que contiene ProClin® 300 al 0,05 %.

Indicación de advertencia: Advertencia: ProClin® 300 al 0,05 %.
 H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel
 P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362,
 P363, P364, P501



DIL SPE

Diluyente (40 ml): solución proteínica tamponada. El *diluyente* también se usa como solución de control negativo (véase el apartado “Procedimiento de la prueba”) que contiene ProClin® 300 al 0,05 %.

Indicación de advertencia: Advertencia: ProClin® 300 al 0,05 %.

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel
 P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



CONTROL +

Control positivo (3,5 ml): antígeno de *H. pylori* en una solución proteínica tamponada que contiene ProClin® 300 al 0,05 %.

Indicación de advertencia: Advertencia: ProClin® 300 al 0,05 %.

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel
 P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



H₂SO₄ 0.6N

Solución de parada (7 ml): ácido sulfúrico 0,6 N. ATENCIÓN: Evitar el contacto con la piel o los ojos; aclarar con agua inmediatamente en caso de contacto.

Indicación de advertencia: Peligro

H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves
 P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353,
 P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501



SUBS REAG

Sustrato (14 ml): solución que contiene tetrametilbenzidina y peróxido

WASHBUF 20X

Tampón de lavado concentrado (50 ml): concentrado 20X con solución salina tamponada de fosfato, detergente y tiomersal al 0,2 %

Indicación de advertencia: Advertencia

H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas
 H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
 P260, P273, P314, P391, P501



contiene mercurio



ACCESORIOS

100 pipetas de transferencia de plástico desechables
 1 etiqueta de solución de lavado

2 láminas de plástico adhesivas
 50 varillas aplicadoras de madera

MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Frasco con rociador para el reactivo de lavado
 Cronómetro
 Papel absorbente

Mezclador de tipo vórtex
 Recipiente de residuos
 Guantes desechables

950 ml de agua destilada para diluir el reactivo de lavado

Lector de placas de ELISA capaz de leer a 450 nm, 450/620 nm o 450/630 nm

Tubos pequeños para la dilución de las muestras fecales (p. ej., tubos de microcentrífuga cónicos de 2 ml de plástico)

PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta de la caja. Las fechas de caducidad de los componentes se indican en sus correspondientes etiquetas. El kit debe conservarse entre 2 °C y 8 °C y debe devolverse a la nevera tan pronto como sea posible después del uso.

PRECAUCIONES

1. Producto sujeto a prescripción médica.
2. Para uso diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional.
3. Cada componente del kit debe inspeccionarse para detectar cualquier posible signo de fuga. Al recibirlo, el kit debe inspeccionarse para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
4. No deben mezclarse los reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad asignada.

5. Lleve todos los componentes a temperatura ambiente antes de su uso para garantizar la reactividad adecuada del kit. Retire los reactivos del relleno de espuma para reducir el tiempo necesario para que alcancen la temperatura ambiente.
6. No congele los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.
7. Los tapones y las puntas están codificados con colores y NO deben mezclarse ni intercambiarse.
8. Cuando se manipulen pocillos de ensayo, evite rascar el fondo de los pocillos, ya que esto podría causar lecturas de absorbancia elevadas.
9. Los micropocillos no utilizados deben volver a introducirse en la bolsa resellable junto con el desecante para protegerlos de la humedad.
10. Al verter los reactivos, sujete los frascos en posición vertical para asegurar el tamaño adecuado de las gotas y el volumen correcto.
11. La contaminación microbiana de los reactivos puede reducir la precisión del análisis. Evite la contaminación microbiana de los reactivos utilizando pipetas estériles desechables para extraer partes alícuotas de los frascos de reactivos.
12. Todos los reactivos, a excepción del *tampón de lavado concentrado*, se suministran en frascos listos para usar. Los reactivos pueden dispensarse directamente de los frascos con gotero o decantarse para su uso con pipetas multicanal. Si se ha decantado una cantidad excesiva de reactivo, deberá desecharse el sobrante. No se reintroducirá en el frasco. El *sustrato* debe almacenarse en el frasco protegido de la luz en el que se suministra y debe utilizarse directamente del frasco. Si, por cualquier motivo, se retira una parte alícuota del frasco original, no debe reintroducirse el *sustrato* no utilizado en el frasco original. El *sustrato* es sensible a la luz y debe protegerse de la luz solar directa o de fuentes de UV.
13. Efectúe el procedimiento de lavado según las indicaciones para evitar reacciones de fondo elevadas.
14. La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. No se desvíe del procedimiento especificado. Las alteraciones del procedimiento especificado o de las condiciones de la prueba pueden afectar a su sensibilidad y especificidad.
15. Las muestras fecales pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manejarse en un "Nivel de Bioseguridad 2", tal como se recomienda en el Manual de los CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories".
16. Manipule las muestras y los pocillos de microanálisis utilizados como potenciales transmisores de agentes infecciosos. Utilice guantes desechables para realizar la prueba.
17. Los reactivos *conjugado*, *diluyente* y *tampón de lavado* contienen ProClin® 300 al 0,05 % como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo (puede producirse sensibilización cutánea). En caso de irritación/ sensibilización o erupción cutánea, consulte a un médico. Quite las prendas contaminadas y lávelas antes de volver a usarlas. Manipule los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido; consulte al servicio técnico.
18. El *concentrado de tampón de lavado 20x* contiene tiomersal al 0,2 % como conservante. Una vez diluida hasta la concentración de uso normal, esta solución se clasifica como no peligrosa. La *solución de parada* contiene ácido sulfúrico 0,6N. Aclare inmediatamente con agua en caso de contacto. Quite las prendas contaminadas y lávelas antes de volver a usarlas. Manipule los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido; consulte al servicio técnico.
19. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos. No lo tire a la basura, elimínelo como residuo peligroso.

PREPARACIONES PRELIMINARES

1. **Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente antes de su uso en el análisis.**

2. **Prepare la solución de lavado 1x.** El *tampón de lavado concentrado* se suministra como concentrado 20x (se puede apreciar un precipitado). Se debe diluir hasta un volumen total de 1 litro añadiendo 50 ml del concentrado y 950 ml de agua destilada. La *solución de lavado* 1x puede conservarse entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de caducidad del kit.
3. **Preparación de la tira de ensayo.** Cada tira contiene 8 pocillos recubiertos con anticuerpos específicos frente al antígeno de *H. pylori*. Se empleará uno de estos pocillos recubiertos para cada muestra o control. Determine el número de pocillos que se van a utilizar. Evite el contacto con la base de los pocillos. Los pocillos de análisis no utilizados deben volver a colocarse en la bolsa de aluminio y resellarse con cuidado con el desecante.

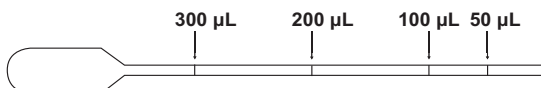
RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS FECALES

Tipo de muestra aceptable	No utilizar
Muestras fecales recientes	Muestras fecales con fijación basada en formol (p. ej., formol acetato sódico, formol al 10 %)
Muestras fecales congeladas	Muestras fecales con fijación basada en alcohol (p. ej., alcohol polivinílico)
Muestras en medios de transporte (Cary Blair, C&S)	Muestras fecales concentradas

Condiciones de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento recomendado
Muestras recientes no sometidas a conservación y muestras en medios de transporte Cary Blair o C&S almacenadas entre 2 °C y 8 °C	96 horas
Muestras recientes no sometidas a conservación y muestras en medios de transporte Cary Blair o C&S almacenadas entre 20 °C y 25 °C	96 horas
Muestras congeladas no sometidas a conservación almacenadas a ≤ -10 °C	14 días

1. Utilice los procedimientos estándar internos del laboratorio para la recogida y transporte de las muestras fecales. Recoja las muestras fecales en recipientes limpios y a prueba de fugas.
2. Las muestras fecales que se almacenan congeladas pueden descongelarse hasta 2 veces. Si se utilizan muestras congeladas, descongele a temperatura ambiente.
3. Asigne e identifique un tubo de ensayo para cada muestra según sea necesario.
4. **Añada 200 μ l de diluyente a cada tubo para las muestras no conservadas. En el caso de muestras en medios de transporte Cary Blair o C&S, añada 100 μ l de diluyente a cada tubo.**
5. Utilice una pipeta de transferencia de plástico desechable (suministradas con el kit) para cada muestra.

Pipeta de transferencia:



6. **Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia, ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea de las mismas antes de tomar las muestras de análisis.**
 - En el caso de **muestras frescas o congeladas/descongeladas**, use la pipeta de transferencia de plástico desechable para añadir 50 µl (primera marca de graduación) de muestra fecal al tubo que contiene el *diluyente* y mezcle bien. Si la muestra no puede pipetarse, utilice una varilla aplicadora para transferir aproximadamente 0,05 g de heces. Es decir, como el tamaño de un guisante (unos 3mm de diámetro).
 - Para las muestras en medios de transporte **Cary Blair o C&S**, añada 100 µl (segunda marca de graduación) de muestra fecal al tubo que contiene el *diluyente* y mezcle bien.
7. Cierre todos los tubos de muestra diluida y mézclelos bien. Mezcle adecuadamente con vórtex o invirtiendo el tubo varias veces. No permita que la muestra permanezca en el *diluyente* durante más de 2 horas.
8. Si se utiliza un equipo de lavado semiautomático o automático, después de la dilución, se deben centrifugar las muestras (5000 x g durante 10 minutos) para eliminar las partículas del sobrenadante antes de la transferencia a los pocillos de ensayo.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Espere hasta que todos los reactivos y el número tiras de ensayo que sean necesarios se encuentren a temperatura ambiente antes de su uso.
2. **Añada 1 gota (50 µl) de conjugado (tapón rojo) a cada pocillo.** Mezcle suavemente el *conjugado* del frasco invirtiéndolo varias veces. Asegúrese de sostener el frasco en posición vertical al añadir las gotas. Utilice 1 pocillo para cada muestra fecal, 1 pocillo para el *control positivo* y 1 pocillo para el control negativo. Se pueden escribir marcas de identificación directamente en el lateral del pocillo.
3. **Mediante una pipeta de transferencia nueva, dispense 100 µl de muestra diluida (o de sobrenadante de la muestra diluida centrifugada si se utiliza un equipo de lavado automático) en el pocillo de ensayo.** Añada 1 gota (50 µl) de *control positivo* (tapón negro) al pocillo del control positivo y 100 µl de *diluyente* (control negativo) al pocillo del control negativo. Golpee suavemente los laterales de la placa para mezclar.
4. Recorte la hoja adhesiva de plástico al tamaño necesario para cubrir los pocillos. **Cubra los pocillos e incúbelos a 37 °C ± 2 °C durante 50 minutos.**
5. Vacíe el contenido de los pocillos de ensayo en un contenedor de desechos.
6. **Lave bien cada pocillo con la solución de lavado 1x en un frasco con rociador con boquilla de punta fina,** dirigiendo con fuerza la *solución de lavado* hacia el fondo del pocillo. Llene los pocillos y a continuación vacíe la *solución de lavado* de los pocillos a un contenedor de desechos. Golpee la placa invertida sobre un papel absorbente seco.
Nota: Si se utiliza un equipo de lavado semiautomático o automático, añada 350 µl de solución de lavado 1x a cada pocillo. Lave un total de 5 veces.
7. Repita la etapa 6 cuatro veces más utilizando cada vez un papel absorbente seco. Si se observan partículas en los pocillos, siga lavando hasta que se elimine esta materia.
8. Después del lavado, retire completamente cualquier líquido residual de los pocillos golpeando la placa sobre un papel absorbente seco hasta que no salga más líquido. Elimine adecuadamente el papel absorbente y los contenedores de muestras.
9. **Añada 2 gotas (100 µl) de sustrato (tapón azul) a cada pocillo.** Golpee suavemente los pocillos para mezclar el *sustrato*. Incube los pocillos durante 10 minutos a temperatura ambiente. Golpee suavemente los pocillos a los 5 minutos.
10. **Añada una gota (50 µl) de solución de parada (tapón amarillo) a cada pocillo.** Golpee suavemente los pocillos y espere 2 minutos antes de la lectura. La adición de la *solución de parada* convierte el color azul en amarillo, lo que puede cuantificarse

determinando la densidad óptica a 450 nm en un lector de microplacas de ELISA. El instrumento debe calibrarse con aire. Si se utiliza un lector de longitud de onda dual, calibre con aire a 620 o 630 nm y lea a 450 nm. Antes de determinar la densidad óptica, limpie la parte inferior de cada pocillo. Si no se dispone de un lector de placas de ELISA, la prueba se puede leer visualmente en condiciones de iluminación adecuadas frente a un fondo blanco. Lea a los diez minutos de añadir la *solución de parada*.

CONTROL DE CALIDAD

- Se efectuarán un control positivo y un control negativo con cada serie de muestras problema. Los controles positivos demuestran que la prueba funciona adecuadamente para la detección del antígeno de *H. pylori* en muestras fecales. El control negativo demuestra que la prueba no está reaccionando inespecíficamente.
- Los controles positivo y negativo deben estar dentro de sus rangos respectivos (véase a continuación), pues de lo contrario los resultados de la prueba no serán válidos. Si estos resultados no se cumplen, llame al Servicio Técnico.
 - El control positivo debe tener un color amarillo visible.** Si se lee en un espectrofotómetro, la OD a 450 nm o, cuando se utiliza longitud de onda dual, a 450/620 nm o 450/630 nm debe ser $\geq 0,500$. Todo pocillo que dé una lectura positiva sin color visible deberá ser colocado de nuevo, se deberá limpiar la parte inferior del mismo y se leerá nuevamente.
 - El control negativo debe ser transparente.** Si se lee en un espectrofotómetro, la OD a 450 nm debe ser $< 0,120$. Si se lee a 450/620 nm o a 450/630 nm, la absorbancia debe ser $< 0,080$. En caso contrario, la prueba no es válida y deberá repetirse, prestando atención al procedimiento de lavado.
- Las lecturas visuales se deben realizar en condiciones adecuadas de iluminación frente a un fondo blanco.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

	Lectura espectrofotométrica	
	Longitud de onda única a 450 nm	Longitud de onda dual a 450/620 nm o 450/630 nm
negativo	OD $< 0,120$	OD $< 0,080$
positivo	OD $\geq 0,120$	OD $\geq 0,080$

Un resultado positivo de la prueba *H. PYLORI CHEK™* confirma la presencia de antígeno de *H. pylori* en la muestra y un resultado negativo indica la ausencia de antígeno o un nivel de antígeno insuficiente para la detección.

Interpretación visual

El pocillo de control negativo debe ser incoloro o tener un ligero color amarillo. El pocillo del *control positivo* debe tener un color amarillo visible. Si estos resultados no se cumplen, llame al Servicio Técnico. Una muestra se considera positiva si tiene un color amarillo evidente en comparación con el pocillo de control negativo. Puede ser más o menos amarillo que el color observado en el pocillo de control positivo. Una muestra se considera negativa si la reacción es incolora o menos amarilla que el pocillo de control negativo.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA *H. PYLORI CHEK™*

- La prueba *H. PYLORI CHEK™* se utiliza para detectar el antígeno de *H. pylori* en muestras fecales. *La prueba confirma la presencia de antígeno de H. pylori en la muestra, y el médico debe tener en cuenta esta información junto con la anamnesis y la exploración física del paciente.*

2. Un resultado negativo de la prueba no descarta la posibilidad de presencia de antígeno de *H. pylori* en la muestra, lo que puede suceder si el nivel de antígeno es inferior al límite de detección de la prueba.
3. Se pueden producir resultados de falso negativo si un paciente ha utilizado antibióticos, inhibidores de la bomba de protones (IBP) o compuestos de bismuto en los 14 días anteriores a la recogida de la muestra fecal, puesto que se sabe que estos medicamentos inhiben *H. pylori*. En estos casos debería recogerse y analizarse una nueva muestra fecal cuando hayan transcurrido 14 días tras la finalización del tratamiento. Sin embargo, los resultados positivos de pacientes que han utilizado antibióticos, IBP o compuestos de bismuto en los 14 días anteriores a la recogida de la muestra fecal se consideran exactos.
4. Si se transfiere una cantidad muy reducida de muestra o si no se mezcla y se suspende completamente la muestra en el diluyente puede obtenerse un resultado falso negativo en la prueba.
5. La prueba *H. PYLORI CHEK™* es cualitativa. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
6. No existen datos sobre los efectos de los lavados de colon, enemas de bario, laxantes o preparados intestinales en el rendimiento de la prueba *H. PYLORI CHEK™*. Estos procedimientos pueden dar lugar a un factor de dilución elevado o a la presencia de aditivos que pueden afectar al rendimiento de la prueba.
7. No se han establecido las características de funcionamiento en poblaciones asintomáticas.

