

CHORUS

Helicobacter pylori Ag


DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

REF 81063

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	4 – 11





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Helicobacter pylori Ag

**Per la determinazione qualitativa degli antigeni di
Helicobacter pylori nelle feci.**

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli antigeni di Helicobacter pylori nelle feci con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

Nel 1983, Warren e Marshall identificarono, in pazienti affetti da gastrite, un nuovo patogeno batterico gram-negativo denominato *Helicobacter pylori*. In seguito sono stati eseguiti diversi studi allo scopo di chiarire il rapporto fra l'infezione batterica e patologie gastriche croniche. È stato dimostrato che il patogeno è associato all'ulcera peptica, alla gastrite cronica di tipo B, e alla duodenite. È stato dimostrato che, in pazienti affetti da gastrite, l'eliminazione del batterio porta alla guarigione della lesione anatomica.

Le procedure diagnostiche dirette alla rivelazione dell'organismo prevedono normalmente tecniche invasive (gastroscopiche) per il prelievo di campione biotico.

Il test per la determinazione degli antigeni contenuti nelle feci rappresenta un metodo alternativo valido e non invasivo. Il recente Maastricht 2-2000 Consensus Report raccomanda l'uso del test per la determinazione dell'antigene nelle feci come supporto alla diagnosi di *H. pylori*.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus *Helicobacter pylori* Ag è pronto all'uso per la determinazione degli antigeni di *Helicobacter pylori* presenti nelle feci umane, negli strumenti Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Gli anticorpi monoclonali a cattura anti-*H. pylori* vengono legati alla fase solida. Si effettua l'incubazione con i campioni e con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti-*H. pylori* coniugati con perossidasi di rafano: l'antigene specifico si lega all'anticorpo monoclonale legato alla fase solida ed al coniugato in seguito ad incubazione. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si aggiunge il substrato per la perossidasi.

La reazione enzimatica viene successivamente bloccata per aggiunta della Soluzione Bloccante che fa virare la soluzione al giallo.

Il colore che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli antigeni specifici presenti nel campione.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in Index (OD campione/OD cut-off).

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, il materiale deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
 2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
 3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus TRIO.
 4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza.
 5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
 6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata.
- Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti.
- Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) ed impiegare entro 60 minuti.

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.

L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella

pubblicata sul sito **Diesse**
(<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)

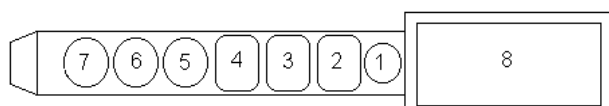
5. Controllare che lo strumento Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
11. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 12 determinazioni

DD DISPOSITIVI 2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con un anticorpo monoclonale anti-H.pylori

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H₂O₂ 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8).

Posizione 3: SOLUZIONE BLOCCANTE

Contenuto: Soluzione di acido solforico 0.3M

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: soluzione pronto uso contenente anticorpi monoclonali anti-H.pylori marcati con perossidasi e conservante.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il campione non diluito.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e sigillare premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE 2 x 0.250 ml

Contenuto: Cellule inattivate di H. pylori diluito. Liofilo.

Utilizzo: ricostituire con il volume di Stool Diluent/Negative Control indicato in etichetta.

Attendere almeno 5 minuti senza agitazione; miscelare per inversione evitando la formazione di schiuma.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 3 x 0.250 ml

Contenuto: Cellule inattivate di H. pylori diluito. Liofilo.

Utilizzo: ricostituire con il volume di Stool Diluent/Negative control indicato in etichetta.

Attendere almeno 5 minuti senza agitazione; miscelare per inversione evitando la formazione di schiuma.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

DILUENTE FECI H. PYLORI - CONTROLLO NEGATIVO

1 x 8 ml

Contenuto: Soluzione tampone pronto uso e conservante.

Utilizzo: Diluente per feci (vedi capitolo 8 Procedimento).

Ricostituente per Calibratore e Controllo positivo (vedi CALIBRATOR e CONTROL +).

È possibile utilizzare il diluente anche come soluzione di controllo negativo.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Strumento Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-1000 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il controllo positivo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8°C	
CALIBRATORE	1 giorno a 2/8°C	dopo ricostituzione
CONTROLLO POSITIVO	1 giorno a 2/8°C	dopo ricostituzione

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da feci maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Mantenere i campioni a 2/8°C e testarli entro 48 ore dal prelievo. Se il test non può essere effettuato entro 48 ore, mantenere i campioni a -20°C o a temperatura più bassa.

Ripetuti congelamenti e scongelamenti dei campioni devono essere ridotti poiché possono provocare degradazione/proteolisi dell'antigene e causare perdita di attività.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.

8. PROCEDIMENTO

1. Predisporre un tubo di diluizione per ciascun campione da testare. Si raccomanda l'uso di tubi da 1.5 ml. Aggiungere 500 µl di Stool Diluent/Negative control in ciascun tubo.
2. **Campioni di feci normali:** utilizzare un bastoncino di legno o un cucchiaino usa e getta per trasferire il campione di feci nel tubo. Trasferire approssimativamente da 0.1 a 0.15 g di campione (indicativamente la dimensione di un piccolo pisello) nei 500 µl di Stool Diluent/Negative control, rimuovendo tutto il materiale fecale dal raccoglitore.
Campioni di feci liquide: trasferire nel tubo 100 µl di campione. Assicurarsi che i campioni liquidi siano risospesi in modo uniforme.
3. **Mescolare il campione di feci accuratamente con un vortex per 15 secondi.**
4. Lasciare i tubi in posizione verticale per 10 minuti.
5. Centrifugare i tubi a 1000 g per 30 secondi. Assicurarsi che il supernatante formatosi non contenga una considerevole quantità di materiale particolato.
6. Mantenere a 2/8°C i campioni diluiti fino all'esecuzione del test.
7. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
8. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
9. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 130 µl di campione da analizzare. Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
10. Introdurre i dispositivi nello strumento Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus TRIO fornisce il risultato in Index (OD campione/OD cut-off).

Il test sul campione in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è > 0.5

NEGATIVO: quando il risultato è ≤ 0.5.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

ATTENZIONE: l'esecuzione del test Chorus Helicobacter pylori Ag (REF 81063) può essere effettuata solo singolarmente o contemporaneamente con i soli prodotti Chorus Clostridium difficile GDH (REF 81168) e Chorus Clostridium difficile A/B Toxins (REF 81170). In caso contrario tutti i test programmati non verranno eseguiti.

12. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 51 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
	Diesse	37	0	37
	-	0	14	14
	Totale	37	14	51

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 1.0.

13. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta	
	Media (Index)	CV%
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Campione	Tra sedute	
	Media (Index)	CV%
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

14. BIBLIOGRAFIA

1. M. J. Blaser . Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.
2. P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
3. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
4. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori

infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.

5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006; 19(3): 449-490.
6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Saverymuttu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? Journal of Medical Microbiology. 2004; 53: 623-627.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Helicobacter pylori Ag

For the qualitative determination of Helicobacter pylori antigens in stools.

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of Helicobacter pylori antigens in stools, using a disposable device applied on the Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

In 1983, Warren and Marshall identified *Helicobacter pylori*, a new gram-negative bacterial pathogen, in patients suffering from gastritis, and this finding led to studies on the relationship between bacterial infection and chronic gastric disease. The pathogen has been shown to be associated with peptic ulcer, chronic gastritis type B and duodenitis. It has been demonstrated that in patients with gastritis, eradication of the bacteria led to healing of the anatomical lesion.

Diagnostic procedures for the detection of the organism generally involve invasive (gastroscopic) techniques for sample collection.

A valid alternative method, non-invasive, is represented by the test for the determination of the antigens contained in the stool samples. The recent Maastricht 2-2000 Consensus Report recommends the use of the stools antigen test as an aid in the diagnosis of *H. pylori* infections.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus *Helicobacter pylori* Ag device is ready to use for the detection of *Helicobacter pylori* antigens present in human feces, in the Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay).

The anti-*H. pylori* monoclonal capture antibodies are bound to the solid phase. The incubation is performed with the samples and the conjugate composed of anti-*H. pylori* monoclonal antibodies conjugated to horseradish peroxidase: the specific antigen is bound to the monoclonal antibody bound to the solid phase and to the conjugate through incubation. After washing to eliminate the proteins which have not reacted, the peroxidase substrate is added.

The enzymatic reaction is stopped by the adding of the Stop Solution, which makes the solution turn to yellow. The colour which develops is proportional to the concentration of specific antigens present in the sample.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test in the Chorus TRIO instruments.

The results are expressed in Index (OD sample/OD cut-off).

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling reagents and samples.

Waste disposal: samples, calibrators and strips once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus TRIO instrument.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

Bring the devices to room temperature (18-30°C) before use; use within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.
The use of the kit is only possible with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Check that the Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).

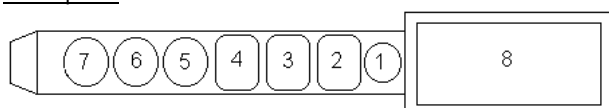
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. Do not use the device after the expiry date.
11. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 12 tests.

DD DEVICES 2 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with a monoclonal antibody specific for H.pylori

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H₂O₂ 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

Position 3: STOP SOLUTION

Contents: Sulfuric acid solution 0.3 M

Position 2: CONJUGATE

Contents: ready-to-use solution containing anti-H.pylori monoclonal antibodies labelled with horseradish peroxidase and preservative.

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted sample.

Use: equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in the bag with the silica gel, expel the air and seal by pressing the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 2 x 0.250 ml

Contents: Diluted H.pylori inactivated cells. Freeze-dried.

Use: reconstitute with the volume of Stool Diluent/Negative Control reported on the label.

Wait at least 5 minutes without shaking; then mix by inversion avoiding froth formation.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 3 x 0.250 ml

Contents: Diluted H.pylori inactivated cells. Freeze-dried.

Use: reconstitute with the volume of Stool Diluent/Negative Control reported on the label.

Wait at least 5 minutes without shaking; then mix by inversion avoiding froth formation.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

H. PYLORI STOOL DILUENT – NEGATIVE CONTROL
1 x 8 ml

Contents: ready-to-use buffer solution and preservative.

Use: Stool Diluent (see chapter 8 Assay Procedure).

To be used to reconstitute Calibrator and Positive Control (see CALIBRATOR and CONTROL+).

