



## DIAQUICK kazeta H. pylori stolice

Rychlý test pro kvalitativní detekci antigenu *Helikobakteru pylori* ve vzorcích lidské stolice

### REF

#### Obsah

- Z08090CE** - 20 testů, samostatně zabalených ve fóliových sáčcích (20 x REF Z08090B)  
 - 20 odběrových zkumavek, každá naplněna 2mL pufru  
 - 1 příbalový leták
- Z08091CE** - 5 testů, samostatně zabalených ve fóliových sáčcích (5 x REF Z08090B)  
 - 5 odběrových zkumavek, každá naplněna 2mL pufru  
 - 1 příbalový leták

#### Pouze pro profesionální in vitro použití

### OBEČNÉ INFORMACE

<b>Metoda</b>	Imunochromatografické detekce antigenu
<b>Trvanlivost</b>	18 měsíců od data výroby
<b>Skladování</b>	2-30 °C
<b>Vzorek</b>	Čerstvé vzorky lidské stolice
<b>Výsledek</b>	Po 15 minutách při pokojové teplotě

### ÚČEL POUŽITÍ

DIAQUICK kazeta H. pylori stolice je imunochromatografická skríníngová analýza pro kvalitativní stanovení antigenu *Helikobakter pylori* (*H. pylori*) ve vzorcích lidské stolice. Je určena pro profesionální použití k pomoci při diagnóze infekce H. pylori u pacientů s gastrointestinálními symptomy. Tato metoda poskytuje pouze předběžný výsledek. Pro další vyhodnocení výsledku testu je potřebné zapojit klinické zkušenosti a profesionální posouzení.

### DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM

*Helikobakter pylori* (*H. pylori*) je gramnegativní, mikroaerofilní bakterie spirálovitého tvaru, která infikuje různé oblasti žaludku a duodena. Je hlavním etiologickým agens žaludečního vředu, gastritidy, duodenitidy a je klasifikován podle světové zdravotnické organizace (WHO) jako karcinogen třídy I pro rakovinu žaludku a MALT lymfom. Bakterie se vyskytuje po celém světě a může se lehce vyskytovat i u lidí nevykazujících jakékoli příznaky.

*H. pylori* je izolován v kultivačním médiu a vyhodnocován pomocí mikroskopie po barvení nebo je detekován ureázovým testem. Obě tyto techniky jsou zdlouhavé na implementaci a jejich citlivost a specifita ještě nebyla prokázána. Imunochromatografické techniky (rychlé) pro detekci antigenu *H. pylori* značně vyřešily tyto problémy zajišťujíc sérologický monitoring ve velmi krátké době pomocí jednoduché, vysoce specifické technologie bez nutnosti použití invazivních technik. Test antigenu *H. pylori* ze stolice je možné využít jako rychlý skríníngový proces pro velké populace pacientů a je vysoce indikován při skoré diagnostice infekce *H. pylori*, protože okamžitá odpověď může často předcházet klinické projevy onemocnění. Z diagnostického hlediska je vysoká hladina antigenu *H. pylori* indikací asymptomatické gastritidy typu B.

### PRINCIP TESTU

DIAQUICK kazeta H. pylori stolice je neinvazivní metoda s laterálním tokem. Je přesná, jednoduchá na provedení a rychlá, protože poskytuje výsledky testu během několika minut. Test využívá specifické monoklonální protilátky proti antigenu *H. pylori*. Jedna z protilátek byla nanesena na membránu jako čára. Druhá protilátka byla konjugována s koloidálními zlatými částicemi pro vytvoření značkové červené barvy. Pokud je antigen *H. pylori* přítomen ve vzorku stolice, vytváří komplex s barevně označenou protilátkou. Když kapalina prochází membránou, bude tento komplex zachycen protilátkou nanesenou na membránu. Vzniká červená čára. Proto červená čára v testovací T-oblasti označuje pozitivní výsledek testu.