VALORES ESPERADOS

La prueba *H. PYLORI CHEK™* detecta la presencia del antígeno de *Helicobacter pylori* en muestras fecales humanas. La infección por *H. pylori* es un fenómeno mundial con tasas de prevalencia declarada en adultos que van del 20 % al 95 %.¹ Además de la ubicación geográfica, factores como la edad, la raza y el nivel socioeconómico también influyen en la tasa de prevalencia.^{6,7} *H. pylori* es presuntamente la causa de entre el 70 % y el 85 % de las úlceras gástricas y de entre el 90 % y el 95 % de las duodenales.⁸ Históricamente, los tratamientos para erradicar la infección por *H. pylori* han tenido tasas de éxito que van del 76 % al 94 %; sin embargo, la eficacia de los tratamientos estándar ha disminuido debido a factores como el aumento de la prevalencia de cepas de *H. pylori* resistentes a los antibióticos.⁹ La eficacia del tratamiento de erradicación puede mejorar significativamente si se prescribe un tratamiento personalizado.¹⁰

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se evaluó el rendimiento de la prueba *H. PYLORI CHEK™* en 6 centros independientes. A los pacientes incluidos en el estudio se les practicaron endoscopias como parte de la atención rutinaria. En la evaluación se utilizó la comparación con un método de referencia mixto (composite reference method, CRM) que consistía en una prueba rápida de la ureasa y la histopatología de las muestras de biopsia. La tabla siguiente contiene un resumen de los datos de rendimiento clínico. Los resultados del estudio muestran que la prueba *H. PYLORI CHEK™* tuvo, por análisis espectrofotométrico de longitud de onda dual, una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 96,1 % con los resultados de la biopsia con el CRM. La prueba también se realizó por lectura visual de las placas. Los resultados visuales fueron los mismos que los resultados espectrofotométricos de longitud de onda dual el 99 % de las veces.

Distribución por edad y sexo

Se tenía información sobre la edad y el sexo de 109 pacientes. Las edades estuvieron comprendidas en el intervalo que va de 19 a 82 años. De los 109 pacientes estudiados, el 66% eran mujeres y el 34% eran hombres. No se observó ninguna diferencia en el rendimiento de la prueba en función de la edad o el sexo del paciente.

Diagnóstico inicial de la prueba *H. PYLORI CHEK™* frente al método de referencia mixto (CRM)

N = 109	CRM positivo	CRM negativo
<i>H. PYLORI CHEK™</i> positivo	32	3*
<i>H. PYLORI CHEK™</i> negativo	0	74

	Límites de confianza del 95%	
Sensibilidad	100,0%	89,3% - 98,9%
Especificidad	96,1%	89,2% - 98,7%

*Todas las tres muestras dieron positivo inicialmente en la prueba *H. PYLORI CHEK™*, pero negativo cuando se volvieron a analizar con la prueba *H. PYLORI CHEK™*.

Postratamiento

Para comprobar la erradicación (postratamiento), se contaba con 9 muestras de pacientes para analizar tras el tratamiento. Los resultados muestran que la prueba *H. PYLORI CHEK™* presentó una sensibilidad del 77,8 % respecto al método de referencia mixto.

N = 9	CRM positivo	CRM negativo
<i>H. PYLORI CHEK™</i> positivo	7*	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> negativo	2**	0

	Límites de confianza del 95%	
Sensibilidad	77,8%	45,3% - 93,7%

* Una muestra dio positivo por lectura visual pero negativo por interpretación espectrofotométrica (OD_{450/620} 0,034).

** Una muestra dio negativo inicialmente pero positivo cuando se volvió a analizar con la prueba *H. PYLORI CHEK™*.

Estudio de muestras retrospectivo

Se realizó un estudio complementario de muestras retrospectivo para comparar la prueba *H. PYLORI CHEK™* con un ELISA comercialmente disponible aprobado por la FDA. Para este estudio se evaluaron 196 muestras (75 positivas y 121 negativas con el ELISA comercial). La correlación entre las pruebas fue del 100 %.

N = 196	ELISA comercial aprobado por la FDA positivo	ELISA comercial aprobado por la FDA negativo
<i>H. PYLORI CHEK™</i> positivo	75	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> negativo	0	121

	Límites de confianza del 95%	
Concordancia positiva	100,0%	95,1% - 100,0%
Concordancia negativa	100,0%	96,9% - 100,0%

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad de la prueba *H. PYLORI CHEK™* se determinó utilizando 8 muestras fecales codificadas para evitar su identificación durante los ensayos. Las pruebas se realizaron en 2 laboratorios independientes e in situ en TECHLAB, Inc. Las muestras se analizaron por triplicado dos veces al día durante 5 días por varios técnicos de cada centro, usando 2 lotes diferentes del kit. Los resultados fueron coherentes entre las diferentes localizaciones y mostraron una correlación del 97,5 %.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se evaluó la reactividad cruzada de la prueba *H. PYLORI CHEK™* con los microorganismos y virus intestinales habituales que se indican a continuación. Ninguno de los microorganismos y virus mostró interferencia con el funcionamiento de la prueba *H. PYLORI CHEK™*.

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i> ECEP
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> ECET
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (no toxigena)
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (toxigena)
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Campylobacter helveticus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Campylobacter lari</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium bifementans</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan)
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Escherichia coli</i> ECEI	

Adenovirus tipos 2, 40	Echovirus 9, 22
Coronavirus humano	Enterovirus 70
Virus de Coxsackie B1, B2, B3, B6	Rotavirus humano

ESTUDIO DE INCLUSIVIDAD

Se analizaron las siguientes cepas, que incluyen aislados representativos de las poblaciones de *H. pylori* descritas, para determinar su reactividad con la prueba *H. PYLORI CHEK™*. Todas las cepas estudiadas dieron un resultado positivo.

ATCC 700392	JP26
ATCC 43526	ATCC 43504
ATCC 700824	ATCC 43579

SUSTANCIAS INTERFERENTES (FORMULACIÓN DE EE.UU.)

Las siguientes sustancias no tuvieron ningún efecto en los resultados positivos o negativos de la prueba *H. PYLORI CHEK™* analizadas a las concentraciones indicadas: sulfato de bario (5 % p/v), cloruro de benzalconio (1 % p/v), ciprofloxacino (0,25 % p/v), etanol (1 % p/v), mucina gástrica de cerdo (3,5 % p/v), sangre humana (40 % v/v), hidrocortisona (1 % p/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), leucocitos (0,05 % v/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), mesalazina (10 % p/v), metronidazol (0,25 % p/v),

MiraLax® (7 % p/v), parafina líquida (10 % p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), naproxeno sódico (5 % p/v), nonoxinol-9 (1 % p/v), nistatina (1 % p/v), ácido palmítico/grasa fecal (40 % p/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), fenilefrina (1 % p/v), Prilosec OTC® (5 µg/ml), senósidos (1 % p/v), simeticona (10 % p/v), ácido esteárico/grasa fecal (40 % p/v), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS® (50 µg/ml), orina humana (5 % v/v) y vancomicina (0,25 % p/v).

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El límite de detección (LdD) de la prueba *H. PYLORI CHEK™* se estableció en 6,70 ng/ml en matriz fecal (0,13 ng/prueba) para el antígeno de *Helicobacter pylori*, usando antígeno de lisado celular preparado a partir de la cepa ATCC 43526 de *H. pylori*. Para muestras en medios de transporte Cary Blair, el LdD se estableció en 26,57 ng/ml (0,33 ng/prueba). Para muestras en medios de transporte C&S, el LdD se estableció en 18,19 ng/ml (0,23 ng/prueba).

PRECISIÓN INTRAANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento intraanalítico se procesaron 8 muestras fecales con la prueba *H. PYLORI CHEK™*. Se analizaron 2 muestras negativas, 2 muestras con negativo alto, 2 muestras con positivo bajo y 2 muestras moderadamente positivas. Cada muestra se ensayó un total de cinco veces utilizando dos lotes de kit diferentes. Las muestras positivas dieron el resultado esperado y las muestras negativas dieron siempre un resultado negativo.

PRECISIÓN INTERANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento interanalítico se procesaron 8 muestras fecales con la prueba *H. PYLORI CHEK™*. Se analizaron 2 muestras negativas, 2 muestras con negativo alto, 2 muestras con positivo bajo y 2 muestras moderadamente positivas. Las muestras se analizaron dos veces al día, por parte de varios técnicos, durante un período de 12 días, usando 2 lotes de kit diferentes. Las muestras positivas dieron resultados esperados un 98,3 % de las veces y las negativas dieron resultados esperados un 97,8 % de las veces.

MUESTRAS RECIENTES FRENTE A MUESTRAS CONGELADAS

Se evaluó el efecto de la conservación prolongada de muestras congeladas en la estabilidad del antígeno. Se analizaron un total de 32 muestras fecales mediante el ensayo *H. PYLORI CHEK™*. Las muestras fecales consistieron en 2 muestras fecales negativas, 5 muestras fecales con negativo alto, 10 muestras fecales con positivo bajo y 15 muestras fecales positivas, que cubren el rango de la prueba (50-1200 ng/ml). Se prepararon las muestras, se almacenaron a ≤ -10 °C y ≤ -70 °C y se analizaron al cabo de 0, 5, 10 y 14 días. No se observó ninguna conversión de positivo a negativo ni de negativo a positivo en ninguna de las muestras en los momentos especificados.

PROZONA

Para asegurar que una concentración elevada de antígeno de *H. pylori* no interfiera con una reacción positiva en la prueba *H. PYLORI CHEK™*, se prepararon muestras con positivo alto enriqueciendo una mezcla fecal negativa con concentraciones hasta 10 veces superiores a la concentración de antígeno observada en una muestra clínica positiva. En total se prepararon y se analizaron por triplicado 5 diluciones diferentes de antígeno de *H. pylori*. Los resultados indican que no hubo efecto prozona global; un nivel elevado de antígeno no afectó a su detección.

H. PYLORI CHEK™

VERWENDUNGSZWECK

Der *H. PYLORI CHEK™* Test von TECHLAB® ist ein Enzymimmunoassay für den qualitativen Nachweis von *Helicobacter pylori*-spezifischem Antigen. Er dient als Hilfsmittel zur Diagnose einer *H. pylori*-Infektion in menschlichen Stuhlproben und zur Demonstration des Verlustes von *H. pylori*-Antigen nach einer Behandlung. Der Test kann mit unkonserverten Stuhlproben und mit in Transportmedium konservierten Stuhlproben von Patienten mit Verdacht auf eine *H. pylori*-Infektion durchgeführt werden. Tests zum Nachweis der Absenz von *H. pylori*-Antigen nach einer Behandlung sollten frühestens 4 Wochen nach Abschluss der Therapie bei den Patienten erfolgen. Die Testergebnisse sollten vom Arzt unter Berücksichtigung der Patientenanamnese und der Symptome des Patienten ausgewertet werden.

Achtung: Gemäß US-Bundesgesetz ist der Verkauf dieses Produkts an Ärzte bzw. auf Anordnung eines Arztes beschränkt.

ERKLÄRUNG

Schätzungen gehen davon aus, dass die Hälfte der Weltbevölkerung mit *H. pylori* infiziert ist.¹ Die Mehrheit der infizierten Personen ist asymptomatisch und benötigt keine Behandlung (kolonisierte Personen). Bei einem geringen Anteil der infizierten Personen entwickelt sich eine Gastritis und bei wiederum einem Teil davon treten Magengeschwüre bzw. Magenkarzinome auf.² Die Diagnose einer *H. pylori*-Infektion wird auf der Grundlage einer Endoskopie mit Biopsie erstellt – das biopsierte Gewebe wird mittels Kultur, Histologie oder Urease-Schnelltest auf das Vorhandensein von *H. pylori* untersucht. Nach den aktuellen Leitlinien wird Endoskopie nach wie vor für die Diagnose einer *H. pylori*-Infektion bei Patienten mit Alarmsymptomen (z. B. gastrointestinale Blutung, plötzliche Gewichtsabnahme, übermäßiges Erbrechen, Anämie) oder bei Patienten über 55 Jahren empfohlen. Bei jüngeren Patienten ohne alarmierende Symptome werden nicht-invasive Tests wie der Harnstoff-Atemtest (UBT) oder Antigen-Stuhltest für die Diagnose einer *H. pylori*-Infektion empfohlen.^{3,4} Nach Beendigung einer Therapie mit Antibiotika und einem Protonenpumpenhemmer (PPI) wird die Durchführung eines Tests zur Überprüfung der Eradikation der *H. pylori*-Infektion empfohlen.⁵ Serumantikörpertests sind ebenso verfügbar, sie können jedoch nicht zwischen einer früher stattgefundenen und gegenwärtig vorliegenden Infektion unterscheiden. Anhand des Nachweises von Antigen in Stuhlproben ermöglicht der *H. PYLORI CHEK™* Test den nicht-invasiven Nachweis von *H. pylori*, wenn keine Endoskopie erforderlich ist.

TESTPRINZIP

Der *H. PYLORI CHEK™* Test basiert auf spezifischen Antikörpern gegen *H. pylori*-Antigen. Die *Mikrotiterplatte* des Kits enthält immobilisierte Fänger-Antikörper gegen *H. pylori*-Antigen. Das *Konjugat* besteht aus an Meerrettich-Peroxidase gebundenen spezifischen Antikörpern gegen *H. pylori*-Antigen. Bei dem Test wird ein Aliquot einer verdünnten Stuhlprobe in eine Kavität der Mikrotiterplatte mit *Konjugat* übertragen. Ist das Antigen in der Probe vorhanden, bindet es während der Inkubationsphase an das *Konjugat* und den immobilisierten Fänger-Antikörper. Nicht gebundenes Material wird während der Waschschriffe entfernt. Nach der Zugabe von *Substrat* wird aufgrund der Enzym-Antikörper-Antigen-Komplexe, die sich in Gegenwart von Antigen gebildet haben, eine Färbung nachgewiesen.

PACKUNGSGEHALT

- | | |
|----|-----|
| MA | PLT |
|----|-----|
- Mikrotiterplatte** – 12 Streifen, 8 Kavitäten pro Streifen, beschichtet mit *H. pylori*-Antigen (mit Trockenmittel gelagert)
- | | |
|------|-----|
| CONJ | ENZ |
|------|-----|
- Konjugat (7 mL)** – Antikörper gegen *H. pylori*-Antigen, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,05 % ProClin® 300

Signalwort: Warnung – 0,05 % ProClin® 300
 H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen
 P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362,
 P363, P364, P501



DIL SPE

Verdünnungspuffer (40 mL) – Gepufferte Proteinlösung. Der *Verdünnungspuffer* wird auch als negative Kontrolllösung verwendet (siehe TESTVERFAHREN). Mit 0,05 % ProClin® 300.

Signalwort: Warnung – 0,05 % ProClin® 300
 H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen
 P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362,
 P363, P364, P501



CONTROL +

Positive Kontrolle (3,5 mL) – *H. pylori*-Antigen in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,05 % ProClin® 300

Signalwort: Warnung – 0,05 % ProClin® 300
 H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen
 P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



H₂SO₄ 0.6N

Stopflösung (7 mL) – 0,6 N Schwefelsäure. VORSICHT: Kontakt mit der Haut vermeiden; im Fall eines Hautkontakts sofort mit Wasser abspülen

Signalwort: Gefahr
 H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.