The diluent can also be used as negative control solution.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus TRIO Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-1000 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated and the run validated using the positive control (see section 9, Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

Reagents have a limited stability after opening:

DEVICES	8 weeks at 2/8°C
CALIBRATOR	1 day at 2/8°C after reconstitution
POSITIVE CONTROL	1 day at 2/8°C after reconstitution

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The type of sample is composed of feces handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

Keep the samples at 2/8°C and test within 48 hours after collection. If testing cannot be performed within 48 hours, store the samples at -20°C or lower.

Minimize specimen freezing thawing which may cause degradation/teolysis of the antigen and result in loss of activity.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Set up one dilution tube for each specimen to be tested. 1.5 ml tubes are recommended for this purpose. Add 500 µl of Stool Diluent/Negative Control to each tube.
2. **Formed samples:** use a wooden applicator stick or a disposable teaspoon to transfer the fecal specimen to the tube. Transfer approximately 0.1 to 0.15 g of specimen (about the size of a small pea) into 500 µl of Stool Diluent/Negative Control, removing all the material from the collector.
Liquid samples: transfer 100 µl of specimen to the tube. Make sure the liquid specimens are evenly suspended.
3. **Thoroughly mix (vortex) the fecal specimen for 15 seconds.**
4. Let the tubes stand in vertical position for 10 minutes.
5. Centrifuge the tubes at 1000 g for 30 seconds. Ensure that the formed supernatant does not contain large particulate material.

6. Store the diluted samples at 2/8°C until the test is performed.
7. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
8. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
9. Dispense 130 µl of undiluted test sample in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
10. Place the devices in the Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the positive control to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the Instrument Operating Manual. If the instrument signals that the control has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected. If the result of the control continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
 Fax: 0039 0577 366605
 email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus TRIO instrument expresses the result in Index (OD sample/OD cut-off).

The test on the examined sample can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is > 0.5
 NEGATIVE: when the result is ≤ 0.5

11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient. The test, indeed, cannot be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and/or other clinical diagnostic evaluation.

ATTENTION: the Chorus Helicobacter pylori Ag test (REF 81063) can only be performed in a dedicated run or together with Chorus Clostridium difficile GDH (REF 81168) and Chorus Clostridium difficile A/B Toxins (REF 81170). Otherwise none of the programmed tests will be performed.

12. METHOD COMPARISON

In an experimentation 51 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit. Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
		37	0	37
Diesse	+	37	0	37
	-	0	14	14
Total		37	14	51

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 1.0.

13. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within-run Precision	
	Mean (Index)	CV%
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Sample	Between-run precision	
	Mean (Index)	CV%
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean (Index)	CV%	Mean (Index)	CV%
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

14. REFERENCES

1. M. J. Blaser . Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.
2. P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
3. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
4. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.
5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006; 19(3): 449-490.
6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Savarymuttu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? Journal of Medical Microbiology. 2004; 53: 623-627.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS Helicobacter pylori Ag

PRO kvalitativní STANOVENÍ antigenů bakterie Helicobacter pylori ve stolici.

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k kvalitativnímu stanovení antigenů bakterie *Helicobacter pylori* ve stolici za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus TRIO.

2. ÚVOD

V roce 1983 zjistili Warren a Marshall u pacientů postižených gastritidou nový bakteriální gramnegativní patogen označovaný jako *Helicobacter pylori*. V návaznosti na toto zjištění byly provedeny různé studie za účelem objasnění vztahu mezi bakteriální infekcí a chronickými gastropatologiemi. Bylo prokázáno, že patogen je spojen s žaludečními vředy, chronickou gastritidou typu B a duodenitidou. Bylo prokázáno, že u pacientů postižených gastritidou vede eliminace bakterie k vyléčení anatomického poškození.

Diagnostické postupy zaměřené na odhalení organismu obvykle předpokládají invazivní (gastroskopické) metody pro odběr biotického vzorku.

Test pro stanovení antigenů obsažených ve stolici je platnou a neinvazivní alternativní testovací metodou. Nejnovější zpráva Maastricht 2-2000 Consensus Report doporučuje použití testu pro stanovení antigenů ve stolici na podporu diagnózy *H. pylori*.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus *Helicobacter pylori* Ag je připraven k použití pro stanovení antigenů bakterie *Helicobacter pylori* přítomných v lidské stolici, v zařízení Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunisorbentní zkouška).

Specifické monoklonální vazebné protilátky anti-H. *Pylori* jsou vázány na pevnou fázi. Proveďte se inkubace se vzorky a s konjugátem složeným z monoklonálních protilátek anti-H. *Pylori* konjugovaných s křenovou peroxidázou: specifický antigen se po inkubaci váže na monoklonální protilátku vázanou na pevnou fázi a na konjugát. Po promytí k eliminaci nereagujících bílkovin se přidá peroxidázový substrát.

Enzymatická reakce je následně zastavena přidáním blokačního roztoku, který zabarví roztok do žluta.

Vzniklé zabarvení je přímo úměrné koncentraci specifických antigenů přítomných ve vzorku.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako Index (OD vzorku/OD cut-off).

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agenty nejsou přítomny, je třeba s veškerým materiálem zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení se všemi reagenty a vzorky je nutné dodržovat bezpečnostní opatření běžně přijímaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: S použitými vzorky, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními rezidui a likvidovat je v souladu s legislativou.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

7. Nepipetujte ústy.
8. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
9. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
10. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu.
11. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
12. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve ořtením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevrhujte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30 °C) a použijte je do 60 min.

12. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
13. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
14. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagenty, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.
15. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
Používání sady je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Zkontrolujte, jestli nainstalovaný software odpovídá či jestli má Release (Rel.) vyšší než je ten, který je uveden v tabulce zveřejněné na stránkách Diesse
(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
16. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení).

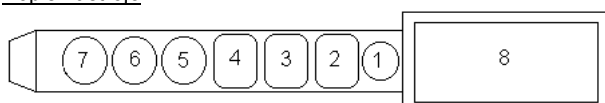
17. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
18. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
19. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
20. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
21. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
22. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer REF 83606.**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 12 stanovení.

DD NÁSTROJE 2 balení po 6 nástrojích

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená monoklonální protilátkou anti-H.pylori

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0.05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: BLOKAČNÍ ROZTOK

Obsah: Roztok kyseliny sírové 0.3 M

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: roztok připravený k použití obsahující monoklonální protilátky anti-H. Pylori označené peroxidázou a konzervantem.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Do ní obsluha umístí neředěný vzorek.

Použití: přiveďte balení na pokojovou teplotu, otevřete balení a vyjměte požadované nástroje; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vytlačte vzduch a uzavřete stisknutím. Skladujte při teplotě 2–8 °C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 2 x 0.250 ml

Obsahuje: Neaktivované buňky ředěné H. pylori. Liofilní.

Použití: aktivujte množstvím Stool Diluent/Negative Control uvedeným na štítku.

Vyčkejte alespoň 5 minut bez protřepání; promíchejte pomalým obracením a zamezte tvorbě pěny.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 3 x 0.250 ml

Obsahuje: Neaktivované buňky ředěné H. pylori. Liofilní.

Použití: aktivujte množstvím Stool Diluent/Negative Control uvedeným na štítku.

Vyčkejte alespoň 5 minut bez protřepání; promíchejte pomalým obracením a zamezte tvorbě pěny.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

ŘEDIDLO VZORKU STOLICE H. PYLORI - NEGATIVNÍ KONTROLA

1 x 8 ml

Obsah: Pufr připravený k použití a konzervant.

Použití: Ředidlo vzorku stolice (viz kapitola 8 Postup).

Aktivátor pro kalibrátor a pozitivní kontrolu (viz CALIBRATOR a CONTROL +).

Ředidlo je možné použít rovněž jako roztok pro negativní kontrolu.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER REF 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 REF 83609
- SANITIZING SOLUTION REF 83604 - 83608
- Zařízení Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–1000 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2/8 °C. Skladujete-li reagencie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí pozitivní kontroly (viz bod 9, Validace testu).

Datum spotřeby je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
KALIBRÁTOR	1 den při 2–8 °C po aktivaci
POZ. KONTROLA	1 den při 2–8 °C po aktivaci

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorky stolice jsou odebírány způsobem stanoveným běžnými laboratorními postupy.

Vzorky je nutno skladovat při teplotě 2–8 °C a použít pro testy do 48 hodin od odběru. Pokud nelze provést test do 48 hodin, uchovejte vzorky při teplotě -20 °C či nižší.

Vyvarujte se opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorků, jelikož by mohlo dojít k degradaci/proteolýze antigenu a ke ztrátě aktivity.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním.

8. POSTUP

3. Připravte jednu trubičku pro rozpuštění každého testovaného vzorku. Doporučujeme použít trubičku o objemu 1,5 ml. Přidejte 500 µl Stool Diluent/Negative control do každé trubičky.
4. **Vzorky normální stolice:** použijte dřevěnou tyčinku či lžičku na jedno použití pro přemístění vzorku stolice do trubičky. Přemístěte přibližně 0.1 – 0.15 g vzorku (jedná se o množství odpovídající velikosti malého hrášku) do 500 µl Stool Diluent/Negative control a odstraňte veškerý fekální materiál ze sběrače.
Vzorky tekuté stolice: přemístěte do trubičky 100 µl vzorku. Ujistěte se, že tekuté vzorky jsou stejnoměrně rozloženy.
11. **Protřeptejte důkladně vzorek stolice ve vortexu po dobu 15 vteřin.**
12. Nechte trubičky ve svislé poloze po dobu 10 minut.

13. Odstředte vzorky při 1000 g po dobu 30 vteřin. Ujistěte se, že vytvořený supernatant neobsahuje větší množství pevných částic.
14. Uchovejte rozpuštěné vzorky při teplotě 2-8 °C až do okamžiku provedení testu.
15. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
16. Vizuálně zkontrolujte stav nástroje podle pokynů uvedených v bodě 4, Opatření pro správné provedení testu.
17. Do jamky č. 1 každého nástroje vložte 130 µl vzorku k analýze. Při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
18. Umístěte nástroje do zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle návodu k obsluze zařízení.

9. OVĚŘENÍ TESTU

Pomocí pozitivní kontroly ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu k obsluze. Pokud zařízení hlásí, že kontrola vykazuje hodnotu mimo přijatelné rozmezí, je zapotřebí znovu provést kalibraci. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny. Pokud je výsledek pozitivní kontroly i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte, prosím, oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554
 Fax: 0039 0577 366605
 email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus TRIO vyjadřuje výsledky formou indexu (OD vzorku/OD cut-off).

