



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/>)

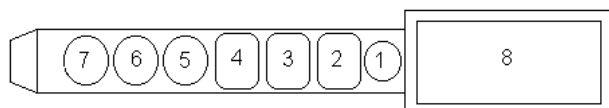
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los 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