Test také obsahuje vnitřní kontrolu postupu, kterou představuje kontrolní čára objevující se v kontrolní C-oblasti metody. Na rozdíl od čáry výsledku testu v T-oblasti vzniká kontrolní čára nezávisle na přítomnosti antigenu *H. pylori*. Vznik kontrolní čáry potvrzuje správný postup testu a zvlhčení membrány. Kontrolní čára se musí objevit u každé platné analýzy.

### POSKYTOVANÉ MATERIÁLY

- Testovací proužky umístěné v platových kazetách, uzavřené ve vzduchotěsných hliníkových fóliových obalech spolu s desikantem (silikagel). Součástí proužku jsou:
  - Proužek nitrocelulózové membrány s imobilizovanými monoklonálními protilátkami proti antigenu HP v oblasti testovací čáry a kožními protilátkami proti myším IgG v oblasti kontrolní čáry.
  - Polštářek s konjugátem s monoklonálními protilátkami proti HP konjugovanými s koloidálním zlatem.
  - Vzorkový a absorpční polštářek (bavlněný).
- Odběrové zkumavky s 2 mL pufru/zkumavku. Pufr má následující složky: Tris HCl 10 mM, pH 8,0, obsahující BSA.
- Návod k použití

### POTŘEBNÉ, ALE NEPOSKYTOVANÉ MATERIÁLY

- Adsorbční papír pro zabránění vyšplíchnutí roztoku
- Rukavice
- Stopky
- Pipeta

### SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIE

**Podmínky:** Kazeta musí do použití zůstat v uzavřeném hliníkovém sáčku. Držte mimo přímého slunečního světla, vlhkosti a tepla.  
**Skladování:** Při 2-30 °C, nezamrazujte!  
**Stabilita:** Do data expirace, pokud se testy skladují v uzavřených sáčcích.

### ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

#### Odběr vzorku

- Pro nejlepší výsledky vykonávejte testování okamžitě po odběru vzorku.
- Stolicí odeberte do čisté, suché nádoby pro odběr vzorku. Pro každý vzorek použijte samostatnou nádobu. Zmražené vzorky musí být před testováním kompletně rozmrazeny a přivedeny na pokojovou teplotu.
- Vzorky stolice je třeba odebrat do nádob, které neobsahují média, konzervanty, zvířecí sérum, nebo detergenty, protože některá z těchto přísad může interferovat s testem.

#### Příprava vzorku

- Odkrútněte a vyberte dávkovací tyčinku z odběrové zkumavky. Dávejte pozor, abyste nevytilili nebo nevyšplíchlí roztok ze zkumavky.
- **Pro pevný vzorek:** Odeberte vzorek z alespoň 3 různých míst vzorku stolice pomocí dávkovací tyčinky. Odeberte přibližně 50 mg stolice (odpovídá ¼ hrášku). Nenabírejte nadměrné množství vzorku stolice!
- **Pro kapalně vzorky:** Pipetu držte svisle, nasajte vzorek stolice a potom přeneste 6 kapek (přibližně 300 µL) do odběrové zkumavky s pufrém.
- Vložte dávkovací tyčinku zpátky do zkumavky a víko pevně zakrútněte. Dávejte pozor, abyste nezlomili špičku odběrové zkumavky.

- 1) Zkumavkou intenzivně zatřeste pro zajištění důkladného promíchání vzorku a reakčního pufru.



### SKLADOVÁNÍ A STABILITA VZORKU

Test DIAQUICK kazeta H. pylori stolice je potřebné vykonávat s lidskými vzorky stolice.