Test na zkoumaném vzorku lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 0.5

NEGATIVNÍ: je-li výsledek ≤ 0.5

11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

POZOR: test Chorus Helicobacter pylori Ag (REF 81063) lze provést pouze jednotlivě či současně výhradně s produkty Chorus Clostridium difficile GDH (REF 81168) a Chorus Clostridium difficile A/B Toxins (REF 81170). V opačném případě nebudou provedeny všechny naprogramované testy.

12. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 51 Vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	37	0	37
	-	0	14	14
	Celkem	37	14	51

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost):

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Negativní shoda v procentech (~ diagnostická specifita):

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) dosahující 1.0.

13. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření	
	Průměr (Index)	CV %
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Vzorek	Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (Index)	CV %
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (Index)	CV %	Průměr (Index)	CV %
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

14. REFERENČNÍ LITERATURA

1. M. J. Blaser . Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.
2. P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
3. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
4. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.
5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006; 19(3): 449-490.
6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Savarymuttu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? Journal of Medical Microbiology. 2004; 53: 623-627.



DIESE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Helicobacter pylori Ag

Zur qualitativen Bestimmung von Helicobacter pylori-Antigen im Stuhl.

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

15. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung von Helicobacter pylori-Antigen im Stuhl mit Eiwegvorrichtung zur Verwendung im Chorus TRIO Laboranalysator.

16. EINLEITUNG

Im Jahr 1983 entdeckten Warren und Marshall bei Patienten mit Gastritis ein neues pathogenes gramnegatives Bakterium namens Helicobacter pylori. In der Folge wurden mehrere Studien durchgeführt, die das Verhältnis zwischen der bakteriellen Infektion und chronischen Magenerkrankungen klären sollten. Es wurde gezeigt, dass das Pathogen in Zusammenhang mit Magengeschwür, chronischer Typ-B-Gastritis und Duodenitis steht. Es wurde gezeigt, dass die Beseitigung des Bakteriums bei Patienten mit Gastritis zur Heilung der anatomischen Läsion führt.

Die diagnostischen Verfahren zum Nachweis des Organismus basieren normalerweise auf invasiven (gastroskopischen) Techniken zur Entnahme einer biopsischen Probe.

Der Test zur Bestimmung des Antigens im Stuhl stellt eine valide und nicht-invasive Alternative dazu dar. Der kürzlich erschienene Maastricht 2-2000 Consensus Report empfiehlt die Verwendung des Tests zur Bestimmung des Antigens im Stuhl als Unterstützung bei der Diagnose von H. pylori.

17. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Helicobacter pylori Ag ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Helicobacter pylori-Antigen im menschlichen Stuhl in Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Die gegen H. pylori gerichteten monoklonalen Antikörper werden an die Festphase gebunden. Die Inkubation erfolgt mit den Proben und dem Konjugat, das aus mit Meerrettichperoxidase konjugierten monoklonalen Anti-H.pylori-Antikörpern besteht: das spezifische Antigen bindet sich infolge der Inkubation an den monoklonalen Antikörper, der an die Festphase und an das Konjugat gebunden ist. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, wird das Substrat für die Peroxidase hinzugefügt.

Die Enzymreaktion wird anschließend durch die Zugabe von Blockierlösung blockiert, welche die Lösung gelb werden lässt.

Die Intensität der Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antigene in der Probe.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Index (OD-Wert Probe/OD-Wert Cut-off).

18. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Da für keinen Diagnosetest mit Sicherheit garantiert werden kann, dass er keine Infektionserreger enthält, hat das Material als potentiell infektiös zu gelten. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Proben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
9. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
10. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter.
11. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
12. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Die zu verwendenden Testmodule vor dem Gebrauch auf Umgebungstemperatur (18–30 °C) bringen und innerhalb von 60 Minuten verwenden.

12. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
13. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.

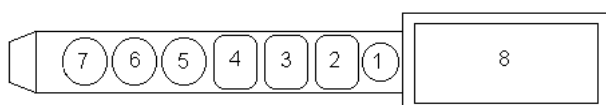
14. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
15. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
Die Verwendung des Kits ist nur mit einer aktualisierten Version der Software möglich. Stellen Sie sicher, dass die im Gerät installierte Software identisch ist oder eine neuere Version (Rel.) aufweist als in der auf der Diesse-Website veröffentlichten Tabelle
(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
16. Kontrollieren, ob der Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
17. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
18. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
19. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
20. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
21. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
22. **Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist**

19. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 2 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Mit einem monoklonalen Anti-H.pylori-Antikörper sensibilisiert

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: 0.26 mg/ml Tetramethylbenzidin und 0.01 % H₂O₂, stabilisiert in Citratpuffer (0.05 mol/l, pH 3.8)

Position 3: BLOCKIERLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0.3M

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: gebrauchsfertige Lösung mit monoklonalen Anti-H.pylori-Antikörpern, die mit Peroxidase markiert sind, und Konservierungsmittel.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener die unverdünnte Probe geben.

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurück legen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss **versiegeln**. Bei 2–8 °C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR 2 x 0.250 ml

Inhalt: Inaktivierte Zellen von H.pylori, verdünnt. Lyophil.

Anwendung: Mit dem auf dem Etikett angegebenen Volumen von Stool Diluent/Negative Control rekonstituieren.

Mindestens 5 Minuten warten, ohne zu schütteln; durch Umkippen mischen, um Schaumbildung zu vermeiden.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 3 x 0.250 ml

Inhalt: Inaktivierte Zellen von H.pylori, verdünnt. Lyophil.

Gebrauch: Mit dem auf dem Etikett angegebenen Volumen von Stool Diluent/Negative Control rekonstituieren.

Mindestens 5 Minuten warten, ohne zu schütteln; durch Umkippen mischen, um Schaumbildung zu vermeiden.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR STUHLPROBEN MIT H. PYLORI - NEGATIVKONTROLLE

1 x 8 ml

Inhalt: Gebrauchsfertige Pufferlösung und Konservierungsmittel.

Gebrauch: Verdünnungsmittel für Stuhlproben (siehe Kapitel 8 Vorgehensweise).

Rekonstituierungsmittel für Kalibrator und Positivkontrolle (siehe KALIBRATOR und + KONTROLLE).

Das Verdünnungsmittel kann auch als Negativ-Kontrolllösung verwendet werden.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 1000 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

20. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2/8°C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe der positiven Kontrolle überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen bzw. der Vorbereitung eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C
KALIBRATOR	1 Tag bei 2/8°C nach Rekonstituierung
POSITIVE KONTROLLE	1 Tag bei 2/8°C nach Rekonstituierung

21. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Stuhl, der entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wurde.

Die Proben bei 2/8°C aufbewahren und binnen 48 Stunden ab Gewinnung testen. Falls der Test nicht binnen 48 Stunden vorgenommen werden kann, müssen die Proben bei -20°C oder tiefer aufbewahrt werden.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist möglichst zu vermeiden, da dies zu Abbau/Proteolyse der Antigene und zum Verlust von deren Aktivität führen kann.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.

22. VORGEHENSWEISE

- Ein Verdünnungsröhrchen für jede Testprobe bereit legen. Die Verwendung von 1,5 ml Röhrchen wird empfohlen. 500 µl Stool Diluent/Negative Control in jedes Röhrchen geben.
- Normale Stuhlproben:** Ein Holzstäbchen oder einen Einweglöffel verwenden, um die Stuhlprobe ins Röhrchen zu geben. Ungefähr 0,1 bis 0,15 g Probe (annähernd die Größe einer kleinen Erbse) in die 500 µl Stool Diluent/Negative Control geben, wobei das gesamte Material vom Sammelgerät zu entfernen ist.
Flüssige Stuhlproben: 100 µl der Probe ins Röhrchen geben. Sicherstellen, dass die flüssigen Proben gleichmäßig resuspendiert worden sind.
- Die Stuhlproben sorgfältig mit Vortex 15 Sekunden lang mischen.**
- Die Röhrchen 10 Minuten lang in vertikaler Position stehen lassen.
- Die Röhrchen bei 1000 g 30 Sekunden lang zentrifugieren. Sicherstellen, dass der entstandene Überstand keine erhebliche Menge an Materialteilchen enthält.
- Die verdünnten Proben bis zur Durchführung des Tests bei 2/8°C aufbewahren.
- Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
- Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
- In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 130 µl der Probe geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
- Die Vorrichtungen in den Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

23. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses die positive Kontrolle verwenden. Sie wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis der Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

24. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off).

Der Test der untersuchten Probe kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis > 0.5

NEGATIV: bei Ergebnis ≤ 0.5

25. GRENZEN DES TESTS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind.

Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

ACHTUNG: Die Durchführung des Tests Chorus *Helicobacter pylori* Ag (REF 81063) darf ausschließlich allein oder gleichzeitig nur mit den Produkten Chorus *Clostridium difficile* GDH (REF 81168) und Chorus *Clostridium difficile* A/B Toxins (REF 81170) durchgeführt werden. Andernfalls wird keiner der programmierten Tests ausgeführt.

26. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 51 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	37	0	37
	-	0	14	14
	Insgesamt	37	14	51

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Negative Übereinstimmung: (~Diagnostische Sensitivität):

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohen-Koeffizient) von optimal 1.0.

27. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs	
	Mittelwert (Index)	CV %
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Probe	Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (Index)	CV %
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (Index)	CV %	Mittelwert (Index)	CV %
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

28. LITERATUR

1. M. J. Blaser . Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.
2. P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
3. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
4. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.
5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006; 19(3): 449-490.
6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Saverymuttu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? Journal of Medical Microbiology. 2004; 53: 623-627.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italien





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS Helicobacter pylori Ag

**Για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντιγόνων
του Helicobacter pylori στα κόπρανα.**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντιγόνων του *Helicobacter pylori* στα κόπρανα με συσκευή μίας χρήσης σε αναλυτές Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το 1983, οι Warren και Marshall ταυτοποίησαν σε ασθενείς που έπασχαν από γαστρίτιδα ένα νέο gram-αρνητικό παθογόνο βακτήριο που ονομάστηκε ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν διάφορες μελέτες για να διασαφηνιστεί η σχέση ανάμεσα στη λοίμωξη από το βακτήριο και διάφορες χρόνιες παθήσεις του στομάχου. Αποδείχθηκε ότι το παθογόνο σχετίζεται με το πεπτικό έλκος, τη χρόνια γαστρίτιδα τύπου Β και τη δωδεκαδακτυλίτιδα. Αποδείχθηκε ότι, σε ασθενείς που πάσχουν από γαστρίτιδα, η εκρίζωση του βακτηρίου επιφέρει ίαση της ανατομικής βλάβης.