P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353,
 P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501

SUBS REAG

Substrat (14 mL) – Lösung aus Tetramethylbenzidin und Peroxid

WASHBUF 20X

Waschpufferkonzentrat (50 mL) – 20x-Konzentrat mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung, Detergens und 0,2 % Thimerosal

Signalwort: Warnung
 H373: Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition
 H411: Giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
 P260, P273, P314, P391, P501



enthält Quecksilber



ZUBEHÖR

100 Einweg-Transferpipetten aus Kunststoff

2 Kunststoffklebefolien

1 Waschlösungsetikett

50 Applikatorstäbchen aus Holz

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT ENHALTEN)

Spritzflasche für das Waschreagens

Vortex-Schüttler

Timer

Abfallbehälter

Saugpapier

Einweghandschuhe

950 mL destilliertes Wasser zur Verdünnung des Waschreagens

ELISA-Plattenreader für eine Wellenlänge von 450 nm, 450/620 oder 450/630 nm

Reagenzröhrchen zur Stuhlprobenverdünnung (z. B. konische 2-mL-

Mikrozentrifugenröhrchen aus Kunststoff)

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum dieses Testkits ist auf dem Verpackungsetikett angegeben. Das Verfallsdatum für die einzelnen Bestandteile ist auf den jeweiligen Etiketten angegeben. Das Kit muss zwischen 2 °C und 8 °C gelagert und nach dem Gebrauch so schnell wie möglich wieder in den Kühlschrank gegeben werden.

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Verschreibungspflichtig
2. *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.
3. Sämtliche Bestandteile des Kits müssen auf Anzeichen für Undichtigkeit untersucht werden. Bei Erhalt muss das Kit darauf untersucht werden, dass die Komponenten nicht wegen unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind.

4. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen. Verwenden Sie das Testkit nicht nach dem angegebenen Verfallsdatum.
5. Lassen Sie alle Bestandteile vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen, um eine ordnungsgemäße Reaktivität des Kits sicherzustellen. Nehmen Sie die Reagenzien aus dem Schaumstoffeinsatz, um die Aufwärmzeit zu verkürzen.
6. Reagenzien nicht einfrieren. Das Kit muss zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.
7. Verschlüsse und Spitzen sind farbkodiert; NICHT vertauschen!
8. Achten Sie bei der Handhabung der Kavitäten darauf, diese nicht zu verkratzen, da dies zu erhöhten Absorptionsmesswerten führen kann.
9. Ungebrauchte Kavitäten der Mikrotiterplatte müssen mit Trockenmittel zurück in den wiederverschließbaren Beutel gegeben werden, damit sie vor Feuchtigkeit geschützt sind.
10. Halten Sie die Reagenzflaschen bei der Reagenzienaussgabe senkrecht, um eine angemessene Tropfengröße und korrekte Menge sicherzustellen.
11. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien kann die Genauigkeit des Tests beeinträchtigen. Vermeiden Sie eine mikrobielle Kontaminationen der Reagenzien, indem Sie sterile Einweg-Pipetten für die Reagenzienentnahme aus den Flaschen verwenden.
12. Mit Ausnahme des *Waschpuffer-Konzentrats* werden alle Reagenzien in gebrauchsfertigen Flaschen geliefert. Die Reagenzien können direkt aus den Tropfflaschen dispensiert oder für Mehrkanalpipetten dekantiert werden. Wenn überschüssiges Reagens dekantiert wird, muss der Überschuss entsorgt werden. Nicht zurück in die Flasche gießen. Das *Substrat* muss in der lichtgeschützten Flasche, in der es geliefert wurde, gelagert und direkt aus dieser verwendet werden. Wenn aus der Originalflasche aus irgendeinem Grund ein Aliquot entnommen wurde, darf nicht verwendetes *Substrat* nicht wieder zurück in die Originalflasche gegeben werden. Das *Substrat* ist lichtempfindlich und muss vor direktem Sonnenlicht und UV-Quellen geschützt werden.
13. Führen Sie das Waschverfahren nach Anweisung durch, um starke Hintergrundreaktionen zu vermeiden.
14. Der Test wurde hinsichtlich seiner Sensitivität und Spezifität optimiert. Halten Sie sich genau an die Anweisungen. Abweichungen vom angegebenen Verfahren und/oder Änderungen der Testbedingungen können die Sensitivität und Spezifität des Tests beeinflussen.
15. Stuhlproben können potenzielle Infektionserreger enthalten und sind, wie im CDC/NIH-Handbuch „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ (Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Labors) empfohlen, nach „Biosicherheitsstufe 2“ zu handhaben.
16. Behandeln Sie die Proben und gebrauchten Kavitäten als infektiöses Material. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
17. Das *Konjugat*, der *Verdünnungspuffer* und der *Waschpuffer* enthalten 0,05% ProClin® 300 als Konservierungsstoff. Auch wenn die Konzentration gering ist, ist ProClin® 300 als schädlich bekannt (Hautsensibilisierung kann auftreten). Bei Hautsensibilisierung/-reizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den Kundendienst.
18. Das 20x *Waschpufferkonzentrat* enthält 0,2 % Thimerosal als Konservierungsstoff. Sobald sie auf normale Gebrauchskonzentration verdünnt ist, wird diese Lösung als ungefährlich eingestuft. Die *Stopplösung* enthält 0,6N Schwefelsäure. Bei Kontakt sofort mit Wasser abspülen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den Kundendienst.
19. Befolgen Sie alle geltenden nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung. Nicht zum Hausmüll geben, als gefährlichen Abfall entsorgen.

VORBEREITUNG

1. **Vor der Verwendung müssen alle Reagenzien Raumtemperatur angenommen haben.**
2. **Bereiten Sie die einfach konzentrierte (1x) Waschlösung zu.** Das *Waschpuffer-Konzentrat* wird als 20x-Konzentrat geliefert (möglicherweise ist ein Präzipitat sichtbar). Verdünnen Sie es auf ein Gesamtvolumen von 1 Liter, indem Sie 50 mL Konzentrat 950 mL destilliertem Wasser hinzufügen. Die 1x *Waschlösung* kann bis zum Ablauf des Verfallsdatums des Kits zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden
3. **Vorbereitung der Teststreifen** Jeder Streifen enthält 8 Kavitäten, die mit spezifischen Antikörpern gegen *H. pylori*-Antigen beschichtet sind. Für jede Probe bzw. Kontrolle ist eine dieser beschichteten Kavitäten erforderlich. Legen Sie die Anzahl der zu verwendenden Kavitäten fest. Vermeiden Sie eine Berührung des Bodens der Kavitäten. Nicht verwendete Kavitäten müssen zurück in den Folienbeutel gegeben und mit Trockenmittel gut verschlossen werden.

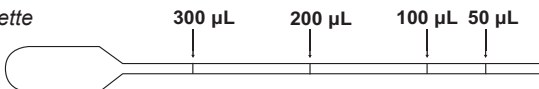
ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG VON STUHLPROBEN

Akzeptabler Probentyp	Nicht verwenden
Frische Stuhlproben	Stuhlproben in Fixiermittel auf Formalinbasis (z. B. Natriumacetat-Formalin, 10 % Formalin)
Gefrorene Stuhlproben	Stuhlproben in Fixiermittel auf Alkoholbasis (z. B. Polyvinylalkohol)
Proben in Transportmedien (Cary Blair, C&S)	Konzentrierte Stuhlproben

Lagerungsbedingungen	Empfohlene Lagerungszeit
Frische unkonservierte Proben und Proben in Cary Blair oder C&S Transportmedium bei 2 °C bis 8 °C	96 Stunden
Frische unkonservierte Proben und Proben in Cary Blair oder C&S Transportmedium bei 20 °C bis 25 °C	96 Stunden
Gefrorene unkonservierte Proben, gelagert bei ≤ -10 °C	14 Tage

1. Verwenden Sie die üblichen internen Methoden zur Entnahme und Handhabung von Stuhlproben. Für die Entnahme der Stuhlproben sind saubere, dichte Behälter zu verwenden.
2. Gefrorene Stuhlproben können bis zu 2 Mal aufgetaut werden. Gefrorene Proben bei Raumtemperatur auftauen.
3. Verwenden Sie für jede Stuhlprobe ein eigenes Reagenzglas und kennzeichnen Sie es.
4. **Geben Sie 200 µL Verdünnungspuffer in jedes Reagenzglas für nicht konservierte Proben. Bei Proben in Cary Blair oder C&S Transportmedien geben Sie 100 µL Verdünnungspuffer in jedes Reagenzglas.**
5. Sie benötigen 1 Einweg-Kunststofftransferpipette (im Lieferumfang enthalten) für jede Probe.

Transferpipette



6. **Mischen Sie alle Proben unabhängig von ihrer Konsistenz gründlich durch - eine gleichmäßige Suspension der Proben vor dem Übertragen ist unbedingt erforderlich.**
 - **Frische bzw. gefrorene/aufgetaute Proben** – Geben Sie mithilfe der Einweg-Kunststofftransferpipette 50 µL (1. Markierung) Stuhlprobe in das Reagenzglas mit dem *Verdünnungspuffer* und mischen Sie gut. Wenn die Probe nicht pipettiert werden kann, übertragen Sie etwa 0,05 g Stuhl mit einem Applikatorstäbchen. Dies entspricht etwa der Größe einer kleinen Erbse (Durchmesser ca. 3mm).
 - Proben in **Cary Blair oder C&S Transportmedien** – Geben Sie 100 µL (2. Markierung) Stuhlprobe in das Reagenzglas mit dem *Verdünnungspuffer* und mischen Sie gut.
7. Verschließen Sie alle Reagenzgläser mit den verdünnten Proben, und mischen Sie gründlich. Gründliches Mischen erzielen Sie mittels Vortexen oder mehrmaliges Umdrehen des Reagenzglases. Lassen Sie die Stuhlprobe nie länger als 2 Stunden im *Verdünnungspuffer*.
8. Bei Verwendung halbautomatischer oder automatischer Waschgeräte müssen die verdünnten Proben zur Entfernung von Partikeln aus dem Überstand vor dem Übertragen in die Kavitäten zentrifugiert werden (5000 x g – 10 Minuten).

TESTVERFAHREN

1. Lassen Sie alle Reagenzien und die erforderliche Anzahl von Teststreifen vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen.
2. **Geben Sie 1 Tropfen (50 µL) Konjugat (roter Verschluss) in jede Kavität.** Mischen Sie das *Konjugat* vorsichtig, indem Sie die Flasche mehrmals umdrehen. Achten Sie darauf, dabei jede Flasche senkrecht zu halten. Verwenden Sie 1 Vertiefung je Stuhlprobe, 1 Vertiefung für die *Positive Kontrolle* und 1 Vertiefung für die negative Kontrolle. Die Kavitäten können zur Identifizierung direkt auf der Seite beschriftet werden.
3. **Übertragen Sie mithilfe einer neuen Transferpipette 100 µL verdünnte Probe (oder Überstand aus der zentrifugierten verdünnten Probe bei Verwendung eines Waschautomaten) in die Testkavität.** Geben Sie 1 Tropfen (50 µL) der *Positiven Kontrolle* (schwarzer Verschluss) in die für die positive Kontrolle vorgesehene Kavität sowie 100 µL *Verdünnungspuffer* (negative Kontrolle) in die für die negative Kontrolle vorgesehene Kavität. Klopfen Sie zum Mischen gegen die Plattenseiten.
4. Schneiden Sie die Kunststoffklebefolie so zurecht, dass sie die Kavitäten abdeckt. **Decken Sie die Kavitäten ab und inkubieren Sie sie bei 37 °C ± 2 °C für 50 Minuten.**
5. Schütteln Sie den Inhalt der Testkavitäten in eine Abfallschale aus.
6. **Spülen Sie jede Kavität mit der 1x Waschlösung aus einer Spritzflasche mit feiner Düse**, indem Sie den Strahl der *Waschlösung* jeweils kräftig auf den Boden der Kavität richten. Füllen Sie die Kavitäten und schütteln Sie die *Waschlösung* aus der Kavität in eine Abfallschale aus. Klopfen Sie die umgedrehte Platte auf einem trockenen Papiertuch aus.
Hinweis: Bei Verwendung eines halbautomatischen bzw. automatischen Waschgeräts geben Sie 350 µL 1x Waschlösung in jede Kavität. Insgesamt fünf Mal waschen.
7. Wiederholen Sie Schritt 6 vier Mal, und verwenden Sie dabei jedes Mal ein trockenes Papiertuch. Wenn in den Kavitäten Partikel sichtbar sind, fahren Sie mit dem Waschen fort, bis alle Partikel beseitigt sind.
8. Entfernen Sie nach dem Waschen sämtliche Flüssigkeitsreste aus den Kavitäten, indem Sie die Platte auf einem trockenen Papiertuch ausklopfen, bis keine Flüssigkeit mehr austritt. Entsorgen Sie die Papiertücher und Probenbehältnisse ordnungsgemäß.
9. **Geben Sie 2 Tropfen (100 µL) Substrat (blauer Verschluss) in jede Kavität.** Klopfen Sie zum Mischen des *Substrats* sanft gegen die Kavitäten. Inkubieren Sie die Kavitäten 10 Minuten lang bei Raumtemperatur. Klopfen Sie nach 5 Minuten sanft gegen die Kavitäten.
10. **Geben Sie 1 Tropfen (50 µL) Stopplösung (gelber Verschluss) in jede Kavität.**

Klopfen Sie sanft gegen die Kavitäten und warten Sie 2 Minuten bis zum Ablesen. Durch Zugabe der *Stopplösung* schlägt die blaue Färbung in eine gelbe Färbung um. Dieser Effekt kann quantifiziert werden, indem die optische Dichte mit einem ELISA-Lesegerät bei 450 nm gemessen wird. Für das Instrument muss der Leerwert gegen Luft ermittelt werden. Wenn Sie einen Reader für zwei Wellenlängen benutzen, messen Sie den Leerwert bei 620 bzw. 630 nm und lesen Sie bei 450 nm ab. Wischen Sie vor der Messung der optischen Dichte die Unterseite jeder Kavität ab. Sollte kein ELISA-Reader verfügbar sein, kann das Testergebnis bei guten Lichtverhältnissen vor einem weißen Hintergrund visuell abgelesen werden. Lesen Sie innerhalb von zehn Minuten nach Zugabe der *Stopplösung* ab.

QUALITÄTSKONTROLLE

1. Bei jeder Testprobenserie müssen eine positive und eine negative Kontrolle mitgetestet werden. Die positiven Kontrollen zeigen, dass der Test für den Nachweis von *H. pylori*-Antigen in menschlichen Stuhlproben ordnungsgemäß funktioniert. Die negative Kontrolle zeigt, dass der Test nicht unspezifisch reagiert.
2. Die positiven und negativen Kontrollen müssen in ihrem jeweiligen Bereich (siehe unten) liegen, andernfalls sind die Testergebnisse ungültig. Wenden Sie sich an den technischen Kundendienst, wenn Sie diese Ergebnisse nicht erzielen.
 - a) **Die positive Kontrolle muss eine sichtbare gelbe Färbung aufweisen.** Wenn mit einem Spektrophotometer abgelesen wird, muss die optische Dichte bei 450 bzw. 450/620 oder 450/630 $\geq 0,500$ sein. Kavitäten, die einen positiven Messwert, aber keine sichtbare Färbung ergeben, müssen neu positioniert, an der Unterseite abgewischt und nochmals abgelesen werden.
 - b) **Die negative Kontrolle muss optisch farblos sein.** Wenn mit einem Spektrophotometer abgelesen wird, muss die optische Dichte bei 450 $< 0,120$ sein. Wenn bei 450/620 bzw. 450/630 abgelesen wird, muss die Absorption $< 0,080$ sein. Andernfalls ist der Test ungültig und muss unter besonderer Beachtung des Waschverfahrens wiederholt werden.
3. Visuelles Ablesen muss bei gutem Licht gegen einen weißen Hintergrund durchgeführt werden.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

	Spektrophotometrische Messwerte	
	Bei einer Wellenlänge von 450 nm	Bei zwei Wellenlängen von 450/620 nm bzw. 450/630 nm
Negativ	OD $< 0,120$	OD $< 0,080$
Positiv	OD $\geq 0,120$	OD $\geq 0,080$

Ein positives Ergebnis beim *H. PYLORI CHEK™* bestätigt das Vorhandensein von *H. pylori*-Antigen in der Probe; ein negatives Ergebnis bedeutet, dass kein Antigen vorhanden ist bzw. die Antigenkonzentration unter der Nachweisgrenze liegt.

