



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS HELICOBACTER PYLORI IgA

REF 81062

(Español)

1. INDICACIONES

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS IgA ANTI HELICOBACTER PYLORI EN SUERO HUMANO CON DISPOSITIVO DESECHABLE APLICADO A LOS EQUIPOS CHORUS

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST

En 1983, Warren y Marshall identificaron, en pacientes afectados por gastritis, un nuevo patógeno bacterial gram-negativo llamado Helicobacter pylori. Se hicieron varios estudios para evidenciar la relación entre la infección bacteriana y patologías gástricas crónicas. Se demostró que el patógeno se asociaba a la úlcera péptica, a la gastritis crónica de tipo B, y a la duodenitis y además se observó que, en pacientes afectados por gastritis, la eliminación de la bacteria conducía a la curación de la lesión anatómica.

Los procedimientos de diagnóstico dirigidos a la detección del organismo prevén normalmente métodos invasivos (gastroscópicos) para la recolección de una muestra biótica.

Se observa de todas formas en el paciente infectado, una respuesta inmune específica. El test serológico representa por eso un método alternativo válido con respecto a la técnica invasiva biótica. Los niveles de las IgG aumentan durante el curso de la infección y se mantienen constantes en el tiempo hasta que la infección no sea eliminada. La eficacia de la terapia antimicrobiana puede por eso ser monitorizada a través de las modificaciones en los niveles de los anticuerpos específicos.

La determinación de las IgA es complementaria a la de las IgG. Ya que en algunos casos la concentración de las IgA en los pacientes tratados disminuye más rápidamente con respecto a las IgG, puede ayudar en el seguimiento de los pacientes. Por motivos desconocidos, alrededor del 2% de sueros son positivos sólo en IgA.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

El antígeno está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no han reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto de anticuerpos monoclonales humanos IgA marcados con peroxidasa.

El conjugado que no se ha unido es eliminado por lavados y se añade el sustrato peroxidasa.

La densidad del color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra de suero.

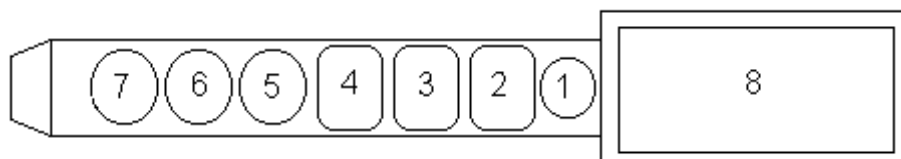
Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para ejecutar el test cuando aplicados a los equipos Chorus.

4. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

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



Descripción:

Posición 8: espacio libre para etiquetas con códigos de barra

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA SENSIBILIZADO con antígeno Helicobacter Pylori.

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA no sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

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

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución de proteínas conteniendo fenol al 0.05% y Bronidox 0.02% y un marcador para revelar la presencia de suero.

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgA humanos marcados con peroxidasa, en una solución fosfato tamponada con fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%.

Posición 1: POCILLO LIBRE donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.175 mL

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos, con Proclin. y Gentamicin, **líquido, listo para su uso.**

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.425 mL

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos, con Proclin. y Gentamicin, **líquido, listo para su uso.**

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- WASHING BUFFER [REF] 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF] 83604 – 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF] 83607
- Agua Destilada u desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer volúmenes de 50-200 µl
- Guantes de un solo uso
- Solución de hipoclorito del sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

5. 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 mediante suero de control (ver capítulo 9 validación del test)

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 abertura y/o de la preparación:

DISPOSITIVOS	8 SEMANAS 2/8°C
CALIBRADOR	8 SEMANAS 2/8°C
CONTROL POSITIVO	8 SEMANAS 2/8°C

6. PRECAUCIONES DE USO

SOLAMENTE PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Cuidado:

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido probados y dieron resultados negativos en las pruebas aprobadas por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una completa garantía sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infecto. Todos los materiales de origen humano tienen que manejarse según las prácticas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

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

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manipular las muestras. Lavar las manos a fondo después de colocar los dispositivos en el equipo CHORUS.

2. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:

- a) El conjugado contiene fenol
- b) El sustrato es ácido

Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante.

3. 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.
4. El vertido 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 1,0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. 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 dispositivos 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 en los que falte algún reactivo.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario Chorus.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
8. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
9. El uso de muestras altamente hemolizadas, o que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
10. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga cuerpos extraños.
11. Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
12. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio. El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C. La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces y no deben ser almacenadas en congeladores autodescongelantes. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos. No utilizar muestras muy lipémicas, ictericas, hemolizadas o contaminadas.

El test no se puede aplicar a plasma humano.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 6 Precauciones Analíticas puntos 1 y 8.
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo nº1 de cada dispositivo, por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario Chorus.

9. VALIDACIÓN DEL TEST

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del manual del usuario del equipo. Si el equipo comunica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario ejecutar nueva calibración. Los resultados antecedentes serán corregidos automáticamente. Si el resultado del suero de 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 provee el resultado en INDEX (relación entre el valor de la D.O. de la muestra y lo del Cut-off) que puede ser empleado como medida cuantitativa por siendo proporcional a la cantidad de IgA específicas.

La muestra se considera:

Positivo: si el Index es > 1.2 .

Negativo: si el Index es < 0.8 .

Dudoso: para todos los valores entre 0.8 y 1.2.

En caso de resultado dudoso, se aconseja repetir la prueba.

Si el resultado continúa siendo dudoso, tomar una nueva muestra de sangre después de 1/2semanas.

11. LIMITACIONES

Sueros recogidos durante la fase aguda precoz de la infección podrían resultar negativos con esta técnica.