Οι διαγνωστικές διαδικασίες για την ανίχνευση του μικροοργανισμού περιλαμβάνουν συνήθως επεμβατικές τεχνικές (γαστροσκοπικές) για τη λήψη δείγματος για βιοψία. Η εξέταση προσδιορισμού των αντιγόνων στα κόπρανα είναι μια έγκυρη και μη επεμβατική εναλλακτική μέθοδος. Η πρόσφατη έκθεση της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Μελέτης του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (Maastricht 2-2000 Consensus Report) συνιστά τη χρήση της εξέτασης προσδιορισμού του αντιγόνου στα κόπρανα ως βοήθημα στη διάγνωση της λοίμωξης από το *H. pylori*.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Chorus *Helicobacter pylori* Ag είναι μια συσκευή έτοιμη προς χρήση για τον προσδιορισμό της παρουσίας αντιγόνων του *Helicobacter pylori* σε ανθρώπινα κόπρανα, σε αναλυτές Chorus TRIO.

Η δοκιμασία βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Τα μονοκλωνικά αντισώματα καθήλωσης αντι-*H.pylori* δεσμεύονται στη στερεά φάση. Πραγματοποιείται επώαση με τα δείγματα και με το συζυγές που αποτελείται από μονοκλωνικά αντισώματα αντι-*H.pylori* συζευγμένα με υπεροξειδάση του χρένου: μετά την επώαση, το ειδικό αντιγόνο δεσμεύεται στο μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύθηκε στη στερεά φάση και στο συζυγές. Μετά από εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση.

Στη συνέχεια, αναστέλλεται η ενζυμική αντίδραση με προσθήκη του ανασταλτικού διαλύματος που χρωματίζει το διάλυμα κίτρινο.

Το χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των ειδικών αντιγόνων στο δείγμα που εξετάζεται.

Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την εκτέλεση του τεστ, όταν εφαρμόζονται στις συσκευές Chorus TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους Δείκτης (Index) (DO δείγμα/DO cut-off).

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Επειδή καμία διαγνωστική δοκιμασία δεν μπορεί να εγγυηθεί απόλυτα την απουσία μολυσματικών παραγόντων, το υλικό πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικό. Ο χειρισμός όλων των αντιδραστηρίων και όλων των δειγμάτων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τα πρότυπα ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

Διάθεση καταλοίπων: τα δείγματα, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσμένα κατάλοιπα και επομένως να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε προσεκτικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τα σετ μέσα στην συσκευή Chorus TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο κιτ συμβουλευέστε το Δελτίο Ασφαλείας.
5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγυηθεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η περιοχή. Πρέπει όλα τα υλικά, καθώς και γάντια, που χρησιμοποιήθηκαν για να απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση, τα σετ πρέπει να αφεθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και να χρησιμοποιηθούν μέσα σε 60 λεπτά.

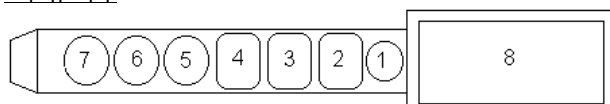
1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ίδιου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής. **Επιτρέπεται η χρήση του kit μόνο με ενημερωμένη έκδοση του λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που έχει εγκατασταθεί στον αναλυτή έχει την ίδια ή μεταγενέστερη ημ/νία έκδοσης (Rel.) από την αναφερόμενη ημ/νία στον κατάλογο που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της DIESSE (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)**
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης
11. **Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer ΚΩΔ. 83606.**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς.

DD ΣΕΤ 2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-H.pylori

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη 0.26 mg/mL και H₂O₂ 0.01% σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0.05 mol/L (pH 3.8)

Θέση 3: ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ

Περιεχόμενο: Διάλυμα θειικού οξέος 0.3M

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: διάλυμα έτοιμο προς χρήση που περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα αντι-H.pylori σημασμένα με υπεροξειδάση και συντηρητικό.

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Εδώ ο χειριστής πρέπει να τοποθετήσει το μη αραιωμένο δείγμα.

Χρήση: Ισορροπήστε μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη σακούλα, βγάλτε όσα σετ χρειάζονται; επανατοποθετήστε τα υπόλοιπα πίσω στη σακούλα, η οποία περιέχει πυριτική γέλη (silica gel), αφαιρέστε τον αέρα και σφραγίστε πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Διατηρείτε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ **2 x 0.250 ml**

Περιεχόμενο: Αραιωμένα αδραντοποιημένα κύτταρα H. pylori. Λυοφιλιωμένο.

Χρήση: ανασύσταση με τον όγκο του Stool Diluent/Negative Control που προσδιορίζεται στην ετικέτα.

Περιμένετε τουλάχιστον 5 λεπτά χωρίς ανακίνηση. Αναμείξτε με αναστροφή αποφεύγοντας το σχηματισμό αφρού.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ **3 x 0.250 ml**

Περιεχόμενο: Αραιωμένα αδραντοποιημένα κύτταρα H. pylori. Λυοφιλιωμένο.

Χρήση: ανασύσταση με τον όγκο του Stool Diluent/Negative Control που προσδιορίζεται στην ετικέτα.

Περιμένετε τουλάχιστον 5 λεπτά χωρίς ανακίνηση. Αναμείξτε με αναστροφή αποφεύγοντας το σχηματισμό αφρού.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

ΑΡΑΙΩΤΙΚΟ ΚΟΠΡΑΝΩΝ H. PYLORI - ΑΡΝΗΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟΥ

1 x 8 ml

Περιεχόμενο: Έτοιμο προς χρήση ρυθμιστικό διάλυμα και συντηρητικό.

Χρήση: Αραιωτικό κοπράνων (βλ. ενότητα 8 «Διαδικασία»).

Διάλυμα ανασύστασης για βαθμονομητή και θετικό υλικό ελέγχου (βλ. CALIBRATOR και CONTROL +).

Το αραιωτικό μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί και ως αρνητικό διάλυμα ελέγχου.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Συσκευή Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κλπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-1000 µl
- Γάντια μίας χρήσης

- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την συλλογή υλικών που μπορεί να είναι μολυσμένα.

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να διατηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που διατηρήθηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος μέσω του θετικού μάρτυρα (βλ. κεφ. 9: Εγκυρότητα του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε συστατικό μέρος και πάνω στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία:

ΣΕΤ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	1 ημέρα στους 2/8°C κατόπιν ανασύστασης
ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	1 ημέρα στους 2/8°C κατόπιν ανασύστασης

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Ο ενδεδειγμένος τύπος δείγματος είναι κόπρανα που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με τις τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες.

Τα δείγματα πρέπει να διατηρούνται στους 2/8°C και να υποβάλλονται σε εξέταση εντός 48 ωρών από τη λήψη. Αν η εξέταση δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί εντός 48 ωρών, διατηρήστε τα δείγματα στους -20°C ή σε χαμηλότερη θερμοκρασία.

Να αποφεύγεται η επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων διότι μπορεί να προκαλέσει αλλοίωση/πρωτεόλυση του αντιγόνου και αδρανοποίηση.

Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για τη συντήρηση των δειγμάτων.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

5. Πρέπει να υπάρχει από ένα διαθέσιμο σωληνάριο αραιώσης για κάθε δείγμα προς εξέταση. Συνιστάται η χρήση σωληναρίων 1,5 ml. Προσθέστε 500 μl του Stool Diluent/Negative Control σε κάθε σωληνάριο.
6. **Κανονικά δείγματα κοπράνων:** χρησιμοποιήστε ως συλλέκτη έναν ξύλινο στείλεό ή ένα κουταλάκι μίας χρήσης για να μεταφέρετε το δείγμα κοπράνων στο σωληνάριο. Μεταφέρετε περίπου 0,1 έως 0,15 g του δείγματος (ενδεικτικά όσο ένα μικρό μπιζέλι) στα 500 μl του Stool Diluent/Negative Control, αφαιρώντας όλο το υλικό των κοπράνων από τον συλλέκτη.
Ρευστά δείγματα κοπράνων: μεταφέρετε στο σωληνάριο 100 μl του δείγματος. Βεβαιωθείτε ότι έχει γίνει επανεναιώρηση των ρευστών δειγμάτων ώστε να είναι ομοιογενή.
19. **Αναμείξτε σωστά το δείγμα κοπράνων με περιδίνηση για 15 δευτερόλεπτα.**
20. Αφήστε τα σωληνάρια σε όρθια θέση για 10 λεπτά.
21. Φυγοκεντρίστε τα σωληνάρια στα 1000 g για 30 δευτερόλεπτα. Βεβαιωθείτε ότι το υπερκείμενο που θα σχηματιστεί δεν περιέχει σημαντική ποσότητα σωματιδιακού υλικού.
22. Φυλάξτε τα αραιωμένα δείγματα στους 2/8°C μέχρι τη διεξαγωγή της εξέτασης.

23. Ανοίξτε το φάκελο (από την πλευρά όπου βρίσκεται το κουμπωτό κλείσιμο), αφαιρέστε όλες τις συσκευές χρειάζεστε για τη διεξαγωγή των εξετάσεων και φυλάξτε τις υπόλοιπες, κλείνοντας το φάκελο αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
24. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση της συσκευής σύμφωνα με τις οδηγίες που αναφέρονται στην ενότητα 4 «Αναλυτικές οδηγίες».
25. Τοποθετήστε 130 μl του δείγματος προς ανάλυση στην κυψελίδα αρ. 1 κάθε συσκευής. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιείτε μία συσκευή για τον βαθμονομητή.
26. Τοποθετήστε τις συσκευές στον αναλυτή Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε τη βαθμονόμηση (εάν απαιτείται) και την εξέταση όπως περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε το θετικό υλικό ελέγχου για να επαληθεύσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή. Αν ο αναλυτής δείξει ότι η τιμή του υλικού ελέγχου βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, θα πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του υλικού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, επικοινωνήστε με το τμήμα επιστημονικής υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Index (DO δείγμα/DO cut-off).

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας για το εξεταζόμενο δείγμα μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 0.5
ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι ≤ 0.5

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η κάθε τιμή που λήφθηκε πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά χωρίς να εξαιρούνται άλλες ενδείξεις που αφορούν τον ίδιο ασθενή.

Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να αξιολογείται σε συνδυασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

ΠΡΟΣΟΧΗ: η εξέταση Chorus *Helicobacter pylori* Ag (REF 81063) μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο μεμονωμένα, ή ταυτόχρονα μόνο με τα προϊόντα Chorus *Clostridium difficile* GDH (REF 81168) και Chorus *Clostridium difficile* A/B Toxins (REF 81170). Σε αντίθετη περίπτωση, δεν θα εκτελεστεί καμία προγραμματισμένη εξέταση.

12. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 51 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	37	0	37
	-	0	14	14
	Σύνολο	37	14	51

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 1.0.

13. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία	
	Μέση Τιμή (Index)	CV%
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Δείγμα	Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή (Index)	CV%
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευών	
	Μέση Τιμή (Index)	CV%	Μέση Τιμή (Index)	CV%
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

14. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. M. J. Blaser . Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.
2. P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
3. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
4. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.
5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006; 19(3): 449-490.
6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Savarymattu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable

alternative to conventional ELISA kits? Journal of Medical Microbiology. 2004; 53: 623-627.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Helicobacter pylori Ag

Para la determinación cualitativa de antígenos de Helicobacter pylori en heces.

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa de antígenos de Helicobacter pylori en heces con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

En 1983, Warren y Marshall identificaron una nueva bacteria patógena gramnegativa denominada Helicobacter pylori en pacientes con gastritis. A raíz de esto, se realizaron diversos estudios con el fin de aclarar la relación existente entre la infección bacteriana y las patologías gástricas crónicas. Se ha demostrado que el patógeno está asociado con la úlcera péptica, la gastritis crónica de tipo B y la duodenitis. También se ha demostrado que la lesión anatómica desaparece en pacientes con gastritis al eliminar la bacteria.

El procedimiento de diagnóstico que permite detectar el organismo conlleva la aplicación de técnicas normalmente invasivas (gastroscopia) para obtener la muestra de biopsia.

El análisis para la determinación de los antígenos presentes en las heces constituye un método alternativo válido y no invasivo. El reciente consenso del Informe de Maastricht 2-2000 recomienda el uso de la prueba para determinación de antígenos en heces como ayuda durante el diagnóstico de H. pylori.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Chorus Helicobacter pylori Ag está listo para su uso para la detección para la determinación de antígenos de Helicobacter pylori en heces humanas, en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

Los anticuerpos monoclonales de captura anti-H.pylori se unen a la fase sólida. Se lleva a cabo la incubación con las muestras y con el conjugado formado por anticuerpos monoclonales anti-H.pylori con peroxidasa de rábano. El antígeno específico se une al anticuerpo monoclonal unido a la fase sólida y al conjugado tras la incubación. Tras varios lavados destinados a eliminar las proteínas que no han reaccionado, se añade el sustrato para peroxidasa.

Después se inhibe la reacción enzimática mediante la incorporación de solución inhibidora, que hace que la solución adquiera un color amarillo.

El color que aparece es proporcional a la concentración de antígenos específicos presentes en la muestra.

Los productos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus TRIO.

El resultado se expresa en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y lo del Cut-Off).

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Dado que ninguna prueba diagnóstica puede garantizar plenamente la ausencia de agentes infecciosos, el material debe considerarse potencialmente infeccioso. Todos los reactivos y las muestras deben manipularse con arreglo a las normas de seguridad que suelen aplicarse en el laboratorio.

Desecho de los residuos: las muestras, los calibradores y las tiras utilizadas se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, de acuerdo con las disposiciones normativas vigentes.

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Poner todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las

Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.

El uso del kit sólo es posible con una versión actualizada del software. Asegúrese de que el software instalado en el equipo coincida o tenga un release (Rel.) superior a lo que está indicado en la tabla publicada en el sitio (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

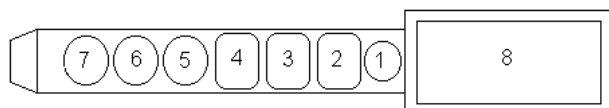
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
11. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 12 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 2 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con un anticuerpo monoclonal anti-H.pylori

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SISTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y H₂O₂ 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posición 3: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0.3 M

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: solución lista para el uso que contiene anticuerpos monoclonales anti-H.pylori marcados con peroxidasas y conservante.

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa la muestra sin diluir.

Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente, abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y **cerrar** presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 2 x 0.250 ml

Contenido: células inactivas de H. pylori diluido. Liofílico.

Uso: reconstituir con el volumen de Stool Diluent/Negative Control indicado en la etiqueta.

Esperar al menos 5 minutos sin agitar y mezclar por inversión sin que se forme espuma.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 3 x 0.250 ml

Contenido: células inactivas de H. pylori diluido. Liofílico.

Uso: reconstituir con el volumen de Stool Diluent/Negative Control indicado en la etiqueta.

Esperar al menos 5 minutos sin agitar y mezclar por inversión sin que se forme espuma.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

DILUYENTE DE MUESTRAS DE H. PYLORI EN HECES - CONTROL NEGATIVO

1 x 8 mL

Contenido: solución tampón lista para el uso y conservante.

Uso: diluyente para heces (véase el capítulo 8, Procedimiento).

Reconstituyente para calibrador y control positivo (véase CALIBRATOR y CONTROL +).

El diluyente también puede utilizarse como solución de control negativo.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- Equipo Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-1000 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada por medio del suero de control (ver capítulo 9, "Validación de la prueba").

La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la apertura y/o preparación.

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	1 día a 2/8 °C tras la reconstitución
CONTROL POSITIVO	1 día a 2/8 °C tras la reconstitución

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

El tipo de muestra consistente en heces debe manipularse siguiendo los procedimientos estándar de laboratorio.

Mantener las muestras a 2/8 °C y analizarlas en las 48 horas siguientes a su obtención. Cuando no sea posible analizarlas en 48 horas, guardarlas a -20 °C o a una temperatura más baja.

La congelación y descongelación repetida de las muestras debe limitarse, ya que esto puede provocar la degradación o proteólisis del antígeno y provocar la pérdida de actividad.

No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra.

8. PROCEDIMIENTO

- Preparar un tubo de dilución por cada muestra que se vaya a analizar. Se recomienda utilizar tubos de 1.5 mL. Añadir 500 µL de Stool Diluent/Negative Control a cada tubo.
- Muestras de heces normales:** utilizar un bastoncillo de madera o dispositivo de usar y tirar para transferir la muestra de heces al tubo. Depositar aproximadamente entre 0.1 y 0.15 g de muestra (del tamaño de un guisante) en 500 µL de Stool Diluent/Negative Control, hasta eliminar todo el material del recogedor.
Muestras de heces líquidas: transferir 100 µL a un tubo. Asegurarse de garantizar la resuspensión adecuada de las muestras líquidas.
- Mezclar la muestra de heces de manera exhaustiva con un vórtex durante 15 segundos.**
- Dejar los tubos en posición vertical durante 10 minutos.
- Centrifugar los tubos a 1000 g durante 30 segundos. Asegurarse de que el sobrenadante que se haya formado no contenga una cantidad considerable de partículas.
- Mantener las muestras diluidas a 2/8 °C hasta que se analicen.
- Abrir la bolsa (lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
- Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
- Dispensar 130 µL de la muestra que se va a analizar en el pocillo n°1. Utilizar un dispositivo para el calibrador cada vez que se cambie de lote.
- Introducir los dispositivos en el equipo Chorus TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual del Usuario del equipo

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el control positivo para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario realizar de nuevo la calibración. Los resultados previos se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus TRIO proporciona un resultado en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y el del Cut-Off).

La prueba del suero examinado se puede interpretar de la manera siguiente:

POSITIVO cuando el resultado es > 0.5

NEGATIVO cuando el resultado es ≤ 0.5

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescinda de otros indicadores relativos al mismo paciente.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

ATENCIÓN: la prueba Chorus Helicobacter pylori Ag (REF. 81063) puede realizarse de manera individual o simultánea con los productos Chorus Clostridium difficile GDH (REF. 81168) y Chorus Clostridium difficile A/B Toxins (REF. 81170). En caso contrario no se realizarán todas las pruebas programadas.

12. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 51 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	37	0	37
	-	0	14	14
	Total	37	14	51

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 1.0.

13. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO	
	Media (Index)	CV%
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Muestra	ENTRE ENSAYOS	
	Media (Index)	CV%
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

14. BIBLIOGRAFÍA

- M. J. Blaser . Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.
- P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of

- Helicobacter pylori infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
3. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
 4. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.
 5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006; 19(3): 449-490.
 6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Saverymuttu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? Journal of Medical Microbiology. 2004; 53: 623-627.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS Helicobacter pylori Ag

**Pour la détermination qualitative des antigènes
d'Helicobacter pylori dans les selles.**

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative des antigènes d'Helicobacter pylori dans les selles en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

En 1983, Warren et Marshall ont identifié, chez des patients souffrant de gastrite, une nouvelle bactérie pathogène à Gram négatif appelée Helicobacter pylori. Par la suite, plusieurs études ont été menées afin de clarifier la relation entre l'infection bactérienne et des pathologies gastriques chroniques. Il a été démontré que le pathogène est associé à l'ulcère peptique, à la gastrite chronique de type B et à la duodénite. Il a été démontré que, chez des patients souffrant de gastrite, l'élimination de la bactérie conduit à la guérison de la lésion anatomique.

Les procédures diagnostiques pour la détection de l'organisme prévoient normalement des techniques invasives (de gastroscopie) pour le prélèvement d'un échantillon de biopsie.

Le test pour la détermination des antigènes contenus dans les selles constitue une méthode alternative valable, non invasive. Le récent rapport de consensus de Maastricht 2-2000 recommande d'utiliser le test de détermination de l'antigène dans les selles pour étayer le diagnostic de l'Helicobacter pylori.

3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dispositif Chorus Helicobacter pylori Ag est prêt à l'usage pour la détermination des antigènes d'Helicobacter pylori présents dans les selles humaines, dans les appareils Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, c'est-à-dire un dosage immuno-enzymatique sur support solide).

Les anticorps monoclonaux de capture anti-H. pylori sont liés à la phase solide. L'incubation s'effectue avec les échantillons et avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-H. pylori, conjugués avec de la peroxydase de raifort : l'antigène spécifique se lie à l'anticorps monoclonal lié à la phase solide et au conjugué après une incubation. Après différents lavages pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on ajoute le substrat pour la peroxydase.