Visuelle Auswertung

Die negativen Kontrollen sollten keine oder nur eine schwache Gelbfärbung aufweisen. Die Kavität der *Positiven Kontrolle* muss eine sichtbare gelbe Färbung aufweisen. Wenden Sie sich an den technischen Kundendienst, wenn Sie diese Ergebnisse nicht erzielen. Eine Testprobe gilt als positiv, wenn sie eine sichtbare gelbe Färbung im Vergleich zur Kavität der negativen Kontrolle aufweist. Sie kann eine schwächere oder eine intensivere gelbe Färbung als jene in der Kavität der positiven Kontrolle haben. Eine Testprobe gilt als negativ, wenn die Reaktion keine Färbung oder eine geringere Gelbfärbung als die negative Kontrolle aufweist.

EINSCHRÄNKUNGEN DES *H. PYLORI CHEK*TM TESTS

1. Der *H. PYLORI CHEK*TM Test dient zum Nachweis von *H. pylori*-Antigenen in Stuhlproben. Der Test bestätigt das Vorhandensein von *H. pylori*-Antigenen in der Probe. Diese Information muss vom Arzt unter Berücksichtigung der Patientenanamnese und einer körperlichen Untersuchung des Patienten ausgewertet werden.
2. Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit eines Vorhandenseins von *H. pylori*-Antigenen in der Probe nicht aus, sondern kann bedeuten, dass die Antigenkonzentration unter der Nachweisgrenze des Tests liegt.
3. Falsch-negative Ergebnisse können auftreten, wenn ein Patient in den 14 Tagen vor der Entnahme der Stuhlprobe Antibiotika, Protonenpumpenhemmer (PPI) oder Wismutverbindungen angewendet hat, da diese Medikamente bekanntlich *H. pylori* hemmen. In diesen Fällen sollte 14 Tage nach Behandlungsende eine neue Stuhlprobe entnommen und getestet werden. Positive Ergebnisse von Patienten, die in den 14 Tagen vor der Stuhlprobennahme Antibiotika, PPI oder Wismutverbindungen angewendet haben, gelten als korrekt.
4. Ist die übertragene Probenmenge zu gering oder wird die Probe im *Verdünnungspuffer* nicht ausreichend gemischt und vollständig suspendiert, kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen.
5. Der *H. PYLORI CHEK*TM Test ist qualitativ. Die Farbtintensität darf nicht quantitativ interpretiert werden.
6. Es liegen keine Daten zur Wirkung von Darmspülungen, Bariumeinläufen, Laxativen oder Darmvorbereitungen auf die Leistung des *H. PYLORI CHEK*TM Tests vor. Diese Verfahren können zu einer signifikanten Verdünnung oder dem Vorhandensein von Zusatzstoffen führen, die sich auf die Testleistung auswirken.
7. Es wurden keine Leistungsdaten bei asymptomatischen Populationen bestimmt.

ERWARTUNGSWERTE

Der *H. PYLORI CHEK*TM Test weist *Helicobacter pylori*-Antigenen in menschlichen Stuhlproben nach. Die *H. pylori*-Infektion ist ein weltweites Phänomen mit beobachteten Prävalenzraten bei Erwachsenen von 20 % bis 95 %.¹ Neben dem geografischen Ort wirken sich Faktoren wie Alter, Ethnizität und sozioökonomischer Status auf die Prävalenzrate aus.^{6,7} Man nimmt an, dass *H. pylori* 70 % - 85 % der Magengeschwüre und 90 % - 95 % der Zwölffingerdarmgeschwüre verursacht.⁸ Traditionellerweise wurden mit Therapien zur Eradikation einer *H. pylori*-Infektion Erfolgsraten von 76 % - 94 % erzielt, die Wirksamkeit der Standardtherapien hat jedoch aufgrund der erhöhten Prävalenz von antibiotikaresistenten *H. pylori*-Stämmen abgenommen.⁹ Die Wirksamkeit einer Eradikationstherapie kann durch die Verordnung einer adäquat zugeschnittenen Therapie signifikant verbessert werden.¹⁰

LEISTUNGSDATEN

Die Leistung des *H. PYLORI CHEK*TM Tests wurde an 6 unabhängigen Standorten beurteilt. Es wurden Patienten rekrutiert, die sich einer routinemäßigen Endoskopie unterzogen. Bei der Beurteilung wurde ein Vergleich mit einer kombinierten Referenzmethode (CRM) angestellt, die aus einem Urease-Schnelltest und einer Histologie der Biopsieproben bestand. Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die klinischen Leistungsdaten. Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass der *H. PYLORI CHEK*TM Test bei Analyse mit einem Dual-Wellenlängen-Spektrophotometer eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 96,1% im Vergleich zu CRM-Biopsieergebnissen aufwies. Die Analyse wurde auch durch visuelle Ablesung der Platten durchgeführt. Die visuellen Ergebnisse stimmten in 99% der Fälle mit den spektrophotometrischen Ergebnissen überein.

Alters- und Geschlechtsverteilung

Daten zu Alter und Geschlecht waren für 109 Patienten verfügbar. Die Altersspanne reichte von 19 bis 82 Jahre. Von den 109 getesteten Patienten waren 66% weiblich und 34% männlich. Es wurden keine Unterschiede bei der Testleistung hinsichtlich des Patientenalters oder Geschlechts beobachtet.

Erstdiagnose mit dem *H. PYLORI CHEK™* Test im Vergleich zur kombinierten Referenzmethode (CRM)

N = 109	CRM-positiv	CRM-negativ
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positiv	32	3*
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negativ	0	74
		95%-Konfidenzgrenzen
Sensitivität	100,0%	89,3% - 98,9%
Spezifität	96,1%	89,2% - 98,7%

*Alle drei Proben waren beim ersten *H. pylori CHEK™* Test positiv, aber negativ beim Zweitest mit dem *H. PYLORI CHEK™* Test.

Nach der Therapie

Hinsichtlich der Eradikation (nach der Therapie) wurden 9 Proben von Patienten nach der Therapie getestet. Die Ergebnisse zeigen, dass der *H. PYLORI CHEK™* Test im Vergleich zur kombinierten Referenzmethode eine Sensitivität von 77,8% aufwies.

N = 9	CRM-positiv	CRM-negativ
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positiv	7*	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negativ	2**	0
		95%-Konfidenzgrenzen
Sensitivität	77,8%	45,3% - 93,7%

* Eine Probe lieferte bei der visuellen Ablesung ein positives Ergebnis, war jedoch bei der spektrophotometrischen Auswertung ($OD_{450/620}$ 0,034) negativ.

** Eine Probe war beim ersten Test negativ, aber positiv beim Zweitest mit dem *H. pylori CHEK™* Test.

Studie mit retrospektiven Proben

Es wurde eine ergänzende Studie mit retrospektiven Proben durchgeführt, in welcher der *H. PYLORI CHEK™* Test mit einem von der FDA zugelassenen handelsüblichen ELISA verglichen wurde. Für diese Studie wurden 196 Proben (75 positiv und 121 negativ beim handelsüblichen ELISA) evaluiert. Die Ergebniskorrelation zwischen den Tests betrug 100%.

N = 196	Positiv beim von der FDA zugelassenen handelsüblichen ELISA	Negativ beim von der FDA zugelassenen handelsüblichen ELISA
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positiv	75	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negativ	0	121
		95%-Konfidenzgrenzen
Positive Übereinstimmung in %	100,0%	95,1% - 100,0%
Negative Übereinstimmung in %	100,0%	96,9% - 100,0%

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des *H. PYLORI CHEK*TM Tests wurde anhand von 8 Stuhlproben bestimmt, die zur Identifikationsverhinderung während des Tests kodiert wurden. Die Tests wurden in 2 unabhängigen Labors und intern bei TECHLAB, Inc durchgeführt. Die Proben wurden in Dreifachbestimmung über einen Zeitraum von 5 Tagen zweimal täglich von mehreren Laborkräften an den einzelnen Standorten getestet. Es wurden jeweils 2 verschiedene Kitchargen verwendet. Die Ergebnisse der verschiedenen Standorte waren durchgehend konsistent und ergaben eine Korrelation von 97,5 %.

KREUZREAKTIVITÄT

Der *H. PYLORI CHEK*TM Test wurde auf Kreuzreaktivität mit den folgenden weit verbreiteten Darmorganismen und -viren geprüft. Keiner dieser Organismen bzw. keines dieser Viren zeigte eine Kreuzreaktivität mit dem *H. PYLORI CHEK*TM Test.

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (nicht-toxigen)
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (toxigen)
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Campylobacter helveticus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Campylobacter lari</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Escherichia coli</i> EIEC	

Adenovirus Types 2, 40	Echovirus 9, 22
Humanes Coronavirus	Enterovirus 70
Coxsackievirus B1, B2, B3, B6	Humanes Rotavirus

INKLUSIVITÄTSSTUDIE

Die folgenden Stämme, die Isolate beschriebener *H. pylori*-Populationen enthalten, wurden auf ihre Reaktivität mit dem *H. PYLORI CHEK*TM Test geprüft. Alle untersuchten Stämme ergaben ein positives Ergebnis.

ATCC 700392	JP26
ATCC 43526	ATCC 43504
ATCC 700824	ATCC 43579

STÖRSUBSTANZEN (US-FORMULIERUNGEN)

Die folgenden Substanzen hatten in den angegebenen Konzentrationen keinen Einfluss auf die positiven oder negativen Testergebnisse des *H. PYLORI CHEK*TM Tests:

Bariumsulfat (5 % Gew./Vol.), Benzalkoniumchlorid (1 % Gew./Vol.), Ciprofloxacin (0,25 % Gew./Vol.), Ethanol (1 % Gew./Vol.), Mucin aus dem Schweinemagen (3,5 % Gew./Vol.),

Humanblut (40 % Vol./Vol./Vol./Vol.), Hydrocortison (1 % Gew./Vol.), Imodium® (5 % Vol./Vol.), Kaopectate® (5 % Vol./Vol.), Leukozyten (0,05 % Vol./Vol.), Maalox® Advanced (5 % Vol./Vol.), Mesalazin (10 % Gew./Vol.), Metronidazol (0,25 % Gew./Vol.), MiraLax® (7 % Gew./Vol.), Mineralöl (10 % Gew./Vol.), Mylanta® (4,2 mg/ml), Naproxen-Natrium (5 % Gew./Vol.), Nonoxynol-9 (1 % Gew./Vol.), Nystatin (1 % Gew./Vol.), Palmitinsäure/Stuhlfett (40 % Gew./Vol.), Pepto-Bismo® (5 % Vol./Vol.), Phenylephrin (1 % Gew./Vol.), Prilosec OTC® (5 µg/ml), Sennoside (1 % Gew./Vol.), Simethicon (10 % Gew./Vol.), Stearinsäure/Stuhlfett (40 % Gew./Vol.), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS® (50 µg/ml), Humanurin (5 % Vol./Vol.) und Vancomycin (0,25 % Gew./Vol.).

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die Nachweisgrenze (LOD) für den *H. PYLORI CHEK*™ Test wurde bei 6,70 ng/mL in Stuhlmatrix (0,13 ng/Test) für *Helicobacter pylori*-Antigen mittels Zellysat-Antigen aus dem *H. pylori*-Stamm ATCC 43526 festgelegt. Bei Proben in Cary Blair Medium beträgt die Nachweisgrenze 26,57 ng/mL (0,33 ng/Test). Bei Proben in C&S Medium beträgt die Nachweisgrenze 18,19 ng/mL (0,23 ng/Test).

INTRA-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Intra-Assay-Präzision wurden 8 Stuhlproben mit dem *H. PYLORI CHEK*™ Test untersucht. Die Proben umfassten 2 negative Proben, 2 stark negative Proben, 2 schwach positive Proben und 2 mäßig positive Proben. Jede Probe wurde insgesamt 5 Mal anhand von zwei verschiedenen Kitchargen getestet. Alle positiven Proben lieferten erwartungsgemäß ein positives Ergebnis und alle negativen Proben durchgehend ein negatives Ergebnis.

INTER-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Inter-Assay-Präzision wurden 8 Stuhlproben mit dem *H. PYLORI CHEK*™ Test untersucht. Die Proben umfassten 2 negative Proben, 2 stark negative Proben, 2 schwach positive Proben und 2 mäßig positive Proben. Die Proben wurden über einen Zeitraum von 12 Tagen 2 x täglich von mehreren Laborkräften mit 2 verschiedenen Kitchargen getestet. Die positiven Proben waren in 98,3 % der Fälle erwartungsgemäß positiv und die negativen Proben in 97,8 % der Fälle negativ.

VERGLEICH ZWISCHEN FRISCHEN UND GEFRORENE PROBEN

Die Wirkung einer Langzeitlagerung gefrorener Proben auf die Antigenstabilität wurde beurteilt. Für die Analyse wurden insgesamt 32 Stuhlproben mit dem *H. PYLORI CHEK*™ Test getestet. Die Stuhlproben bestanden aus 2 negativen Stuhlproben, 5 stark negativen Stuhlproben, 10 schwach positiven Stuhlproben und 15 positiven Stuhlproben über den gesamten Testbereich (50 ng/mL – 1200 ng/mL). Die Proben wurden vorbereitet, bei ≤ -10 °C und ≤ -70 °C gelagert und nach 0, 5, 10 und 14 Tagen getestet. Bei keiner der Proben wurde zu den vorgegebenen Zeitpunkten eine Veränderung von positiv zu negativ bzw. negativ zu positiv festgestellt.

PROZONENEFFEKT

Um eine Interferenz hoher *H. pylori*-Antigenkonzentrationen mit einer positiven Reaktion im *H. PYLORI CHEK*™ Test auszuschließen, wurden stark positive Proben vorbereitet, indem ein negatives Stuhlprobenpool mit Antigenkonzentrationen bis zum 10-Fachen der in einer positiven klinischen Probe beobachteten Höchstkonzentration versetzt wurde. Insgesamt wurden 5 verschiedene Verdünnungen von *H. pylori*-Antigen vorbereitet und in Dreifachbestimmung getestet. Die Ergebnisse zeigten, dass es zu keinem Prozoneneffekt kam und hohe Antigenkonzentrationen den Nachweis des Antigens nicht beeinträchtigten.

H. PYLORI CHEK™

UTILISATION PRÉVUE

Le test *H. PYLORI CHEK™* de TECHLAB® est un test immunoenzymatique pour le dépistage qualitatif de l'antigène spécifique à *Helicobacter pylori*. Il est destiné à être utilisé avec des échantillons de selles d'humains pour aider à diagnostiquer l'infection par *H. pylori* et pour démontrer la perte de l'antigène de *H. pylori* après le traitement. Le test peut être utilisé avec des échantillons de selles sans conservateur et des échantillons conservés dans un milieu de transport, provenant de patients susceptibles d'être atteints d'une infection par *H. pylori*. Le test effectué sur des patients dans le but de démontrer la disparition de l'antigène de *H. pylori* doit être effectué au moins 4 semaines après la fin du schéma thérapeutique. Les résultats du test doivent être étudiés par le médecin en association avec les antécédents médicaux et les symptômes du patient.

Attention : conformément à la loi fédérale des États-Unis, ce dispositif peut être vendu uniquement par un médecin ou sur ordonnance.

EXPLICATION

On estime que la moitié de la population mondiale est infectée par *H. pylori*¹. La plupart des personnes infectées sont asymptomatiques et n'ont pas besoin de suivre de traitement (individus colonisés). Un petit nombre d'individus infectés développent une gastrite et quelques-uns des ulcères ou un cancer gastrique². Le diagnostic d'une infection par *H. pylori* se fait par biopsie sous endoscopie ; le tissu prélevé est alors examiné par culture, histologie ou test rapide à l'uréase afin de détecter la présence de *H. pylori*. Selon les directives actuelles, l'endoscopie est toujours préconisée pour le diagnostic d'une infection par *H. pylori* chez les patients présentant des symptômes alarmants (par ex., saignements GI, perte de poids soudaine, vomissements excessifs, anémie) ou chez les patients de plus de 55 ans. Cependant, chez les patients plus jeunes qui ne présentent pas de symptômes alarmants, des tests non invasifs comme le test respiratoire à l'urée ou la recherche d'antigènes dans les selles sont préconisés pour le diagnostic d'une infection par *H. pylori*^{3,4}. À la fin du schéma thérapeutique par antibiotiques et un inhibiteur de la pompe à protons (IPP), il est recommandé de tester les patients afin de vérifier la disparition de l'infection par *H. pylori*⁵. Des dépistages d'anticorps sériques sont aussi disponibles, mais ils ne permettent pas de faire la distinction entre les infections anciennes et l'infection récente. En détectant les antigènes présents dans les échantillons de selles, le test *H. PYLORI CHEK™* permet le dépistage non invasif de *H. pylori* lorsque l'endoscopie n'est pas nécessaire.