Sueros fuertemente lipémicos, hemolizados o inactivados con calor, pueden dar lugar a resultados falsos y no deberían ser utilizados.

Como para todos los tests serológicos, el resultado debe ser de todas formas evaluado junto con otros datos clínicos y de diagnóstico.

12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

La especificidad analítica del kit H. Pylori IgA ha sido evaluada con un test de inhibición. A las muestras de suero se añadieron *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni* e *E. coli*. No se observaron diferencias entre las muestras de referencia y aquellas que contenían los antígenos descritos anteriormente. Por lo tanto se concluye que el test examinado es específico para los anticuerpos IgA anti-*Helicobacter pylori*.

13. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICAS

Tabla 1

		REFERENCIA	
		+	-
		19	1
DIESSE	+		
	-	2	41

Sensibilidad 90% (CI 95%: 71–97)

Especificidad 98%(CI 95%: 88–100)

14. REPRODUCIBILIDAD

Tabla 2 Precisión intra-ensayo

	Número de réplicas	Media Index	Desv. Estándar	CV%
Lot no. 023	9	3.2	0.24	8
Lot no. 024	9	2.9	0.22	8
Lot no. 025	9	3.1	0.40	13

Tabla 3 Reproducibilidad entre ensayos y entre lotes

Muestra	Media Index			Media	Desv. Estándar	CV%
	Lot 023	Lot 024	Lot 025			
PYA 1	0.4	0.3	0.3	0.3	0.06	20
PYA 2	1.2	1.2	1.2	1.2	0.00	-
PYA 3	2.7	2.8	2.8	2.8	0.06	2

15. BIBLIOGRAFIA

1. Marshall B.J. and Warren J.R.: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet i, 1311 (1984).
2. Jones D.M., Lessels A.M., Eldridge J.: *Campylobacter*-like organisms on the gastric mucosa: culture, histological and serological studies. J. Clin. Pathol. 37: 1002 (1984).
3. Blaser M.J.: *H. pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. J. Inf. Dis. 161: 626 (1990).
4. Valle J., Seppä, L., K., Sipponen P., Kasunen T.U.: Disappearance of gastritis after eradication of *H. pylori*: a morphometric study. Scand. J. Gastroenterology 26: 1057 (1991).
5. G.B. Wisdom: Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem. 22: 1243 (1976).



NOTICE D'UTILISATION

CHORUS HELICOBACTER PYLORI IgA

REF 81062

(Français)

1. UTILISATION

DETERMINATION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgA ANTI-HELICOBACTER PYLORI DANS LE SERUM HUMAIN EN UTILISANT UN DISPOSITIF MONO USAGE APPLIQUE AUX INSTRUMENTS CHORUS

2. INTRODUCTION

En 1983, Warren et Marshall découvrirent un nouvel agent pathogène bactérien gram-négatif, appelé *Helicobacter pylori*, chez les patients atteints de gastrite. Ensuite, plusieurs études ont été effectuées dans le but d'éclairer le rapport entre l'infection bactérienne et les pathologies gastriques chroniques. On a démontré que cet agent pathogène est associé dans l'ulcère peptique de type B, la gastrite chronique, la dyspepsie non ulcéreuse et la duodénite. On a montré que la rechute, chez les patients atteints de gastrite, est associée à l'infection par *H. pylori*, alors que l'élimination de la bactérie réduit l'incidence de la rechute.

Les procédés diagnostiques utilisés pour la détermination de l'agent pathogène prévoient généralement des techniques invasives (gastroscopie) pour le prélèvement d'une biopsie.

Il est possible d'observer, chez le patient atteint, une réponse immunologique spécifique, et le test sérologique représente donc une méthode alternative valide par rapport aux techniques invasives habituelles. Les niveaux des IgG augmentent en cours d'infection et ils diminuent graduellement dans le temps par la suite. L'efficacité de la thérapie antibactérienne peut être contrôlée à travers l'évolution du niveau des anticorps spécifiques. La détermination des IgA est complémentaire à celle des IgG. Puisque la concentration des IgA diminue quelquefois plus rapidement que celle des IgG dans les sujets traités, l'observation de ce paramètre peut être utile. Pour une raison inconnue, 2% des sérums sont positifs seulement aux IgA.

3. PRINCIPE

Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay). L'antigène est lié à la phase solide. A travers l'incubation avec le sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène. Après des lavages pour éliminer les protéines qui ne se sont pas liés, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-IgA humaines marqués à la peroxydase.

On élimine le conjugué qui ne s'est pas lié et on ajoute le substrat. La couleur qui se produit est proportionnelle à la concentration en anticorps spécifiques dans le sérum en examen.

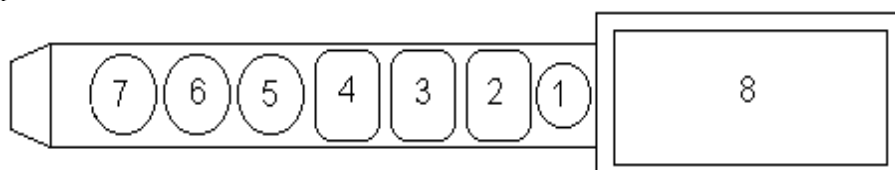
Les dispositifs à jeter contiennent tous les réactifs pour effectuer le test appliqué aux instruments Chorus.

4. CONTENU DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Un kit permet de réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 confections contenant 6 dispositifs chacune.

Usage: **Équilibrer un sachet à température ambiante**, découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les autres non utilisées dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8°C.



Description:

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

Position 7: vide

Position 6: PUIITS DE LA MICROPLAQUE sensibilisé avec l'antigène *Helicobacter pylori*.

Position 5: PUIITS DE LA MICROPLAQUE non sensibilisé