La réaction enzymatique est ensuite bloquée en ajoutant la solution de blocage qui fait virer la solution au jaune.

La coloration qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques présents dans l'échantillon.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs pour réaliser le test lorsqu'ils sont appliqués aux appareils Chorus TRIO.

Le résultat est exprimé en Indice – rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off.

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Étant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière doit être considérée comme étant potentiellement infectée. Tous les réactifs et les échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

Mise au rebut des résidus : les échantillons, les calibrateurs et les barrettes utilisés doivent être traités comme des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

13. Ne pas pipeter avec la bouche.
14. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
15. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'instrument Chorus TRIO.
16. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité.
17. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1 % minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
18. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+ 18-30 °C) et utiliser dans les 60 minutes.

23. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
24. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.

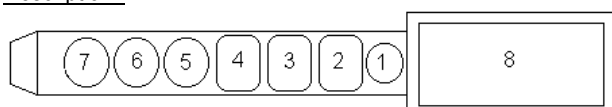
25. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
26. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
L'utilisation du kit est possible seulement avec une version mise à jour. S'assurer que le logiciel installé dans le dispositif correspond ou qu'il ait une version (Rel.) supérieure de celle reportée dans le tableau publié sur le site internet Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
27. S'assurer que l'instrument Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
28. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
29. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
30. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
31. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
32. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
33. **Contrôler que l'instrument a une connexion au Washing Buffer (Réf. 83606).**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations.

DD DISPOSITIFS 2 emballages contenant 6 dispositifs chacun

Description :



Position 8 : Espace disponible pour l'étiquette avec le code à barres

Position 7 : Vide

Position 6 : Puits de la microplaque

Sensibilisé avec un anticorps monoclonal anti-H. pylori

Position 5 : Puits de la microplaque

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine (à 0.26 mg/ml) et H₂O₂ à 0.01 % stabilisés dans un tampon citrate à 0.05 mol/l (pH 3.8).

Position 3 : SOLUTION DE BLOCAGE

Contenu : Solution d'acide sulfurique 0.3 M

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : solution prête à l'emploi contenant des anticorps monoclonaux anti-H. pylori marqués avec la peroxydase et le conservateur.

Position 1 : Puits vide

Dans lequel l'utilisateur doit distribuer l'échantillon non dilué.

Emploi : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, prélever les dispositifs nécessaires, et replacer les dispositifs non utilisés dans le sachet en plastique avec du

gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR 2 x 0.250 ml

Contenu : Cellules inactivées d'H. pylori diluée. Lyophile.

Utilisation: reconstituer avec le volume de Stool Diluent/Negative Control indiqué sur l'étiquette.

Attendre au moins 5 minutes sans agiter ; mélanger par inversion en évitant toute formation de mousse.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 3 x 0.250 ml

Contenu : Cellules inactivées d'H. pylori diluée. Lyophile.

Utilisation : reconstituer avec le volume de Stool Diluent/Negative Control indiqué sur l'étiquette.

Attendre au moins 5 minutes sans agiter ; mélanger par inversion en évitant toute formation de mousse.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

DILUANT SELLES H. PYLORI - CONTRÔLE NÉGATIF

1 x 8 ml

Contenu : Solution tampon prête à l'emploi et conservateur.

Utilisation : Diluant pour selles (voir chapitre 8 Procédure).

Reconstituant pour Calibrateur et Contrôle positif (voir CALIBRATOR et CONTROL +).

Le diluant peut également être utilisé comme solution de contrôle négatif.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrument Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-1000 µl
- Gants jetables
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à + 2-8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler l'exactitude du résultat en recourant au contrôle positif (voir paragraphe 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation :

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
CALIBRATEUR	1 jour à 2/8 °C après reconstitution
CONTRÔLE POSITIF	1 jour à 2/8 °C après reconstitution

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

Les échantillons sont des selles et sont manipulés conformément aux procédures standard de laboratoire.

Maintenir les échantillons à 2/8 °C et les tester dans les 48 heures qui suivent le prélèvement. S'il est impossible d'effectuer le test dans les 48 heures, maintenir les échantillons à -20 °C ou à une température inférieure.

Il est recommandé d'éviter des cycles répétés de congélation/décongélation des échantillons sous peine de provoquer la dégradation/protéolyse de l'antigène et d'entraîner une perte d'activité.

Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.

8. PROCÉDURE

1. Préparer un tube de dilution pour chaque échantillon à tester. Il est recommandé d'utiliser des tubes de 1.5 ml. Ajouter 500 µl de Stool Diluent/Negative control dans chaque tube.
2. **Échantillons normaux de selles** : utiliser un bâtonnet en bois ou une petite cuillère jetable pour transférer l'échantillon de selles dans le tube. Transférer de 0.1 à 0.15 g environ d'échantillon (approximativement de la taille d'un petit pois) dans les 500 µl de Stool Diluent/Negative control, en enlevant toute la matière fécale du collecteur.
Échantillons de selles liquides : transférer 100 µl d'échantillon dans le tube. S'assurer que les échantillons liquides sont remis en suspension de manière uniforme.
3. **Mélanger soigneusement l'échantillon de selles avec un vortex pendant 15 secondes.**
4. Laisser les tubes en position verticale pendant 10 minutes.
5. Centrifuger les tubes à 1 000 g pendant 30 secondes. S'assurer que le surnageant formé ne contient pas de matière particulaire en quantité appréciable.
6. Les échantillons dilués doivent être maintenus à 2/8 °C jusqu'à l'exécution du test.
7. Ouvrir le sachet (du côté avec la fermeture à pression), prélever le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet fermé après avoir été vidé de son air.
8. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
9. Distribuer 130 µl d'échantillon à analyser dans le puits n. 1 de chaque dispositif. Utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
10. Introduire les dispositifs dans l'appareil Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si requis) et le test conformément aux indications du manuel d'utilisation de l'appareil.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en suivant les indications contenues dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument signale que le contrôle présente une valeur non comprise dans la plage d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du contrôle n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus TRIO fournit le résultat en Indice (rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off).

Le test sur l'échantillon examiné peut être interprété de la manière suivante :

POSITIF quand le résultat est > 0.5

NÉGATIF quand le résultat est ≤ 0.5

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente ne négligeant pas d'autres indicateurs relatifs au même patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué conjointement avec des données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres enquêtes diagnostiques.

ATTENTION : l'exécution du test Chorus Helicobacter pylori Ag (RÉF 81063) peut être effectuée individuellement ou en concomitance uniquement avec les produits Chorus Clostridium difficile GDH (RÉF 81168) et Chorus Clostridium difficile A/B Toxins (RÉF 81170). Dans le cas contraire, tous les tests programmés ne seront pas effectués.

12. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 51 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

Les données de l'essai sont schématisées ci-après :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	37	0	37
	-	0	14	14
	Total	37	14	51

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 1.0.

13. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE	
	Moyenne (Index)	CV %
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Échantillon	INTER-SÉANCES	
	Moyenne (Index)	CV %
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (Index)	CV %	Moyenne (Index)	CV %
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

14. BIBLIOGRAPHIE

1. M. J. Blaser . Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.

2. P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
3. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
4. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.
5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006; 19(3): 449-490.
6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Saverymuttu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? Journal of Medical Microbiology. 2004; 53: 623-627.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italie





INSTRUÇÕES PARA O USO

CHORUS Helicobacter pylori Ag

Para a determinação qualitativa dos antígenos de Helicobacter pylori nas fezes.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa dos antígenos de Helicobacter pylori nas fezes com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

Em 1983, Warren e Marshall identificaram, em pacientes com gastrite, uma nova bactéria gram-negativa designada Helicobacter pylori. Foram realizados vários estudos para esclarecer a relação entre infecção bacteriana e doenças gástricas crônicas. Foi demonstrado que a bactéria está associada à úlcera péptica, gastrite crônica do tipo B e duodenite. Demonstrou-se que, em doentes com gastrite, a eliminação da bactéria leva ao tratamento da lesão anatômica. Os procedimentos de diagnóstico destinados a revelar o organismo envolvem normalmente técnicas invasivas (gastroscópicas) para a colheita de amostras para biopsia.

O teste para a determinação de antígenos presentes nas fezes é um método alternativo válido e não invasivo. O recente relatório Maastricht 2-2000 Consensus Report recomenda o uso do teste de antígenos nas fezes para suportar o diagnóstico de H. pylori.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Helicobacter pylori Ag está pronto para ser utilizado na determinação dos antígenos de Helicobacter pylori presentes nas fezes humanas, nos instrumentos Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Os anticorpos monoclonais anti-H.pylori são ligados à fase sólida. A incubação é realizada com as amostras e o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti-H.pylori, conjugados com peroxidase de rábano: o antígeno específico liga-se ao anticorpo monoclonal ligado à fase sólida e ao conjugado após incubação. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, adiciona-se o substrato para a peroxidase.

A reação enzimática é posteriormente bloqueada pela adição da Solução Bloqueadora devido à qual a solução fica amarela. A cor que se desenvolve é proporcional à concentração de antígenos específicos presentes na amostra examinada.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para executar o teste, quando aplicados aos instrumentos Chorus TRIO.

O resultado é expresso em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, o material deve ser considerado potencialmente infectado. Todos os reagentes e amostras devem ser manipulados de acordo com as normas de segurança normalmente adotadas em laboratório.

Eliminação de resíduos: as amostras, os calibradores e as tiras usadas devem ser tratadas como resíduos infectados e, portanto, devem ser eliminados de acordo com as disposições de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma proteção para os olhos quando manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as ao inserir os dispositivos no instrumento Chorus TRIO.
4. Em mérito às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança.
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afectada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área.

Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado.

Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem em temperatura ambiente (18-30°C) e utilizar no prazo de 60 minutos.

1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentam corpos estranhos no poço de reação.

4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.

O kit pode ser utilizado somente com uma versão atualizada de software. Certificar-se de que a versão (Rel.) do software instalado no instrumento coincida ou é superior à referida na tabela publicada no site da Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

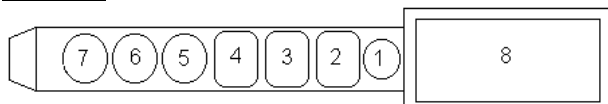
5. Verificar se o instrumento Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
11. **Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 12 determinações

DD DISPOSITIVOS 2 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço livre para rótulo com código de barras

Posição 7: livre

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com um anticorpo monoclonal anti-H.pylori

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL e H₂O₂ 0.01% estabilizados em tampão citrato 0.05 mol/L (pH 3.8).