PRINCIPE DU TEST

Le test *H. PYLORI CHEK™* utilise des anticorps spécifiques à l'antigène de *H. pylori*. La *microplaque du kit* contient des anticorps de capture immobilisés contre l'antigène de *H. pylori*. Le *Conjugué* est composé d'anticorps spécifiques à l'antigène de *H. pylori* conjugués à de la peroxydase de raifort. Lors de l'analyse, une quantité aliquote de selles diluées est introduite dans la microplaque contenant le *Conjugué*. Si l'antigène est présent dans l'échantillon, il se liera au *Conjugué* et aux anticorps de capture immobilisés lors de la phase d'incubation. Toute substance non liée est éliminée lors du processus de lavage. L'adjonction du *Substrat* entraîne une modification de la coloration suite à la formation d'un complexe enzyme-anticorps-antigène en présence d'antigène.

MATÉRIEL FOURNI

MA	PLT
----	-----

Microplaque – 12 bandes, chacune présentant 8 micropuits enduits d'anticorps contre l'antigène de *H. pylori* (sous emballage contenant un produit dessiccant)

CONJ	ENZ
------	-----

Conjugué (7 ml) – Anticorps contre l'antigène de *H. pylori* conjugués à de la peroxydase de raifort dans une solution tamponnée et protéinée contenant du ProClin® 300 à 0,05 %


Mention d'avertissement : Avertissement – ProClin® 300 à 0,05 % 

H317 : Peut provoquer une allergie cutanée

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

DIL SPE

Diluant (40 ml) – Solution tamponnée et protéinée. Le *Diluant* est également utilisé comme solution de contrôle négatif (voir PROCÉDURE DE TEST) contenant du ProClin® 300 à 0,05 %.


Mention d'avertissement : Avertissement – ProClin® 300 à 0,05 % 

H317 : Peut provoquer une allergie cutanée

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

CONTROL +

Contrôle positif (3,5 ml) – Antigène de *H. pylori* dans une solution tamponnée et protéinée contenant du ProClin® 300 à 0,05 %


Mention d'avertissement : Avertissement – ProClin® 300 à 0,05 % 

H317 : Peut provoquer une allergie cutanée

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

H₂SO₄ 0.6N

Solution d'arrêt (7 ml) – 0,6 N d'acide sulfurique. ATTENTION : éviter tout contact avec la peau ou les yeux ; en cas de contact, rincer immédiatement avec de l'eau

Mention d'avertissement : Danger 

H314 : Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires

P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353,

P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501

SUBS REAG

Substrat (14 ml) – Solution contenant du tétraméthylbenzidine et du peroxyde

WASHBUF 20X


Tampon de lavage concentré (50 ml) – Concentré à 20X contenant un tampon salin phosphaté, un détergent et 0,2 % de thimérosal

Mention d'avertissement : Avertissement

H373 : Peut endommager les organes en cas d'exposition prolongée ou répétée 

H411 : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P260, P273, P314, P391, P501

contient du mercure 



ACCESSOIRES

100 pipettes de transfert en plastique jetables

1 étiquette de la solution de lavage

2 films adhésifs en plastique

50 écouvillons en bois

MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENTS NÉCESSAIRES, MAIS NON FOURNIS

Pulvérisateur pour le réactif de lavage

Minuterie

Papier absorbant

Agitateur vortex

Réceptacle à déchets

Gants jetables

950 ml d'eau distillée pour diluer le réactif de lavage

Lecteur de plaque ELISA capable d'effectuer une lecture à 450 nm, 450/620 nm ou 450/630 nm

Petits tubes pour la dilution des échantillons de selles (par exemple, des tubes

microcentrifuges coniques en plastique de 2 ml)

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date de péremption du kit est indiquée sur l'emballage. La date d'expiration de chaque composant est indiquée sur chaque étiquette. Le kit doit être stocké à une température comprise entre 2 °C et 8 °C et remis au réfrigérateur aussitôt que possible après utilisation.

PRÉCAUTIONS

1. Rx uniquement – Uniquement sur ordonnance
2. Pour une utilisation diagnostique *in vitro*. Uniquement à usage professionnel.
3. Contrôler tous les éléments du kit afin de vérifier l'absence de fuites. Examiner le kit dès réception afin de vérifier que les éléments ne sont ni glacés ni chauds au toucher suite à des conditions de transports inadéquates.
4. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés. Ne pas utiliser le kit si sa date de péremption est dépassée.

5. Placer tous les composants à température ambiante avant utilisation afin de garantir la bonne réactivité du kit. Éliminer les réactifs du coussin en mousse afin de réduire le temps nécessaire au réchauffement à température ambiante.
6. Ne pas congeler les réactifs. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2 °C et 8 °C.
7. Les capsules et les embouts sont classés par couleur. Il convient de NE PAS les mélanger ni les échanger !
8. Lors des manipulations, éviter d'érafler le fond des micropuits, toute dégradation pouvant entraîner un relevé d'absorbance élevée.
9. Les micropuits non utilisés doivent être placés dans l'emballage refermable contenant un agent de dessiccation pour les protéger de l'humidité.
10. Verser les réactifs en tenant les flacons à la verticale de façon à instiller une goutte de taille adéquate et des volumes corrects.
11. La contamination microbienne des réactifs peut réduire l'exactitude de l'analyse. Éviter la contamination microbienne des réactifs en utilisant des pipettes stériles jetables pour extraire les aliquots des flacons à réactifs.
12. Tous les réactifs, excepté le *Tampon de lavage concentré* sont fournis dans des flacons prêts à l'emploi. Les réactifs peuvent être dispensés directement à l'aide des compte-gouttes ; ils peuvent également être transvasés puis dispensés à l'aide de pipettes multicanaux. Après transvasement, tout surplus de réactif devra être éliminé. Ne pas réintroduire dans le flacon original. Le *Substrat* doit être conservé dans son récipient opaque d'origine et extrait de ce récipient suivant les besoins. Après extraction, le *Substrat* inutilisé ne doit pas être réintroduit dans son récipient d'origine. Le *Substrat* est photosensible et ne doit pas être directement exposé à la lumière solaire ou à une source de rayons UV.
13. Le lavage doit être réalisé suivant les consignes indiquées afin d'éviter toute réaction hors essai.
14. Le test a été optimisé dans le sens de la sensibilité et de la spécificité. Procéder conformément à la procédure spécifiée. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test.
15. Les échantillons de selles peuvent contenir des agents potentiellement infectieux et doivent être manipulés selon le « Niveau de biosécurité 2 », comme le recommande le manuel du CDC/NIH, « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ».
16. Manipuler les échantillons et micropuits utilisés comme tout facteur potentiel de transmission d'agents infectieux. S'équiper de gants jetables pendant le test.
17. Les réactifs du *Conjugué*, *Diluant* et *Tampon de lavage* contiennent 0,05 % de ProClin® 300 comme conservateur. Même si la concentration est faible, le ProClin® 300 est connu pour sa nocivité (risque de sensibilisation de la peau). En cas de sensibilisation/irritation de la peau ou d'éruption cutanée, consulter un médecin. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
18. Le *Tampon de lavage concentré 20X* contient du thimérosal à 0,2 % comme conservateur. Une fois diluée à une concentration normale d'utilisation, cette solution est classée comme non dangereuse. La *Solution d'arrêt* contient 0,6 N d'acide sulfurique. En cas de contact, rincer immédiatement à l'eau. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
19. Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets. Ne pas les jeter avec les déchets ménagers mais avec les matières dangereuses.

PRÉPARATIONS PRÉLIMINAIRES

1. **Tous les réactifs doivent se trouver à température ambiante avant application dans l'essai.**

2. **Préparer la Solution de lavage 1X.** Le *Tampon de lavage concentré* est fourni sous forme de concentré à 20X (un précipité peut être observé). Verser 50 ml de concentré dans 950 ml d'eau distillée pour obtenir un volume total de 1 litre. La *Solution de lavage* à 1X peut être entreposée à une température comprise entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption du kit.
3. **Préparation de la bande d'essai.** Chaque bande contient 8 micropuits enduits d'anticorps spécifiques à l'antigène de *H. pylori*. Chaque échantillon ou solution de contrôle nécessite l'un de ces micropuits enduits. Déterminer le nombre de micropuits à utiliser. Éviter tout contact avec la base des puits. Les puits inutilisés doivent être remis dans l'emballage et ce dernier doit être fermé hermétiquement avec l'agent de dessiccation.

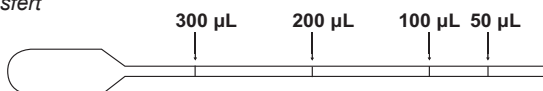
PRÉLÈVEMENT, MANIPULATION ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES

Type d'échantillon acceptable	Ne pas utiliser
Échantillons de selles frais	Échantillons de selles fixés au formol (p. ex. formol à base d'acétate de sodium, formol à 10 %)
Échantillons de selles congelés	Échantillons de selles fixés à l'alcool (p. ex. alcool de polyvinyle)
Échantillons dans un milieu de transport (Cary Blair, C&S)	Échantillons de selles concentrés

Conditions de stockage	Durée de conservation recommandée
Échantillons frais sans conservateur et échantillons conservés dans un milieu de transport Cary Blair ou C&S entre 2 °C et 8 °C	96 heures
Échantillons frais sans conservateur et échantillons conservés dans un milieu de transport Cary Blair ou C&S entre 20 °C et 25 °C	96 heures
Échantillons congelés sans conservateur à ≤ -10 °C	14 jours

1. Respecter les procédures standard internes utilisées sur place pour le prélèvement et la manipulation des échantillons de selles. Prélever les échantillons de selles dans des conteneurs propres et étanches.
2. Les échantillons de selles congelés peuvent être décongelés au maximum 2 fois. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler à température ambiante.
3. Préparer et étiqueter un tube à essai pour chaque échantillon si nécessaire.
4. **Dans le cas d'échantillons non conditionnés, ajouter 200 µL de Diluant dans chaque tube. Dans le cas d'échantillons conservés dans le milieu de transport Cary Blair ou C&S, ajouter 100 µL de Diluant dans chaque tube.**
5. Se munir d'une pipette de transfert en plastique jetable (fournie dans le kit) pour chaque échantillon.

Pipette de transfert



6. **Mélanger complètement tous les échantillons indépendamment de leur consistance. Les échantillons doivent tous être parfaitement mis en suspension avant échantillonnage.**
 - Dans le cas d'**échantillons frais ou congelés/décongelés**, avec la pipette de transfert jetable en plastique, ajouter 50 µl (premier repère gradué) d'échantillon de selles dans le tube contenant le *Diluant*, puis bien mélanger. Si l'échantillon ne peut pas être transféré à l'aide d'une pipette, prélever environ 0,05 g de matière fécale à l'aide d'un écouvillon. Cette quantité équivaut plus ou moins à la taille d'un petit pois (environ 3 mm de diamètre).
 - Dans le cas d'échantillons conservés dans le **milieu de transport Cary Blair ou C&S**, ajouter 100 µL (deuxième repère gradué) d'échantillon de selles dans le tube contenant le *Diluant*, puis bien mélanger.
7. Fermer chaque tube d'échantillon dilué et bien mélanger. Pour obtenir un mélange approprié, procéder par mixage ou agitation du tube plusieurs fois. Ne pas laisser l'échantillon dans le *Diluant* pendant plus de 2 heures.
8. Avec un équipement de lavage semi-automatique ou automatique, les échantillons doivent être centrifugés (5 000 x g pendant 10 minutes) pour retirer les particules du liquide surnageant avant de les transférer dans les micropuits.

PROCÉDURE DE TEST

1. Placer tous les réactifs et le nombre de bandelettes nécessaires à température ambiante avant de les utiliser.
2. **Ajouter 1 goutte (50 µL) de Conjugué (bouchon rouge) dans chaque micropuits.** Mélanger doucement le *Conjugué* dans la bouteille en la retournant plusieurs fois. Veiller à maintenir chaque flacon à la verticale lors de l'ajout des gouttes. Utiliser 1 puits pour chaque échantillon de selles, 1 puits pour le *Contrôle positif* et 1 puits pour le contrôle négatif. Les marques d'identification peuvent être écrites directement sur le côté du micropuits.
3. **À l'aide d'une nouvelle pipette de transfert, transférer 100 µL d'échantillon dilué (ou du liquide surnageant de l'échantillon dilué centrifugé en cas d'utilisation d'un équipement de lavage automatique) dans le micropuits.** Ajouter 1 goutte (50 µL) du *Contrôle positif* (bouchon noir) dans le puits de contrôle positif et 100 µL du *Diluant* (contrôle négatif) dans le puits de contrôle négatif. Tapoter les côtés de la plaque pour mélanger.
4. Couper le film adhésif plastique à la taille nécessaire pour couvrir les puits. **Couvrir les puits et les laisser incuber à 37 °C ± 2 °C pendant 50 minutes.**
5. Agiter le contenu hors des micropuits dans un réceptacle à déchets.
6. **Nettoyer les micropuits en projetant énergiquement la Solution de lavage 1X à l'aide d'un pulvérisateur à jet continu** vers le fond de chaque micropuits. Remplir les puits, puis agiter la *Solution de lavage* hors du puits dans un réceptacle à déchets. Rabattre la plaque à l'envers sur une serviette en papier sèche.
Remarque : avec un équipement de lavage semi-automatique ou automatique, ajouter 350 µl de Solution de lavage 1X dans chaque micropuits. Laver 5 fois.
7. Répéter l'étape 6 quatre fois supplémentaires avec une serviette en papier sèche à chaque fois. Si des particules sont visibles dans les micropuits, continuer le lavage jusqu'à disparition complète de ces dernières.
8. Après lavage, éliminer complètement tout liquide résiduel pouvant rester dans les micropuits en rabattant énergiquement la plaque sur une serviette en papier sèche de façon à effacer toute trace de liquide. Éliminer les serviettes en papier et les récipients ayant contenu des échantillons de façon appropriée.
9. **Ajouter 2 gouttes (100 µl) de Substrat (bouchon bleu) dans chaque micropuits.** Tapoter légèrement les micropuits pour mélanger le *Substrat*. Laisser incuber les micropuits à température ambiante pendant 10 minutes. Tapoter doucement les puits au bout de 5 minutes.
10. **Verser 1 goutte (50 µl) de Solution d'arrêt (bouchon jaune) dans chaque micropuits.** Tapoter légèrement les micropuits et attendre 2 minutes avant de procéder au relevé. Lors

de l'adjonction de *Solution d'arrêt*, la couleur bleue vire au jaune. Cette modification peut être quantifiée en mesurant la densité optique à 450 nm sur un lecteur de microplaques ELISA. Le zéro d'absorbance de l'instrument doit être ajusté à l'air. Pour les lecteurs à double longueur d'onde, ajuster le zéro à l'air à 620 ou 630 nm et effectuer la lecture à 450 nm. Essuyer le dessous de chaque micropuits avant de mesurer la densité optique. Si aucun lecteur ELISA n'est disponible, le test peut être lu à l'œil nu avec un bon éclairage sur fond blanc. Effectuer la lecture dans les dix minutes qui suivent l'adjonction de *Solution d'arrêt*.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

- Les contrôles positifs et négatifs doivent être effectués sur chaque série d'analyses d'échantillons. Le contrôle positif permet de démontrer le bon fonctionnement du test de dépistage de l'antigène de *H. pylori* dans des échantillons de selles, tandis que le contrôle négatif démontre que le test réagit de façon spécifique.
- Les contrôles positifs et négatifs doivent figurer dans les plages respectives (ci-dessous), sinon les résultats du test sont invalides. Si des résultats différents sont observés, contacter nos Services techniques.
 - Le contrôle positif doit être de couleur jaune.** Lue sur un spectrophotomètre, la DO à 450 nm ou avec une onde double à 450/620 nm ou 450/630 nm doit être $\geq 0,500$. Si un micropuits donne une lecture positive sans présenter une couleur parfaitement perceptible, le repositionner, essuyer le dessous du micropuits et effectuer une nouvelle lecture.
 - Le contrôle négatif doit être visuellement clair.** Lue sur un spectrophotomètre, la DO à 450 nm doit être $< 0,120$. Lue à 450/620 nm ou 450/630 nm, l'absorbance doit être $< 0,080$. Si ce n'est pas le cas, le test ne peut pas être considéré comme valide et doit être répété en veillant à effectuer correctement la procédure de lavage.
- Les relevés visuels doivent être pris dans de bonnes conditions d'éclairage sur fond blanc.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

	Mesure spectrophotométrique	
	Longueur d'onde simple à 450 nm	Longueur d'onde double à 450/620 nm ou 450/630 nm
Négatif	DO $< 0,120$	DO $< 0,080$
Positif	DO $\geq 0,120$	DO $\geq 0,080$

Un résultat positif au test *H. PYLORI CHEK™* confirme la présence de l'antigène de *H. pylori* dans l'échantillon, alors qu'un résultat négatif indique l'absence de l'antigène, ou des taux d'antigène insuffisants pour être détectés.