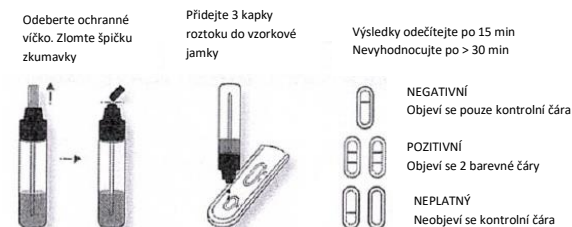
Stabilita:	Při 2-8 °C	Nezředený	Zředený v pufru
	Při -20 °C	3 dny	3 dny
		6 měsíců	6 měsíců

- Pro skladování při -20 °C musí být vzorky zamrazeny během 1 hodiny po přípravě.
- Skladování vzorků při pokojové teplotě nemůže být pro tento test doporučeno. Krátkodobé vystavení teplotě do 30 °C během transportu běžně neovlivňuje vzorek.
- Nedoporučuje se opakované zmrazování a rozmrazování vzorků a může způsobit chybné výsledky. Vzorky neskladujte v samo odmrzovacích lednicích.
- Pokud je potřebné vzorky odeslat, zabalte je podle vhodných nařízení pro transport etiologických agens.

### POSTUP ANALÝZY

- 1) Zabalenou testovací kazetu a patientský vzorek rozpuštěný v pufru je třeba před testováním přivést na pokojovou teplotu (18-25 °C). Pro zabránění kondenzace vlhkosti na testovací membráně neotevírejte vychlazené testovací kazety. Při nízkých teplotách může být citlivost testu snížena.
- 2) Testovací zařízení vyberte ze sáčku, když jste připraveni vykonat test. Nedotýkejte se testovacího okénka ani membrány uvnitř. Označte test identifikací pacienta nebo kontroly.
- 3) Odběrovou zkumavkou důkladně zatřeste pro zajištění důkladného promíchání vzorku stolice s extrakčním roztokem.
- 4) Pomocí kousku papíru ulomte špičku odběrové zkumavky použitím otáčivého pohybu. Odběrovou zkumavku obraťte, potom ji držte svisle a nadávkujte 3 kapky (přibližně 120 µL) roztoku do vzorkové jamky testovacího zařízení. Zabraňte nanesení vzduchových bublin a pevných částic spolu s kapalinou. Spusťte stopky.
- 5) Výsledky odečtěte po 15 minutách od nanesení vzorku. Silně pozitivní výsledky je možné odečítat dříve. Výsledky by se neměly odečítat později jako po 30 minutách od přidání vzorku.

**Poznámka:** Pokud test nezačne běžet kvůli nadbytku pevných částic v roztoku, zkuste zamíchat vzorek ve vzorkové jamce (S) odběrovou tyčinkou.



### KONTROLA KVALITY

Test obsahuje vnitřní kontrolu postupu. Červená kontrolní čára objevující se v kontrolní oblasti (C-oblast) membrány potvrzuje správnou činnost testu a reaktivitu reagensů. Správná laboratorní praxe doporučuje denní použití kontrolních materiálů pro validaci spolehlivosti zařízení. Kontrolní materiál, který není dodáván s testovacím kitem, může být komerčně dostupný.

## Poznámka

Při testování kontrolního materiálu rozpuštěného v pufru je pozadí analýzy běžně čisté během 5 minut. Nicméně když se testují vzorky stolice, může se pozadí jevit jemně nažloutlé kvůli původní barvě vzorků stolice. Je to přijatelné, pokud to nebrání interpretaci výsledků testu. Test je neplatný, pokud se pozadí nevyčistí a zabraňuje odečítání výsledků.

## ODEČÍTÁNÍ A INTERPRETACE

### POZITIVNÍ VÝSLEDKY - objeví se dvě barevné čáry

V okně výsledku testu se objeví dvě červené zbarvené čáry. Kromě červené kontrolní čáry v C-oblasti se objeví zřetelná červená čára výsledku testu v T-oblasti. Intenzity barvy čar se mohou lišit. Tento výsledek ukazuje přítomnost antigenu *H. pylori* ve vzorku stolice.