Posição 3: SOLUÇÃO BLOQUEADORA

Conteúdo: Solução de ácido sulfúrico a 0.3M

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: solução pronta a usar que contém anticorpos monoclonais anti-H.pylori marcados com peroxidase e conservante.

Posição 1: POÇO VAZIO

No qual o utilizador deve dispensar a amostra não diluída.

Uso: estabilizar um pacote em temperatura ambiente, abrir o pacote, retirar os dispositivos necessários; colocar os restantes no pacote com o gel de sílica, esvaziar o ar e **fechar** o pacote premindo o fecho. Conservar entre 2 e 8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 2 x 0.250 mL

Conteúdo: Células inativas de H. pylori diluído. Liófilo.

Utilização: reconstituir com o volume de Stool Diluent/Negative Control indicado no rótulo.

Aguardar pelo menos 5 minutos sem agitar; misturar por inversão evitando a formação de espuma.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 3 x 0.250 ml

Conteúdo: Células inativas de H. pylori diluído. Liófilo.

Utilização: reconstituir com o volume de Stool Diluent/Negative Control indicado no rótulo.

Aguardar pelo menos 5 minutos sem agitar; misturar por inversão evitando a formação de espuma.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

DILUENTE DE FEZES H. PYLORI - CONTROLO NEGATIVO 1 x 8 ml

Conteúdo: Solução tampão pronta a usar e conservante.

Utilização: Diluente para fezes (ver capítulo 8, procedimento).

Reconstituente para Calibrador e Controlo Positivo (ver CALIBRADOR e CONTROLO +).

O diluente também pode ser utilizado como solução de controlo negativo.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumento Chorus TRIO
- Água destilada ou deionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 1000 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8°C. Em caso de temperatura de conservação errada, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do controlo positivo (consultar o capítulo 9 - Validação do teste).

A data de validade está impressa em cada componente e no rótulo externo da embalagem.

Os reagentes têm uma estabilidade limitada depois da abertura e/ou da preparação:

DISPOSITIVOS	8 semanas entre 2 e 8°C
CALIBRADOR	1 dia entre 2 °C e 8 °C após a reconstituição
CONTROLO POSITIVO	1 dia entre 2 °C e 8 °C após a reconstituição

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra consiste em fezes manipulada segundo estabelecido nos procedimentos normalizados de laboratório. Manter as amostras entre 2 °C e 8 °C e testá-las dentro de 48 horas após a colheita. Se o teste não puder ser realizado

dentro de 48 horas, manter as amostras a uma temperatura de -20 °C ou inferior.

O congelamento e o descongelamento repetidos das amostras devem ser reduzidos porque podem causar degradação/proteólise do antígeno e causar perda de atividade.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Preparar um tubo de diluição para cada amostra a ser testada. Recomendam-se tubos de 1,5 ml. Adicionar 500 µl de Stool Diluent/Negative control em cada tubo.
2. **Amostras de fezes normais:** utilizar uma vareta de madeira ou uma colherinha descartável para transferir a amostra de fezes para dentro do tubo. Transferir aproximadamente entre 0,1 a 0,15 g de amostra (aproximadamente o tamanho de uma ervilha pequena) para os 500 µl de Stool Diluent/Negative control, retirando todo o material fecal do instrumento de recolha.
Amostras de fezes líquidas: transferir 100 µl de amostra para o tubo. Certificar-se de que as amostras líquidas são ressuspensas uniformemente.
3. **Misturar bem a amostra de fezes com um agitador vortex durante 15 segundos.**
4. Deixar os tubos na posição vertical durante 10 minutos.
5. Centrifugar os tubos a 1000 g durante 30 segundos. Certifique-se de que o sobrenadante formado não contém uma quantidade considerável de material particulado.
6. Manter as amostras diluídas entre 2 °C e 8 °C até o teste ser realizado.
7. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para realizar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após a expulsão do ar.
8. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
9. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo 130 µl de amostra a analisar. A cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.
10. Introduzir os dispositivos no instrumento Chorus TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste como indicado no Manual do Utilizador do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o controlo positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações no Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo continuar fora do intervalo de aceitação, contactar o Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus TRIO fornece um resultado em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

O teste na amostra examinada pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 0.5

NEGATIVO quando o resultado for ≤ 0.5

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação atenta independentemente dos outros indicadores relativos ao mesmo paciente.

O teste, de fato, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo e o resultado do teste deve ser sempre avaliado juntamente com os dados provenientes da anamnese do paciente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

ATENÇÃO: O teste Chorus *Helicobacter pylori* Ag (REF 81063) pode ser efetuado individualmente ou simultaneamente apenas com os produtos Chorus *Clostridium difficile* GDH (REF 81168) e Chorus *Clostridium difficile* A/B Toxins (REF 81170). Caso contrário, todos os testes programados não serão realizados.

12. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 51 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado. Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
	Diesse	37	0	37
		0	14	14
	Total	37	14	51

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Percent Negative Agreement (~Especificidade Diagnóstica):

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Coeficiente de Cohen) de 1.0.

13. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio	
	Média (Index)	CV%
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Amostra	Entre Ensaios	
	Média (Index)	CV%
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (Index)	CV%	Média (Index)	CV%
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

14. BIBLIOGRAFIA

1. M. J. Blaser. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.
2. P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
3. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
4. P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.
5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2006; 19(3): 449-490.
6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Saverymuttu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of Helicobacter pylori infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? Journal of Medical Microbiology. 2004; 53: 623-627.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS
Helicobacter pylori Ag

Pentru determinarea calitativă a antigenilor de Helicobacter pylori în fecale.

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatică pentru determinarea calitativă a antigenilor de Helicobacter pylori în fecale, folosind un dispozitiv de unică folosință pe instrumentele Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

În 1983, Warren și Marshall au identificat, la pacienții cu gastrită, un nou patogen bacterian gram-negativ denumit Helicobacter pylori. Ulterior s-au efectuat diverse studii pentru a clarifica raportul dintre infecția bacteriană și patologiile gastrice cronice. S-a demonstrat că patogenul este asociat cu ulcerul peptic, gastrita cronică de tip B și duodenita. S-a demonstrat că, la pacienții cu gastrită, eliminarea bacteriei determină vindecarea leziunii anatomice.

Procedurile de diagnosticare menite să depisteze organismul presupun, de obicei, tehnici invazive (gastroscopii) pentru prelevarea unei probe biotice.

Testul pentru determinarea antigenilor din fecale reprezintă o metodă alternativă validă și neinvazivă. Recentul Maastricht 2-2000 Consensus Report recomandă utilizarea testului pentru determinarea antigenului în fecale ca mijloc auxiliar pentru diagnosticarea H. pylori.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus Helicobacter pylori Ag este gata de utilizare pentru detectia antigenilor de Helicobacter pylori prezenți în fecale umane, în instrumentele Chorus TRIO.

Testul se bazează pe principiul ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Anticorpii monoclonali de captură anti-H.pylori sunt legați de faza solidă. Se efectuează incubarea cu probele și cu conjugatul format din anticorpi monoclonali anti-H.pylori conjugați cu peroxidază din hrean: antigenul specific se leagă de anticorpii monoclonali legați de faza solidă și de conjugat ca urmare a incubării. După spălări pentru eliminarea proteinelor care nu au reacționat, se adaugă substratul pentru peroxidază. Reacția enzimatică este blocată ulterior prin adăugarea soluției blocante care modifică culoarea soluției în galben.

Culoarea care se obține este proporțională cu concentrația de antigeni specifici prezenți în probă.

Dispozitivele de unică folosință contin toți reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în Index (OD proba/ OD cut-off).

4. ATENȚIONARI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE ÎN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

Deoarece niciun test de diagnosticare nu poate oferi o garanție completă privind absența agenților infecțioși, materialul trebuie să fie considerat potențial infectat. Toți reactivii și toate probele trebuie manipulate în conformitate cu normele de siguranță adoptate de obicei în laborator.

Îndepărtarea deșeurilor: probele, calibratorii și stripurile utilizate trebuie tratate ca fiind reziduuri infectioase și eliminate conform legii.

Informații cu privire la Sanătate și Siguranță

1. Nu pipetați cu gura.
2. În timpul manevrării speciimenelor, purtați măști de unică folosință și ochelari de protecție.
3. Spălați-vă temeinic pe mâini după poziționarea dispozitivelor în instrumentul Chorus TRIO.
4. Consultați materialul corespunzător - Fișa Tehnică de Securitate pentru toate informațiile legate de securitatea reactivilor continuți de kit.
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide ar trebui decontaminate prin adăugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu în concentrație de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficientă.
6. Picăturile de substanțe potențial infectioase trebuie îndepărtate imediat cu prosop de hârtie absorbantă, și, înainte de a continua lucrul, zona contaminată trebuie tamponată, de exemplu, cu 1% soluție de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone în care s-au varsat substanțe continând acid, cu excepția cazului în care acea zonă a fost mai întâi stearsă și uscată. Materialele utilizate pentru curățarea picăturilor, inclusiv mâinile, trebuie îndepărtate ca fiind deșeuri potențial bio-periculoase. Nu autoclavați materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Măsuri de Precauție Analitice

Înainte de utilizare, lăsați dispozitivele să ajungă la temperatura camerei (18-30°C); utilizați-le în decurs de 60 de minute.

1. **Îndepărtați dispozitivele al căror substrat (godeul 4) este de colorație albastră.**
2. La adăugarea probei în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fundul godeului.
3. Verificați ca reactivii să existe în dispozitiv, și ca dispozitivul să nu fie deteriorat; nu utilizați dispozitive cărora le lipsește vreun reactiv și/sau care, la inspecția vizuală, prezintă corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii împreună cu instrumentul Chorus TRIO; instrucțiunile de utilizare trebuie urmate cu atenție și trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
Utilizarea kit-ului este posibilă numai cu versiunea actualizată a programului software. Asigurați-vă ca

programul software instalat pe instrument să coincidă sau să aibă o versiune Release (Rel.) superioară celei indicate în tabelul publicat pe site-ul Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

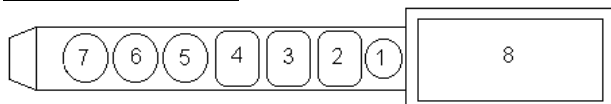
5. Verificați ca instrumentul Chorus TRIO să fie setat în mod corect (vezi Manualul de Operare).
6. Nu deteriorați codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului să îl citească în mod corect.
7. Pentru depozitarea probelor, evitați utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual în instrument (vezi Manualul de Operare).
9. În timpul depozitării și utilizării, nu expuneți dispozitivele la lumina puternică sau la vapori de hipoclorit.
10. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
11. **Asigurați-vă ca instrumentul este conectat la Washing Buffer (Ref. 83606).**

5. COMPONENTA KITULUI ȘI PREGĂTIREA REACTIVILOR

Kitul conține suficiente dispozitive și substanțe pentru efectuarea a 12 de determinări.