Interprétation visuelle

Le micropuits de contrôle négatif doit être incolore ou de couleur jaune clair. Le micropuits de *Contrôle positif* doit présenter une couleur bien jaune. Si des résultats différents sont observés, contacter nos Services techniques. Un échantillon d'essai est considéré comme positif s'il est de couleur bien jaune par rapport au micropuits de contrôle négatif. Il peut être plus ou moins jaune que la couleur observée dans le micropuits de contrôle positif. Un échantillon d'essai est considéré comme négatif si la réaction est incolore ou moins jaune que le micropuits de contrôle négatif.

LIMITES DU TEST *H. PYLORI CHEK™*

- Le test *H. PYLORI CHEK™* est utilisé pour détecter l'antigène de *H. pylori* dans des échantillons de selles. Il confirme la présence de l'antigène de *H. pylori* dans

l'échantillon et ces informations doivent être examinées par le médecin de concert avec les antécédents médicaux et l'examen physique du patient.

2. Un résultat de test négatif n'exclut pas la possibilité que l'antigène de *H. pylori* soit présent dans l'échantillon, ce qui peut se produire si le niveau d'antigène est inférieur à la limite de détection du test.
3. Des résultats faux négatifs peuvent être obtenus si le patient a pris des antibiotiques, des inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) ou des composés de bismuth au cours des 14 jours précédant le prélèvement de l'échantillon de selles, car ces médicaments inhibent *H. pylori*. Dans ces cas, il convient de prélever et de tester un nouvel échantillon de selles 14 jours après la fin du traitement. Des résultats positifs obtenus chez des patients ayant pris des antibiotiques, des IPP ou des composés de bismuth au cours des 14 jours précédant le prélèvement de l'échantillon de selle sont malgré cela considérés comme exacts.
4. Si le fragment transféré est trop petit, si le mélange est défectueux ou si l'échantillon n'est pas complètement mis en suspension dans le *Diluant*, les résultats obtenus peuvent se révéler faussement négatifs.
5. Le test *H. PYLORI CHEK™* est un test qualitatif. L'intensité de la couleur ne doit pas être interprétée en termes quantitatifs.
6. Aucune donnée n'est disponible sur les effets des lavages coliques, des lavements barytés, des laxatifs ou des préparations de selles sur la performance du test *H. PYLORI CHEK™*. Ces procédures peuvent provoquer une dilution extensive ou la présence d'adjuvants susceptibles d'affecter la performance du test.
7. Les caractéristiques de performance n'ont pas été établies chez les populations asymptomatiques.

VALEURS MOYENNES

Le test *H. PYLORI CHEK™* détecte la présence de l'antigène de *Helicobacter pylori* dans des échantillons de selles humaines. L'infection par *H. pylori* est un phénomène mondial dont les taux de prévalence signalés chez les adultes vont de 20 à 95 %¹. Outre le lieu géographique, des facteurs tels que l'âge, l'appartenance ethnique et le statut socio-économique influent aussi sur le taux de prévalence^{6,7}. *H. pylori* est présumé être la cause de 70 à 85 % des ulcères gastriques et de 90 à 95 % des ulcères duodénaux⁸. Par le passé, les schémas thérapeutiques pour éliminer l'injection par *H. pylori* signalaient des taux de réussite de 76 à 94 %, mais l'efficacité des schémas thérapeutiques standards a diminué à cause de facteurs tels que l'augmentation de la prévalence de souches de *H. pylori* résistantes aux antibiotiques⁹. L'efficacité d'un traitement visant à éradiquer l'agent infectieux peut sensiblement augmenter avec la prescription d'un traitement personnalisé¹⁰.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

L'efficacité du test *H. PYLORI CHEK™* a été évaluée sur 6 sites indépendants. Des patients se soumettant à une endoscopie dans le cadre des soins de routine ont été recrutés. Une comparaison avec la méthode de référence composite (MRC) a été réalisée lors de l'évaluation ; elle consistait en un test rapide à l'uréase et un examen histologique des échantillons de la biopsie. Le tableau suivant récapitule les données de performance clinique. Les résultats de l'étude révèlent que, sur un spectrophotomètre à longueur d'onde double, le test *H. PYLORI CHEK™* a présenté une sensibilité de 100 % et une spécificité de 96,1 % avec les résultats de la biopsie de la MRC. Les tests ont également été effectués par lecture visuelle des plaques. Dans 99 % des cas, les résultats visuels étaient les mêmes que ceux de la spectrophotométrie à longueur d'onde double.

Répartition par âge et par sexe

Des informations relatives au sexe et à l'âge étaient disponibles pour 109 patients. Les patients étaient âgés de 19 à 82 ans. Sur les 109 patients testés, 66 % étaient des femmes et 34 % des hommes. Aucune différence n'a été constatée au niveau des performances du test en fonction de l'âge ou du sexe des patients.

Diagnostic initial du test *H. PYLORI CHEK™* par rapport à la méthode de référence composite (MRC)

N = 109	Positifs MRC	Négatifs MRC
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positif	32	3*
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Négatif	0	74

		Indice de confiance de 95 %
Sensibilité	100,0 %	89,3 % - 98,9 %
Spécificité	96,1 %	89,2 % - 98,7 %

*Les trois échantillons initialement testés positifs au test *H. PYLORI CHEK™* ont donné un résultat négatif lors d'un nouveau test *H. PYLORI CHEK™*.

Après le traitement

Pour vérifier l'éradication (après le traitement), les échantillons de 9 patients ont été testés après le traitement. Les résultats montrent que le test *H. PYLORI CHEK™* présentait une sensibilité de 77,8 % avec la méthode de référence composite.

N = 9	Positifs MRC	Négatifs MRC
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positif	7*	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Négatif	2**	0

		Indice de confiance de 95 %
Sensibilité	77,8 %	45,3 % - 93,7 %

* Un échantillon a été testé positif par lecture visuelle mais négatif par interprétation spectrophotométrique (DO_{450,620} 0,034).

** Un échantillon initialement testé négatif a donné un résultat positif lors d'un nouveau test *H. PYLORI CHEK™*.

Étude rétrospective d'échantillons

Une autre étude rétrospective d'échantillons a été effectuée pour comparer le test *H. PYLORI CHEK™* à un test ELISA approuvé par la FDA et disponible dans le commerce. Pour cette étude, 196 échantillons (75 positifs et 121 négatifs selon le test ELISA disponible dans le commerce) ont été évalués. La corrélation entre les résultats des différents tests était de 100 %.

N = 196	Test ELISA positif disponible dans le commerce et approuvé par la FDA	Test ELISA négatif disponible dans le commerce et approuvé par la FDA
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positif	75	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Négatif	0	121

		Indice de confiance de 95 %
Pourcentage de concordance positive	100,0 %	95,1 % - 100,0 %
Pourcentage de concordance négative	100,0 %	96,9 % - 100,0 %

REPRODUCTIBILITÉ

La reproductibilité du test *H. PYLORI CHEK™* a été déterminée à partir de 8 échantillons de selles codés pour éviter leur identification pendant le test. Le test a été réalisé dans 2 laboratoires indépendants et sur le site de TECHLAB, Inc. Les échantillons ont été testés trois fois, 2 fois par jour pendant 5 jours par plusieurs techniciens travaillant sur chaque site avec 2 lots de kits différents. Ils étaient cohérents entre les différents sites et affichaient une corrélation de 97,5 %.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

La réactivité croisée du test *H. PYLORI CHEK™* a été évaluée avec les organismes et les virus ci-dessous courants dans les intestins. Aucun de ces organismes ou virus n'a influé sur la performance du test *H. PYLORI CHEK™*.

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (non toxigène)
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (toxigène)
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Campylobacter helveticus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Campylobacter lari</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan)
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Escherichia coli</i> EIEC	

Adénovirus types 2, 40	Échovirus 9, 22
Coronavirus humain	Entérovirus 70
Coxsackievirus B1, B2, B3, B6	Rotavirus humain

ÉTUDE D'INCLUSIVITÉ

Les souches suivantes, qui incluent des isolats représentant les populations décrites de *H. pylori* ont été testées au regard de leur réactivité avec le test *H. PYLORI CHEK™*. Toutes les souches testées ont donné un résultat positif.

ATCC 700392	JP26
ATCC 43526	ATCC 43504
ATCC 700824	ATCC 43579

SUBSTANCES INTERFÉRENTES (FORMULES AMÉRICAINES)

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat positif ou négatif des tests *H. PYLORI CHEK™* aux concentrations indiquées ci-après :

Sulfate de baryum (5 % p/v), chlorure de benzalkonium (1 % v/v), ciprofloxacine (0,25 % p/v), éthanol (1 % p/v), mucine gastrique de porc (3,5 % p/v), sang humain (40 % v/v), hydrocortisone (1 % p/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), leucocytes (0,05 % v/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), méسالazine (10 % p/v), métronidazole (0,25 % p/v), MiraLax® (7 % p/v), huile minérale (10 % p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), sodium de naproxène (5 % p/v), nonoxnyl-9 (1 % p/v), nystatine (1 % p/v), acide palmitique/grasses fécales (40 % p/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), phényléphrine (1 % p/v), Prilosec OTC® (5 µg/ml), sennosides (1 % p/v), siméthicone (10 % p/v), acide stéarique/grasses fécales (40 % p/v), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS® (50 µg/ml), urine humaine (5 % v/v) et vancomycine (0,25 % p/v).

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

La limite de détection (LD) du test *H. PYLORI CHEK™* a été établie à 6,70 ng/ml dans la matrice de selles (0,13 ng/test) pour l'antigène de *Helicobacter pylori* en utilisant un antigène de lysat cellulaire préparé à partir de la souche ATCC 43526 de *H. pylori*. Pour les échantillons dans un milieu Cary Blair, la LD a été établie à 26,57 ng/ml (0,33 ng/test). Pour les échantillons dans un milieu C&S, la LD a été établie à 18,19 ng/ml (0,23 ng/test).

PRÉCISION – INTRA-ANALYSE

Pour la détermination des performances intra-analyse, 8 échantillons de selles ont été analysés avec le test *H. PYLORI CHEK™*. Les échantillons incluait 2 échantillons négatifs, 2 échantillons hautement négatifs, 2 échantillons faiblement positifs et 2 échantillons modérément positifs. Chaque échantillon a été analysé cinq fois au total avec deux lots de kits différents. Les échantillons positifs ont obtenu les résultats attendus et les échantillons négatifs se sont systématiquement révélés négatifs.

PRÉCISION – INTER-ANALYSE

Pour la détermination des performances intra-analyse, 8 échantillons de selles ont été analysés avec le test *H. PYLORI CHEK™*. Les échantillons incluait 2 échantillons négatifs, 2 échantillons hautement négatifs, 2 échantillons faiblement positifs et 2 échantillons modérément positifs. Les échantillons ont été testés 2 fois par jour pendant 12 jours par plusieurs techniciens à l'aide de 2 lots de kits différents. Les échantillons testés étaient conformes aux attentes dans 98,3 % des cas pour les échantillons positifs et dans 97,8 % des cas pour les échantillons négatifs.

ÉCHANTILLONS FRAIS OU CONGELÉS

Concernant la stabilité de l'antigène, les effets à long terme de la congélation sur les échantillons ont été évalués. Pour l'analyse, 32 échantillons de selles ont été analysés avec le test *H. PYLORI CHEK™*. Les échantillons de selles se composaient de 2 échantillons de selles négatifs, 5 échantillons de selles hautement négatifs, 10 échantillons de selles faiblement positifs et 15 échantillons de selles positifs couvrant la plage du test (50 ng/ml - 1 200 ng/ml). Les échantillons ont été préparés et conservés à une température ≤ -10 °C et ≤ -70 °C puis testés à 0, 5, 10 et 14 jours. Aucune conversion d'échantillons positifs en négatifs ou d'échantillons négatifs en positifs n'a été observée sur les échantillons aux périodes indiquées.

PROZONE

Pour garantir l'absence d'interférence entre une concentration élevée d'antigène de *H. pylori* et une réaction positive du test *H. PYLORI CHEK™*, des échantillons hautement positifs ont été préparés en introduisant un mélange de selles négatif à des concentrations 10 fois supérieures à la concentration la plus élevée d'antigène observée dans un échantillon clinique positif. Au total, 5 dilutions différentes d'antigène de *H. pylori* ont été préparées et testées en triple. Les résultats ont démontré l'absence d'effet prozone général mais aussi le fait que les niveaux élevés d'antigène n'affectaient pas la détection de l'antigène.

H. PYLORI CHEK™

USO PREVISTO

Il test TECHLAB® *H. PYLORI CHEK*™ è un dosaggio immunoenzimatico per la determinazione qualitativa di uno specifico antigene di *Helicobacter pylori*. È concepito per l'uso con campioni fecali umani quale ausilio nella diagnosi dell'infezione da *H. pylori* e per dimostrare la scomparsa dell'antigene di *H. pylori* dopo il trattamento. Il test può essere utilizzato con campioni fecali non conservati e campioni fecali conservati in terreni di trasporto, ottenuti da pazienti con sospetta infezione da *H. pylori*. Il test per dimostrare la scomparsa dell'antigene di *H. pylori* deve essere eseguito almeno 4 settimane dopo aver completato il regime di trattamento. I risultati del test devono essere valutati dal medico insieme all'anamnesi e ai sintomi del paziente.

Attenzione: la legge federale USA limita la vendita di questo dispositivo ai soli medici o dietro presentazione di richiesta medica.

SPIEGAZIONE

Si stima che metà della popolazione globale sia infettata da *H. pylori*.¹ La maggior parte dei soggetti infetti rimane asintomatica e non richiede trattamento (individui colonizzati). Una minoranza di individui infetti sviluppa gastrite, e una frazione di essi sviluppa ulteriormente ulcere gastriche o carcinoma gastrico.² La diagnosi dell'infezione da *H. pylori* è endoscopica con biopsia: il tessuto sottoposto a biopsia viene testato per la presenza di *H. pylori* tramite coltura, istologia o test rapido dell'ureasi. Secondo le attuali linee guida, l'endoscopia è ancora raccomandata per la diagnosi dell'infezione da *H. pylori* nei pazienti con sintomi allarmanti (ad esempio sanguinamento GI, improvvisa perdita di peso, vomito eccessivo, anemia) o nei pazienti di età superiore ai 55 anni. Nei pazienti più giovani che non presentano sintomi allarmanti, invece, per la diagnosi dell'infezione da *H. pylori* si raccomandano test non invasivi come il test del respiro all'urea (UBT, Urea Breath Test) o dell'antigene fecale.^{3,4} Dopo il completamento di un regime di trattamento con antibiotici e un inibitore di pompa protonica (PPI), si raccomanda di sottoporre i pazienti a un ulteriore test per verificare l'eradicazione dell'infezione da *H. pylori*.⁵ Sono disponibili anche test anticorpali sierici, ma questi non sono in grado di distinguere tra infezione pregressa e in corso. Identificando l'antigene presente nei campioni fecali, il test *H. PYLORI CHEK*™ consente il rilevamento non invasivo di *H. pylori* quando non è richiesta l'endoscopia.