### NEGATIVNÍ VÝSLEDKY - objeví se pouze kontrolní čára

Jedna červená kontrolní čára se objeví v C-oblasti okna výsledku testu. V T-oblasti není viditelná žádná čára. Toto ukazuje, že antigen *H. pylori* nebyl zjištěn ve vzorku.

### NEPLATNÉ VÝSLEDKY - neobjeví se kontrolní čára

Když se v C-oblasti neobjeví kontrolní čára, test není průkazný a musí být interpretován jako neplatný. Nepřítomnost kontrolní čáry může naznačovat chybu v provedení testu nebo to že se součástí metody zkazily. Test prosím zopakujte s novou testovací kazetou s tím, že budete dbát zvýšeně na dodržení pokynů. Pokud problém přetrvává, kontaktujte svého výrobce.

## VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.
- Každé testovací zařízení použijte pouze jednou.
- V prostoru kde se pracuje se vzorky nebo kity nejzte, nepijte nebo nekuřte.
- Test nepoužívejte, pokud je obal porušen.
- Nepoužívejte testovací kit po datu spotřeby.
- Nemíchejte odběrové zkumavky z různých šarží.
- Nevylévejte roztok do reakční oblasti.
- Nedotýkejte se okna výsledků kazety, aby se zabránilo kontaminacím.
- Zabraňte křížové kontaminaci vzorků použitím nové nádoby na odběr vzorku/jednotky na odběr vzorku stolice a odběrové zkumavky pro každý vzorek.
- Se všemi vzorky a pozitivními kontrolami je třeba zacházet tak, jakoby byly schopny přenosu chorob. Dodržujte bezpečnostní opatření proti mikrobiologickým hrozbám během testování a dodržujte běžné postupy pro správnou likvidaci vzorků.
- Nepoužívejte větší než potřebný objem kapaliny.
- V průběhu analýzy vzorků noste ochranné oblečení jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranu očí.
- Testy skladujte a transportujte vždy při 2-30 °C.
- Vlhkost a vysoká teplota mohou negativně ovlivnit výsledky.
- Všechny použité materiály likvidujte ve vhodných nádobách. Zacházejte s nimi jako s potenciálním biologickým ohrožením.
- Po skončení testu si důkladně umyjte ruce.
- Vylitou kapalinu důkladně očistěte vhodnou dezinfekcí.
- Držte mimo dosahu dětí.

## OČEKÁVANÉ HODNOTY

*Helicobacter pylori* infikuje více než polovinu lidí na zemi<sup>5</sup>. Prevalence infekce se liší mezi krajinami a mezi různými skupinami v rámci stejné krajiny<sup>6</sup>. Míra prevalence ve spojených státech naznačuje incidenci infekce 2%. Celoživotní prevalence onemocnění vředy žaludku je přibližně 12% u mužů a 9% u žen<sup>7</sup>. Studie zjistily, že více než 90% pacientů s vředem dvanácterníku a 80% pacientů se žaludečním vředem je infikováno *H.pylori*.<sup>8,9</sup> DIAQUICK kazeta H. pylori stolice zjišťuje přítomnost antigenu *H. pylori* ve vzorcích stolice. Očekávané hodnoty pro jakoukoli populaci musí být určeny každou laboratoří. Míra pozitivivity jakékoli laboratoře se může lišit v závislosti na geografické poloze, etnické skupině a životním prostředí.

## CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

### Analytická citlivost

Analytická citlivost DIAQUICK kazety H. pylori stolice je  $1 \times 10^4$  kolonie vytvářejících jednotek (CFU)/mL.

### Diagnostická citlivost a specifita

DIAQUICK kazeta H. pylori stolice byla vyhodnocena s klinickými vzorky. Výsledky testu byly porovnány s diagnózou infekce *H. pylori* ureázovým testem dechu a rychlým ureázovým testem.