DD DISPOZITIVE 2 pachete, fiecare conținând 6 dispozitive.

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spațiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Captusit cu un anticorp monoclonal anti-H.pylori

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

Conținut: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL și H₂O₂ 0.01% stabilizat în 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8).

Pozitia 3: SOLUȚIE BLOCANTĂ

Conținut: Soluție de acid sulfuric 0.3 M

Pozitia 2: CONJUGAT

Conținut: soluție gata de utilizare ce conține anticorpi monoclonali anti-H.pylori marcați cu peroxidază și conservant.

Pozitia 1: GODEU GOL

Unde trebuie utilizatorul să arunce proba nediluată.

Utilizare: lăsați un pachet să ajungă la temperatura camerei, deschideți pachetul și scoateți dispozitivele necesare; repuneți-le pe celelalte în punga împreună cu pliculețul cu silica gel, scoateți aerul din punga și **sigilați** prin presarea sistemului de închidere. Pastrați la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 2 x 0.250 ml

Conținut: Celule inactivate de H. pylori diluat. Liofil.

Utilizare: reconstituiți cu volumul de Stool Diluent/Negative Control indicat pe etichetă.

Așteptați cel puțin 5 minute fără a agita; amestecați pentru inversare, evitând formarea spumei.

CONTROL + CONTROL POZITIV 3 x 0.250 ml

Conținut: Celule inactivate de H. pylori diluat. Liofil.

Utilizare: reconstituiți cu volumul de Stool Diluent/Negative control indicat pe etichetă.

Așteptați cel puțin 5 minute fără a agita; amestecați pentru inversare, evitând formarea spumei.

STOOL DILUENT/NEGATIVE CONTROL

DILUANT FECAL H. PYLORI – CONTROL NEGATIV

1 x 8 ml

Conținut: Soluție tampon gata de utilizare și conservant.

Utilizare: Diluant pentru fecale (a se vedea capitolul 8 Procedură).

Element de reconstituire pentru calibrator și control pozitiv (a se vedea CALIBRATOR și CONTROL +).

Se poate utiliza diluantul și ca soluție de control negativ.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumentul Chorus TRIO
- Apa distilată sau deionizată
- Sticlărie obișnuită de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exactă a 50-1000 µl de soluție
- Manusi de unică folosință
- Soluție de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectioase

6. PASTRAREA ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrați la 2/8°C. În cazul păstrării la o temperatură necorespunzătoare, calibrarea trebuie repetată, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizând controlul pozitiv (a se vedea secțiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimată pe fiecare componentă și pe eticheta kitului.

După deschidere, stabilitatea reactivilor este limitată:

DISPOZITIVELE	8 săptămâni la 2/8°C
CALIBRATORUL	1 zi la 2/8 °C după reconstituire
CONTROLUL POZITIV	1 zi la 2/8 °C după reconstituire

7. RECOLTAREA PROBEI ȘI DEPOZITAREA

Tipul de probă este reprezentat de fecale manipulate în conformitate cu cerințele din procedurile standard de laborator. Păstrați probele la o temperatură de 2/8 °C și testați-le în decurs de 48 ore de la prelevare. Dacă testul nu poate fi efectuat în decurs de 48 ore, păstrați probele la o temperatură de -20 °C sau mai scăzută.

Congelările și decongelările repetate ale probelor trebuie reduse, deoarece pot cauza degradarea/proteoliza antigenului și pierderea activității.

Evitați utilizarea de congelatoare cu sistem automat de decongelare pentru păstrarea probelor.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Pregătiți un tub de diluare pentru fiecare probă de testat. Se recomandă utilizarea tuburilor de 1.5 ml.

Adăugați 500 µl de Stool Diluent/Negative control în fiecare tub.

- Probe de fecale normale:** utilizați un bețișor de lemn sau o linguriță de unică folosință pentru a transfera proba de fecale în tub. Transferați aproximativ 0.1 – 0.15 g de probă (orientativ, cât un bob de mazăre) în 500 µl de Stool Diluent/Negative control, îndepărtând toată materia fecală din colector.

Probe de fecale lichide: transferați în tub 100 µl din probă. Asigurați-vă că probele lichide sunt reomogenizate.

- Amestecați bine proba de fecale cu o centrifugă timp de 15 secunde.**
- Lăsați tuburile în poziție verticală timp de 10 minute.
- Centrifugați tuburile la 1.000 g timp de 30 de secunde. Asigurați-vă că supernatantul format nu conține o cantitate considerabilă de material particulat.
- Păstrați probele diluate la o temperatură de 2/8 °C până la executarea testului.
- Deschideți plicul (latura pe care se află elementul de închidere prin apăsare), luați un număr de dispozitive necesar pentru a efectua examinările și păstrați-le pe celelalte închizând la loc plicul după ce scoateți aerul din interior.
- Controlați vizual starea dispozitivului conform cu indicațiile din capitolul 4 Avertismente analitice.
- Distribuiți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv 130 µl din proba de analizat. La fiecare schimbare a lotului, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.
- Introduceți dispozitivele în instrumentul Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesară) și testul conform instrucțiunilor din Manualul de utilizare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați controlul pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatului obținut, procesându-l conform instrucțiunilor din Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul indică un control cu o valoare în afara limitei admisibile, trebuie să refaceți calibrarea. Rezultatele anterioare sunt corectate automat.

Dacă rezultatul controlului este în continuare în afara intervalului admis, contactați Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus TRIO exprima rezultatele în Index (OD proba/ OD cut-off)

Testul probei examinate poate fi interpretat după cum urmează:

POZITIV: când rezultatul este > 0.5

NEGATIV: când rezultatul este ≤ 0.5

11. LIMITARI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă care trebuie să ia în considerare alți indicatori referitori la pacient.

Testul, într-adevăr, nu poate fi folosit ca unică metodă pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate în

raport cu informația disponibilă din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

ATENȚIE: executarea testului (REF 81063) poate fi efectuată doar în mod separat sau simultan exclusiv cu produsele Chorus Clostridium difficile GDH (REF 81168) și Chorus Clostridium difficile A/B Toxins (REF 81170). În caz contrar, toate testele programate nu vor fi efectuate.

12. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 51 probe cu kitul Diesse și cu un alt kit disponibil pe piață.

Datele sunt rezumate în tabelul următor:

		Referința		
		+	-	Total
		37	0	37
Diesse	+	37	0	37
	-	0	14	14
Total		37	14	51

Procentajul Acordului Pozitiv (~Sensibilitatea Diagnosticului):

100% CI_{95%}: 90.6-99.9

Procentajul Acordului Negativ (~Specificitatea Diagnosticului):

100% CI_{95%}: 78.4-99.7

Acordul dintre cele două metode este excelent cu Cohen's Kappa de 1.0.

13. PRECIZIA ȘI REPETABILITATEA

Proba	Precizia în cadrul ciclului de rulare	
	Media (Index)	CV%
1	2.5	5.2
2	1.6	6.9
3	0.2	5.0

Proba	Precizia între ciclurile de rulare	
	Media (Index)	CV%
1	2.5	6.8
2	1.4	11.4
3	0.2	5.0

Proba	Precizia între loturi		Precizia între instrumente	
	Media (Index)	CV%	Media (Index)	CV%
1	2.4	6.3	2.4	7.5
2	1.3	12.3	1.5	12.0
3	0.2	10.0	0.2	5.0

14. BIBLIOGRAFIE

- M. J. Blaser. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. EMBO Reports. 2006; 7(10): 956-60.
- P. Bytzer, J.F. Dahlerup, J.R. Eriksen, D.E. Jarbøl, S. Rosenstock, S. Wildt. Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection. Danish Medical Bulletin. 2011; 58(4): C4271.
- P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16: 167-80.
- P. Malfertheiner, F. Megraud, O. Morain. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection. The Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007; 56: 772-781.

5. J.G. Kusters, A.H.M. van Vilet, E.J. Kuipers. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006; 19(3): 449-490.
6. S.A. Chisholm, C.L. Watson, E.L. Teare, S. Saverymuttu, R.J. Owen. Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? *Journal of Medical Microbiology*. 2004; 53: 623-627.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy



	EN Date of manufacture ES Fecha de fabricación IT Data di fabbricazione	FR Date de fabrication GR Ημερομηνία Παραγωγής PT Data de fabrico
	EN Use By ES Fecha de caducidad IT Utilizzare entro	FR Utiliser jusque GR Ημερομηνία λήξης PT Prazo de validade
	EN Do not reuse ES No reutilizar IT Non riutilizzare	FR Ne pas réutiliser GR Μην κάνετε επαναληπτική χρήση PT Não reutilizar
	EN Caution, consult accompanying documents ES Atención, ver instrucciones de uso IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	FR Attention voir notice d'instructions GR Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα PT Atenção, consulte a documentação incluída
	EN Manufacturer ES Fabricante IT Fabbricante	FR Fabricant GR Κατασκευαστής PT Fabricante
	EN Contains sufficient for <n> tests ES Contenido suficiente para <n> ensayos IT Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR Contenu suffisant pour "n" tests GR Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EN Temperature limitation ES Límite de temperatura IT Limiti di temperatura	FR Limites de température GR Περιορισμοί θερμοκρασίας PT Limites de temperatura
	EN Consult Instructions for Use ES Consulte las instrucciones de uso IT Consultare le istruzioni per l'uso	FR Consulter les instructions d'utilisation GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης PT Consulte as instruções de utilização
	EN Biological risks ES Riesgo biológico IT Rischio biologico	FR Risques biologiques GR Βιολογικοί κίνδυνοι PT Risco biológico
	EN Catalogue number ES Número de catálogo IT Numero di catalogo	FR Référence du catalogue GR Αριθμός καταλόγου PT Referência de catálogo
	EN In Vitro Diagnostic Medical Device ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro	FR Dispositif médical de diagnostic in vitro GR In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EN Batch code ES Código de lote IT Codice del lotto	FR Code du lot GR Αριθμός Παρτίδας PT Código do lote