PRINCIPI DEL TEST

Il test *H. PYLORI CHEK*™ utilizza anticorpi specifici per l'antigene di *H. pylori*. La *piastra di microtitolazione* inclusa nel kit contiene anticorpo immobilizzato per l'antigene dell'*H. pylori*. Il *coniugato* è costituito da anticorpi diretti per un antigene specifico di *H. pylori* coniugato a perossidasi di rafano. Nel test, un'aliquota del campione fecale diluito viene trasferita nel pozzetto di microtitolazione contenente il *coniugato*. L'antigene nel campione, se presente, si lega al *coniugato* e all'anticorpo di cattura immobilizzato durante la fase di incubazione. Il materiale non legato viene eliminato durante le fasi di lavaggio. Dopo l'aggiunta di un *substrato*, i complessi enzima-anticorpo-antigene che si sono formati in presenza dell'antigene determinano una reazione cromogena.

MATERIALI FORNITI

MA	PLT
----	-----

Piastra di microtitolazione: 12 strisce da 8 pozzetti ciascuna adsorbite con anticorpi diretti contro l'antigene di *H. pylori* (conservate con essiccante)

CONJ	ENZ
------	-----

Coniugato (7 mL): anticorpo contro l'antigene di *H. pylori* associato a perossidasi di rafano in una soluzione proteica tamponata contenente ProClin® 300 allo 0,05%

Parola d'avviso: Avvertenza: ProClin® 300 allo 0,05%

H317: Può causare una reazione allergica sulla pelle

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



DIL SPE

Diluyente (40 mL): soluzione proteica tamponata. Il *diluyente* viene usato anche come soluzione di controllo negativo (vedere PROCEDURA DI ANALISI) contenente ProClin® 300 allo 0,05%.

Parola d'avviso: Avvertenza: ProClin® 300 allo 0,05%

H317: Può causare una reazione allergica sulla pelle

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



CONTROL +

Controllo positivo (3,5 mL): antigene di *H. pylori* in soluzione proteica tamponata contenente ProClin® 300 allo 0,05%

Parola d'avviso: Avvertenza: ProClin® 300 allo 0,05%

H317: Può causare una reazione allergica sulla pelle

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

H₂SO₄ 0,6N

Soluzione di arresto (7 mL): 0,6 N acido solforico. ATTENZIONE:

evitare il contatto con la pelle o gli occhi; in caso di contatto sciacquare immediatamente con acqua corrente

Parola d'avviso: Pericolo

H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari

P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353,

P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501



SUBS REAG

Substrato (14 mL): soluzione contenente tetrametilbenzidina e perossido

WASHBUF 20X

Soluzione di lavaggio concentrata e tamponata (50 mL):

concentrato 20X contenente soluzione salina tamponata con fosfato, detergente e 0,2% di thimerosal

Parola d'avviso: Avvertenza

H373: Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta

H411: Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P260, P273, P314, P391, P501

contiene mercurio



ACCESSORI

100 Pipette di trasferimento in plastica monouso

1 etichetta per soluzione di lavaggio

2 fogli adesivi in plastica

50 stick applicatori in legno

MATERIALI E APPARECCHIATURE RICHIESTI MA NON FORNITI

Spruzzetta per reagente di lavaggio

Vorticolatore

Timer

Contenitore per rifiuti

Carta assorbente

Guanti monouso

950 mL di acqua distillata per la diluizione del reagente di lavaggio

Lettore di piastre ELISA in grado di leggere a 450 nm, 450/620 nm o 450/630 nm

Provette piccole per la diluizione di campioni fecali (ad esempio provette per microcentrifuga coniche in plastica da 2 mL)

VITA UTILE E CONSERVAZIONE A MAGAZZINO

La data di scadenza di questo kit è stampata sull'etichetta della scatola. Le date di scadenza di ciascun componente sono indicate sulle rispettive etichette. Il kit deve essere conservato fra 2 °C e 8 °C e deve essere riposto in frigorifero subito dopo l'uso.

PRECAUZIONI

1. Solo dietro presentazione di ricetta medica
2. Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.
3. Ogni componente del kit deve essere controllato per rilevare eventuali segni di perdita. All'arrivo, ispezionare il kit per assicurarsi che i componenti non siano né congelati né caldi al tatto a causa di condizioni di spedizione inadeguate.
4. Non miscelare reagenti di kit diversi. Non utilizzare un kit dopo la data di scadenza indicata.

5. Portare tutti i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso per garantire una reattività adeguata del kit. Rimuovere i reagenti dall'insero in espanso per ridurre il tempo necessario per il riscaldamento a temperatura ambiente.
6. Non congelare i reagenti. Il kit deve essere conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.
7. Il colore di tappi e puntali ha un significato specifico; NON mischiarli né cambiarli!
8. Durante la manipolazione dei pozzetti di analisi evitare di graffiare il fondo, diversamente potrebbero determinarsi valori di assorbanza elevati.
9. I micropozzetti inutilizzati devono essere riposti nel sacchetto richiudibile insieme all'essiccante per proteggerli dall'umidità.
10. Dispensare i reagenti tenendo i flaconi in posizione verticale in modo da garantire gocce di dimensione adeguata e un volume corretto.
11. La contaminazione microbica dei reagenti può ridurre la precisione del test. Se si prelevano aliquote dai flaconi, utilizzare pipette sterili per evitare la contaminazione microbica dei reagenti.
12. Tutti i reagenti, ad eccezione della *soluzione di lavaggio concentrata*, sono forniti in flaconi pronti all'uso. I reagenti possono essere dispensati direttamente dai flaconi contagocce o lasciati decantare in vista dell'uso con pipette multicanale. Se è stata fatta decantare una quantità eccessiva di reagente, l'eccesso dovrà essere eliminato. Non travasarlo nuovamente nel flacone. Il *substrato* deve essere conservato nel flacone protetto dalla luce in cui è fornito e utilizzato da quest'ultimo. Se per qualsiasi ragione viene prelevata un'aliquota dal flacone originale, non travasare nuovamente il *substrato* inutilizzato nel flacone originale. Il *substrato* è fotosensibile e deve essere protetto dalla luce solare diretta o dalle sorgenti di radiazioni UV.
13. Per evitare reazioni di fondo seguire la procedura di lavaggio indicata.
14. Il test è stato ottimizzato per quanto concerne la sensibilità e la specificità. Non deviare dalla procedura specificata. Eventuali alterazioni della procedura specificata e/o delle condizioni di analisi possono influenzare la sensibilità e la specificità del test.
15. I campioni fecali possono contenere agenti potenzialmente infettivi e devono essere maneggiati al "Livello di biosicurezza 2" come raccomandato nel manuale del CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories".
16. Manipolare i campioni e i pozzetti usati per l'analisi come potenziali fonti di agenti infettivi. Durante il test, indossare guanti monouso.
17. I reagenti *coniugato*, *diluyente* e *tampone di lavaggio* contengono ProClin® 300 allo 0,05% come conservante. Benché la concentrazione sia bassa, è noto che ProClin® 300 è dannoso (può verificarsi sensibilizzazione cutanea). In caso di sensibilizzazione/irritazione o rash cutaneo, rivolgersi a un medico. Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli. Manipolare i reagenti attenendosi alle disposizioni vigenti in materia di sicurezza e buone pratiche di laboratorio. Le schede tecniche di sicurezza per questo prodotto sono disponibili su richiesta; rivolgersi all'assistenza tecnica.
18. La *soluzione concentrata e tamponata di lavaggio 20X* contiene lo 0,2% di Thimerosal come conservante. Una volta diluita alla concentrazione di impiego standard è classificata come non pericolosa. La *soluzione di arresto* contiene 0.6N di acido solforico. In caso di contatto sciacquare immediatamente con acqua. Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli. Manipolare i reagenti attenendosi alle disposizioni vigenti in materia di sicurezza e buone pratiche di laboratorio. Le schede tecniche di sicurezza per questo prodotto sono disponibili su richiesta; rivolgersi all'assistenza tecnica.
19. Attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali per quanto riguarda lo smaltimento dei rifiuti. Non gettare il prodotto nei rifiuti comuni e smaltirlo come un rifiuto pericoloso.

PREPARAZIONE PRELIMINARE

1. **Prima di procedere all'analisi, portare tutti i reagenti a temperatura ambiente.**
2. **Preparare la soluzione di lavaggio 1X.** La *soluzione di lavaggio concentrata* e *tamponata* viene fornita come concentrato 20X (potrebbe essere visibile del precipitato). La soluzione deve essere diluita fino a un volume totale di 1 litro

aggiungendo 50 mL di concentrato a 950 mL di acqua distillata. La *soluzione di lavaggio* 1X può essere conservata tra 2 °C e 8 °C fino alla data di scadenza del kit.

- Preparazione delle strisce per il dosaggio.** Ogni striscia contiene 8 pozzetti adsorbiti con anticorpi specifici per l'antigene dell'*H. pylori*. Per ogni campione o controllo verrà utilizzato uno di questi pozzetti adsorbiti. Determinare il numero di pozzetti necessari. Evitare di toccare la base dei pozzetti. I pozzetti di analisi inutilizzati devono essere riposti nella busta e sigillati con la massima cura insieme all'essiccante.

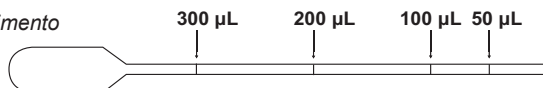
RACCOLTA, TRATTAMENTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI FECALI

Tipi di campioni accettabili	Non usare
Campioni fecali freschi	Campioni fecali in un fissativo a base di formalina (ad esempio formalina di sodio acetato, formalina al 10%)
Campioni fecali congelati	Campioni fecali in un fissativo a base di alcol (ad esempio alcol polivinilico)
Campioni in terreni di trasporto (Cary Blair, C&S)	Campioni fecali concentrati

Condizioni di conservazione	Periodo di conservazione raccomandato
Campioni freschi non conservati e campioni in terreni di trasporto Cary Blair o C&S conservati tra 2 °C e 8 °C	96 ore
Campioni freschi non conservati e campioni in terreni di trasporto Cary Blair o C&S conservati tra 20°C e 25°C	96 ore
Campioni congelati non conservati tenuti a ≤ -10 °C	14 giorni

- Utilizzare le procedure di raccolta e trattamento interne standard per i campioni fecali. Raccogliere i campioni fecali in contenitori puliti, a prova di perdita.
- I campioni fecali che vengono conservati congelati possono essere scongelati fino a 2 volte. Se si utilizzano campioni congelati, lasciarli scongelare a temperatura ambiente.
- Preparare ed etichettare una provetta per ogni campione in base alla necessità.
- Aggiungere 200 μ L di diluente in ogni provetta per campioni senza conservanti. Per i campioni in terreni di trasporto Cary Blair o C&S, aggiungere 100 μ L di diluente in ogni provetta.**
- Procurarsi una pipetta di trasferimento in plastica monouso (fornita insieme al kit) per ogni campione.

Pipetta di trasferimento



- Miscelare accuratamente tutti i campioni, indipendentemente dalla consistenza: è fondamentale che la sospensione sia uniforme prima del campionamento.**
 - Per i **campioni freschi o congelati/scongelati**, utilizzando la pipetta di trasferimento in plastica monouso, dispensare 50 μ L (prima graduazione) di campione fecale nella provetta contenente il *diluente* e miscelare bene. Se il

campione non può essere pipettato, utilizzare uno stick applicatore per trasferire circa 0,05 g di feci, corrispondenti alle dimensioni di un piccolo pisello (circa 3 mm di diametro).

- Per i campioni in **terreni di trasporto Cary Blair o C&S**, dispensare 100 µL (seconda graduazione) di campione fecale nella provetta contenente *diluyente* e miscelare bene.
7. Chiudere ogni provetta di campione diluito e miscelare accuratamente. L'accurata miscelazione può essere ottenuta mediante vorticazione o capovolgendo la provetta diverse volte. Non lasciare i campioni nel *diluyente/coniugato* per oltre 2 ore.
 8. Se vengono utilizzate apparecchiature di lavaggio automatiche o semiautomatiche, i campioni, una volta diluiti, devono essere centrifugati (5000 x g per 10 minuti) al fine di rimuovere qualsiasi sostanza particolata dal surnatante prima del trasferimento nei pozzetti di analisi.

PROCEDURA DI ANALISI

1. Portare tutti i reagenti e il numero di strisce di test richiesto a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. **Dispensare 1 goccia (50 µL) di coniugato (tappo rosso) in ogni pozzetto.** Mescolare delicatamente il *coniugato* nel flacone capovolgendo più volte. Durante questa operazione tenere i flaconi in verticale. Usare 1 pozzetto per ogni campione fecale, 1 pozzetto per il *controllo positivo* e 1 pozzetto per il controllo negativo. È possibile scrivere i contrassegni identificativi direttamente sul fianco del pozzetto.
3. **Utilizzando una pipetta di trasferimento nuova, trasferire 100 µL di campione diluito (o surnatante dal campione diluito centrifugato se si utilizza un'apparecchiatura di lavaggio automatica) nel pozzetto di analisi.** Dispensare 1 goccia (50 µL) di *controllo positivo* (tappo nero) nel pozzetto del controllo positivo e 100 µL di *diluyente* (controllo negativo) nel pozzetto del controllo negativo. Percuotere i lati della piastra per miscelare.
4. Tagliare il foglio adesivo di plastica alla dimensione adeguata a coprire i pozzetti. **Coprire i pozzetti e incubarli a 37 °C ± 2 °C per 50 minuti.**
5. Versare il contenuto dei pozzetti di analisi in una bacinella per rifiuti.
6. **Lavare ogni pozzetto con la soluzione di lavaggio 1X in un flacone con spruzzatore a getto sottile**, dirigendo **il getto** con forza verso il fondo del pozzetto. Riempire i pozzetti e versare la *soluzione di lavaggio* in una bacinella per rifiuti. Sgocciolare la piastra capovolta su una salvietta di carta asciutta.
Nota: se si utilizzano apparecchiature di lavaggio semiautomatiche o automatiche aggiungere 350 µL di soluzione di lavaggio 1X a ogni pozzetto. Effettuare un totale di 5 lavaggi.
7. Ripetere il punto 6 quattro volte ancora usando ogni volta una salvietta asciutta. Se i pozzetti presentano sostanza particolata, continuare il lavaggio fino alla completa rimozione.
8. Dopo il lavaggio rimuovere completamente qualsiasi residuo di liquido nei pozzetti battendo la piastra su una salvietta di carta asciutta fino a quando non fuoriesce più liquido. Smaltire correttamente le salviette di carta e i contenitori dei campioni.
9. **Dispensare 2 gocce (100 µL) di substrato (tappo blu) in ogni pozzetto.** Percuotere delicatamente i pozzetti per miscelare il *substrato*. Incubare i pozzetti a temperatura ambiente per 10 minuti, percuotendoli delicatamente dopo 5 minuti.
10. **Dispensare 1 goccia (50 µL) di soluzione di arresto (tappo giallo) in ogni pozzetto.** Percuotere delicatamente i pozzetti a attendere 2 minuti prima di procedere alla lettura. L'aggiunta della *soluzione di arresto* determina un viraggio dal blu al giallo che è possibile quantificare misurando la densità ottica a 450 nm su un lettore di micropiastre ELISA. Effettuare un bianco dello strumento in aria. Se si utilizza un lettore a doppia lunghezza d'onda, effettuare il bianco a 620 o 630 nm e la lettura a 450 nm. Prima di misurare la densità ottica pulire il lato inferiore di ciascun pozzetto. Se il lettore ELISA non è disponibile, è possibile leggere il test osservandolo sotto una buona luce su uno sfondo bianco. La lettura deve avvenire entro dieci minuti dall'aggiunta della *soluzione di arresto*.