Metoda	Výsledky	Rychlý ureázový test (RUT)		Celkové výsledky
		Pozitivní	Negativní	
DIAQUICK kazeta H. pylori stolice	Pozitivní	240	0	240
	Negativní	15	140	155
Celkové výsledky		255	140	395

Citlivost = 94.1%

Specifita = 99.9%

Přesnost = 96.2%

Metoda	Výsledky	Jiný rychlý test		Celkové výsledky
		Pozitivní	Negativní	
DIAQUICK kazeta H. pylori stolice	Pozitivní	235	5	240
	Negativní	0	155	155
Celkové výsledky		235	160	395

Citlivost = 99.9%

Specifita = 96.9%

Přesnost = 98.7%

### Analytická specifita

Následující bakteriální a virové kmeny byly použity pro otestování specifity DIAQUICK kazety H. pylori stolice. Pozitivní a negativní stolice byly obohaceny s  $10^8$  CFU/mL a otestovány kazetou DIAQUICK H. pylori stolice. Stolice pozitivní na *H. pylori* zůstala pozitivní i po obohacení organizmy. Negativní stolice zůstala negativní po obohacení organizmy.

Testované mikroorganismy a viry:

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Kampylobakter jejuni</i>	<i>Citrobakter kosei</i>
<i>Enterobakter aerogenes</i>	<i>Kampylobakter lari</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterobakter cloacae</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	

## LIMITACE

- Test je pro kvalitativní detekci *H. pylori* ve vzorcích stolice a neudává kvantitu antigenů
- Jako u všech diagnostických testů nesmí být konečná klinická diagnóza založena na výsledku jediného testu, ale musí být učiněna pouze lékařem po zhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů.
- Jako potvrzující metoda je v současnosti k dispozici několik invazivních a neinvazivních postupů pro detekci infekčního stavu. Invazivní postupy vyžadují endoskopii sliznice žaludku s histologickým, kulturačním a ureázovým vyšetřením. Alternativně jsou k dispozici neinvazivní metody jako test dechu s izotopově značenou močovinou nebo klasická ELISA nebo imunoblotová analýza.
- Antibiotika, inhibitory protonových pump a bizmutové přípravky inhibují *H. pylori*. Negativní výsledky testu získané během nebo krátce po léčbě mohou být falešně negativní. V tomto případě je užitečné zopakovat test na *H. pylori* 2 týdny po skončení léčby.
- Pořád existuje možnost, že nesprávné výsledky se získají kvůli přítomnosti interferujících látek ve vzorku nebo faktorů mimo kontroly výrobce, jako technické chyby a chyby postupu spojené s testováním.

## LITERATURA

1. Bruce E et al. (1997) *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev 10 (4), 720-741
2. Blaser M J (1998) *Helicobacter pylori* and gastric diseases. BMJ 316: 1507-1510
3. Gisbert J P et al. (2006) Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of *H. pylori* infection: a systemic review and meta-analysis. Am J Gastroenterol 101(8):1921-30
4. Telford J L et al. (1997) Antonello Covacci, Rino Rappuoli & Paolo Ghiara. Immunobiology of *Helicobacter pylori* infections. Current Opinion in Immunobiology 9: 498-503
5. Wu DC et al. (2006) Comparison of stool enzyme immunoassay and immunochromatographic method for detecting *Helicobacter pylori* antigens before and after eradication. Diagn Microbiol Infect Dis. 56(4):373-8.
6. Kato S et al. (2003) Accuracy of stool antigen test for the diagnosis of childhood *Helicobacter pylori* infections: a multicenter Japanese study. Am J Gastroenterol. 98(2):296-300.
7. Dominguez J et al. (2006) Comparison of a monoclonal with a polyclonal antibody-based immunoassay stool test in diagnosing *Helicobacter pylori* infection before and after eradication therapy. Aliment Pharmacol Ther. 15:23(12):1735-40.
8. Veijola L et al. (2005) Stool antigen tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before and after eradication therapy. World J Gastroenterol. 11(46):7340-4.