CONTROLLO DI QUALITÀ

- Per ogni serie di campioni è necessario eseguire i controlli positivo e negativo. Il controllo positivo dimostra che il test funziona correttamente per la rilevazione dell'*antigene di H. pylori nei campioni fecali*. Il controllo negativo dimostra che il test non sta reagendo in modo non specifico.
- I controlli positivo e negativo devono rientrare nei rispettivi intervalli (di seguito), altrimenti i risultati del test non vengono considerati validi. Se non si osservano le caratteristiche attese, contattare il servizio tecnico.
 - Il controllo positivo deve mostrare un colore giallo visibile.** Se la lettura avviene su uno spettrofotometro, il valore di OD a 450 nm o a 450/620 nm o 450/630 nm in caso di doppia lunghezza d'onda deve essere $> 0,500$. Qualsiasi pozzetto che dia una lettura positiva senza un colore visibile deve essere riposizionato, pulito nella parte inferiore e letto nuovamente.
 - Il controllo negativo deve essere trasparente.** Se la lettura avviene su uno spettrofotometro, il valore di OD a 450 deve essere $< 0,120$. Se la lettura avviene a 450/620 nm o 450/630 nm, l'assorbanza deve essere $< 0,080$. In caso contrario il test non è valido e deve essere ripetuto, prestando attenzione nella fase di lavaggio.
- La lettura visiva deve avvenire sotto una buona luce su uno sfondo bianco.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

	Letture spettrofotometriche	
	Lunghezza d'onda singola a 450 nm	Lunghezza d'onda doppia a 450/620 nm o 450/630 nm
Negativo	OD $< 0,120$	OD $< 0,080$
Positivo	OD $\geq 0,120$	OD $\geq 0,080$

Un risultato positivo nel test *H. PYLORI CHEK™* conferma la presenza dell'antigene di *H. pylori* in un campione; un risultato negativo indica l'assenza dell'antigene o livelli di antigene insufficienti per essere rilevati.

Interpretazione visiva

Il controllo negativo deve essere incolore o di un giallo sbiadito. Il controllo positivo deve essere di un colore giallo evidente. Se non si osservano le caratteristiche attese, contattare il servizio tecnico. Un campione è considerato positivo se presenta una netta colorazione gialla quando confrontato con il pozzetto di controllo negativo. Il giallo può essere più o meno intenso del colore osservato nel pozzetto di controllo positivo. Un campione è considerato negativo se la reazione è incolore o di un giallo meno intenso rispetto al pozzetto di controllo negativo.

LIMITI DEL TEST *H. PYLORI CHEK™*

- Il test *H. PYLORI CHEK™* viene usato per determinare un antigene di *H. pylori* nei campioni fecali. Il test conferma la presenza dell'antigene di *H. pylori* nel campione e queste informazioni devono essere tenute in debito conto dal medico alla luce dell'anamnesi clinica e dell'esame obiettivo del paziente.
- Un risultato negativo non preclude la possibile presenza dell'antigene di *H. pylori* nei campioni, cosa che può accadere se il livello di antigene è inferiore al limite di rilevazione del test.
- Possono verificarsi risultati falsi negativi se un paziente ha usato antibiotici, inibitori di pompa protonica (PPI) o composti del bismuto nei 14 giorni precedenti il prelievo del campione fecale, poiché è noto che questi farmaci inibiscono *H. pylori*. In questi

casi, deve essere prelevato e testato un nuovo campione fecale 14 giorni dopo l'interruzione del trattamento. I risultati positivi nei pazienti che hanno utilizzato antibiotici, PPI o composti del bismuto nei 14 giorni precedenti il prelievo del campione fecale sono ancora considerati accurati.

4. *il trasferimento di una quantità insufficiente di campione o la mancata miscelazione e sospensione completa del campione nel diluente possono dare un risultato falso negativo.*
5. *Il test H. PYLORI CHEK™ è qualitativo. L'intensità del colore non deve essere interpretata in termini quantitativi.*
6. *Non sono disponibili dati sugli effetti di lavaggi del colon, enteroclistmi al bario, lassativi o preparazioni dell'intestino sulle prestazioni del test H. PYLORI CHEK™.* Queste procedure possono causare un'estesa diluizione o la presenza di additivi che potrebbero interferire con le prestazioni del test.
7. Le prestazioni metodologiche non sono state testate nelle popolazioni asintomatiche.

VALORI ATTESI

Il test *H. PYLORI CHEK™* determina la presenza di un antigene di *Helicobacter pylori* nei campioni fecali umani. L'infezione da *H. pylori* è un fenomeno globale con tassi di prevalenza segnalati negli adulti compresi tra il 20% e il 95%.¹ Oltre alla posizione geografica, anche fattori come età, etnia e stato socioeconomico influenzano il tasso di prevalenza.^{5,7} *H. pylori* è presumibilmente la causa del 70%-85% delle ulcere gastriche e del 90%-95% delle ulcere duodenali.⁸ Storicamente, i regimi di trattamento per eradicare l'infezione da *H. pylori* hanno riportato tassi di successo compresi tra 76% e 94%, ma l'efficacia dei regimi di trattamento standard è diminuita a causa di fattori quali l'aumento della prevalenza di ceppi di *H. pylori* resistenti agli antibiotici.⁹ L'efficacia della terapia di eradicazione può migliorare significativamente quando viene prescritto un regime su misura.¹⁰

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Le prestazioni del test *H. PYLORI CHEK™* sono state valutate presso 6 centri indipendenti. Sono stati arruolati pazienti che dovevano sottoporsi a endoscopia come parte delle cure di routine. Per la valutazione è stato utilizzato un metodo di riferimento composito (CRM) consistente nel confronto fra test rapido dell'ureasi e istologia dei campioni biotici. La tabella seguente mostra un riepilogo dei dati relativi alle prestazioni cliniche. I risultati dello studio mostrano che il test *H. PYLORI CHEK™*, all'analisi spettrofotometrica a lunghezza d'onda doppia, ha una sensibilità del 100% e una specificità del 96,1% con i risultati della biopsia secondo il CRM. L'analisi è stata condotta anche tramite lettura visiva delle piastre. I risultati visivi sono stati corrispondenti ai risultati dell'analisi spettrofotometrica a lunghezza d'onda doppia per il 99% delle volte.

Distribuzione per età e genere

Erano disponibili informazioni sull'età e il genere per 109 pazienti. L'età variava da 19 a 82 anni. Dei 109 pazienti testati, il 66% era di sesso femminile e il 34% era di sesso maschile. Non sono state osservate differenze nelle prestazioni del test in base all'età o al genere dei pazienti.

Diagnosi iniziale del test *H. PYLORI CHEK™* verso il metodo di riferimento composito (CRM)

N = 109	CRM positivo	CRM negativo
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positivo	32	3*
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negativo	0	74

		Limiti di confidenza 95%
Sensibilità	100,0%	89,3% - 98,9%
Specificità	96,1%	89,2% - 98,7%

*Tutti e tre i campioni sono risultati inizialmente positivi al test *H. PYLORI CHEK™*, ma negativi in seguito alla ripetizione del test con *H. PYLORI CHEK™*.

Post-terapia

Per l'eradicazione (post-terapia), c'erano 9 campioni da pazienti sottoposti a test post-terapia. I risultati mostrano che il test *H. PYLORI CHEK™* aveva una sensibilità del 77,8% con il metodo di riferimento composito.

N = 9	CRM positivo	CRM negativo
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positivo	7*	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negativo	2**	0

		Limiti di confidenza 95%
Sensibilità	77,8%	45,3% - 93,7%

* Un campione è risultato positivo alla lettura visiva ma negativo all'interpretazione spettrofotometrica (OD_{450/620} 0,034).

** Un campione è risultato inizialmente negativo ma positivo alla ripetizione del test con il test *H. PYLORI CHEK™*.

Studio retrospettivo dei campioni

È stato eseguito un ulteriore studio retrospettivo dei campioni confrontando il test *H. PYLORI CHEK™* con un test ELISA commerciale autorizzato dalla FDA. Per questo studio, sono stati valutati 196 campioni (75 positivi e 121 negativi dal test ELISA commerciale). È stata osservata una correlazione del 100% tra i risultati delle analisi.

N = 196	Test ELISA commerciale positivo autorizzato dalla FDA	Test ELISA commerciale negativo autorizzato dalla FDA
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Positivo	75	0
<i>H. PYLORI CHEK™</i> Negativo	0	121

		Limiti di confidenza 95%
Percentuale di concordanza positiva	100,0%	95,1% - 100,0%
Percentuale di concordanza negativa	100,0%	96,9% - 100,0%

RIPRODUCIBILITÀ

La riproducibilità del test *H. PYLORI CHEK™* è stata determinata utilizzando 8 campioni fecali che sono stati codificati per prevenirne l'identificazione durante il test. I test sono stati condotti presso 2 laboratori indipendenti e internamente presso TECHLAB, Inc. I campioni sono stati testati in triplicato due volte al giorno per 5 giorni, da più tecnici in ciascun centro,

utilizzando 2 lotti diversi del kit. I risultati sono apparsi coerenti tra i diversi centri e hanno evidenziato una correlazione del 97,5%.

REATTIVITÀ CROCIATA

Il test *H. PYLORI CHEK*[™] è stato valutato per quanto riguarda la reattività crociata con i microrganismi e virus intestinali comuni sotto indicati. Nessuno dei microrganismi o virus ha interferito con le prestazioni del test *H. PYLORI CHEK*[™] test.

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (non tossigeno)
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (tossigeno)
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Campylobacter helveticus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Campylobacter lari</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Escherichia coli</i> EIEC	

Adenovirus tipi 2, 40	Echovirus 9, 22
Coronavirus umano	Enterovirus 70
Coxsackievirus B1, B2, B3, B6	Rotavirus umano

STUDI DI INCLUSIVITÀ

Sono stati testati per la reattività con il test *H. PYLORI CHEK*[™] i seguenti ceppi, che comprendono isolati che rappresentano le popolazioni descritte di *H. pylori*. Tutti i ceppi testati hanno generato un risultato positivo.

ATCC 700392	JP26
ATCC 43526	ATCC 43504
ATCC 700824	ATCC 43579

SOSTANZE INTERFERENTI (FORMULAZIONE USA)

Le seguenti sostanze analizzate alle concentrazioni indicate non hanno avuto alcun effetto sui risultati positivi o negativi del test *H. PYLORI CHEK*[™]:

Solfato di bario (5% p/v), cloruro di benzalconio (1% p/v), ciprofloxacina (0,25% p/v), etanolo (1% p/v), mucina gastrica porcina (3,5% p/v), sangue umano (40% v/v), idrocortisone (1% p/v), Imodium[®] (5% v/v), Kaopectate[®] (5% v/v), leucociti (0,05% v/v), Maalox[®] Advanced (5% v/v), mesalazina (10% p/v), metronidazolo (0,25% p/v), MiraLax[®] (7% p/v), olio minerale (10% p/v), Mylanta[®] (4,2 mg/mL), naprossene sodico (5% p/v), nonoxinolo-9 (1% p/v), nistatina (1% p/v), acido palmitico/grasso fecale (40% p/v), Pepto-Bismol[®] (5% v/v), fenilefrina (1% p/v), Prilosec OTC[®] (5 µg/mL), sennosidi (1% p/v), simeticone (10% p/v), acido stearico/grasso fecale (40% p/v), Tagamet[®] (5 µg/mL), TUMS[®] (50 µg/mL), urina umana (5% v/v), e vancomicina (0,25% p/v).

SENSIBILITÀ ANALITICA

Il limite di rilevazione (LoD) per il test *H. PYLORI CHEK™* è stato stabilito a 6,70 ng/mL in matrice fecale (0,13 ng/test) per l'antigene di *Helicobacter pylori* utilizzando antigene di lisato cellulare preparato dal ceppo ATCC 43526 di *H. pylori*. Per i campioni in terreni Cary Blair, il LoD è stato stabilito a 26,57 ng/mL (0,33 ng/test). Per i campioni in terreni Cary Blair, il LoD è stato stabilito a 18,19 ng/mL (0,23 ng/test).

PRECISIONE INTRATEST

Per la determinazione delle prestazioni intratest, 8 campioni fecali sono stati analizzati utilizzando il test *H. PYLORI CHEK™*. I campioni comprendevano 2 campioni negativi, 2 campioni a elevata negatività, 2 campioni a bassa positività e 2 campioni a moderata positività. Ogni campione è stato testato cinque volte utilizzando due lotti di kit diversi. I campioni positivi hanno dato i risultati attesi e i campioni negativi sono risultati sempre negativi.

PRECISIONE INTERTEST

Per la determinazione delle prestazioni intertest, 8 campioni fecali sono stati analizzati utilizzando il test *H. PYLORI CHEK™*. I campioni comprendevano 2 campioni negativi, 2 campioni a elevata negatività, 2 campioni a bassa positività e 2 campioni a moderata positività. I campioni sono stati testati due volte al giorno da più tecnici per un periodo di 12 giorni, utilizzando 2 lotti di kit diversi. I campioni positivi hanno dato i risultati attesi il 98,3% delle volte, mentre i campioni negativi hanno dato i risultati attesi il 97,8% delle volte.

CAMPIONI FRESCHI VERSO CONGELATI

È stato valutato l'effetto della conservazione a lungo termine del campione congelato sulla stabilità dell'antigene. Per l'analisi, è stato valutato con il test *H. PYLORI CHEK™* un totale di 32 campioni fecali umani. I campioni fecali comprendevano 2 campioni fecali negativi, 5 campioni fecali a elevata negatività, 10 campioni fecali a bassa positività e 15 campioni fecali positivi a copertura dell'intervallo del test (50 ng/mL - 1200 ng/mL). I campioni sono stati preparati e conservati a ≤ -10 °C e ≤ -70 °C e testati ai giorni 0, 5, 10, e 14. Non è stata osservata alcuna conversione da positivo a negativo o da negativo a positivo in alcuno dei campioni nei punti temporali specificati.

PROZONA

Per garantire l'assenza di interferenza fra una concentrazione elevata di antigene di *H. pylori* e una reazione positiva del test *H. PYLORI CHEK™*, sono stati preparati campioni altamente positivi arricchendo un pool fecale negativo e portandolo a concentrazioni fino a 10 volte più alte della concentrazione dell'antigene osservata in un campione clinico positivo. È stato preparato e testato in triplicato un totale di 5 diverse diluizioni dell'antigene di *H. pylori*. I risultati hanno dimostrato che non esisteva alcun effetto prozona globale, e che livelli elevati di antigene non influenzavano la determinazione di quest'ultimo.

REFERENCES

1. Hunt RH, Xiao SD, Megraud F, Leon-Barua R, Bazzoli F, van der Merwe S, Vaz Coelho LG, Fock M, Fedail S, Cohen H, Malfertheiner P, Vakil N, Hamid S, Goh KL, Wong BC, Krabshuis J, Le Mair A; World Gastroenterology Organization. 2011. *Helicobacter pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline. J Gastrointestin Liver Dis. 20:299-304.
2. Wroblewski LE, Peek RM Jr., Wilson KT. 2010. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. Clin Microbiol Rev. 23:713-739.
3. Talley NJ, Vakil N. 2005. Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Guidelines for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol. 100:2324-37.
4. Talley NJ. 2005. American Gastroenterological Association medical position statement: evaluation of dyspepsia. Gastroenterology. 129:1753-1755.
5. Chey WD, Wong BC, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. 2007. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol. 102:1808-1825
6. Moayyedi P, Axon AT, Feltbower R, Duffett S, Crocombe W, Braunholtz D, Richards ID, Dowell AC, Forman D; Leeds HELP Study Group. 2002 Relation of adult lifestyle and socioeconomic factors to the prevalence of *Helicobacter pylori* infection. Int J Epidemiol. 31:624-631.
7. Everhart JE, Kruszon-Moran D, Perez-Perez GI, Tralka TS, McQuillan G. 2000. Seroprevalence and ethnic differences in *Helicobacter pylori* infection among adults in the United States. J Infect Dis. 181:1359-1363.
8. Testerman TL, Morris J. 2014. Beyond the stomach: An updated view of *Helicobacter pylori* pathogenesis, diagnosis, and treatment. World J Gastroenterol. 20: 12781–12808.
9. Kim SY, Choi DJ, Chung J. 2015. Antibiotic treatment for *Helicobacter pylori*: Is the end coming? World J Gastrointest Pharmacol Ther. 6:183–198.
10. Chen H, Dang Y, Zhou X, Liu B, Liu S, Zhang G. 2016. Tailored Therapy Versus Empiric Chosen Treatment for *Helicobacter pylori* Eradication: A Meta-Analysis. Medicine (Baltimore). 95: e2750.

Technical Support

Further information can be obtained from contacting TECHLAB® Technical Support::

US +1 800 TECHLAB
 Phone (540) 953-1664
 Fax (540) 953-1665
 Email ts@techlab.com

© 2021 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

H. PYLORI CHEK, the TECHLAB Logo, and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc. ProClin is a trademark of Rohm and Haas Company. All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.