

One Step for the qualitative detection of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) in faeces IVD
Store at 2-30°C

INTENDED USE

The Spin-*Helicobacter pylori* Antigen Test is a rapid coloured chromatographic, for health care professional use only. It is intended for use at point of care facilities for the qualitative detection of *H. pylori* in faeces.

This assay provides only a preliminary result. Clinical consideration and professional judgment must be applied, particularly when preliminary positive results are evaluated. A more specific alternate method must be used in order to obtain a confirmed analytical result.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is a spiral-shaped bacterium that is found in the gastric mucous layer or adherent to the epithelial lining of the stomach. *H. pylori* causes more than 90% of duodenal ulcers and up to 80% of gastric ulcers. The importance of Spin-*Helicobacter pylori* Antigen testing has increased greatly since the strong correlation between the presence of bacteria and confirmed gastrointestinal diseases (stomach and duodenum) like gastritis, peptic ulcer disease and gastric carcinoma.

PRINCIPLE OF THE METHOD

This assay is a chromatographic immunoassay. The membrane is pre-coated, on the test band region, with monoclonal antibodies against *H. pylori* antigens. During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-*H. pylori* monoclonal antibodies-red polystyrene micro spheres) which was pre-dried on the test strip. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured conjugate. The mixture continues moving across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, where a red coloured band should always appear. The presence of this red band is used as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

MATERIALS SUPPLIED

- Ref.1504040 5 test devices and 5 stool collection tubes with sample diluent
- Ref.1504041 20 test devices and 20 stool collection tubes with sample diluent

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Specimen collection containers
- Timer
- Disposable gloves

STORAGE AND STABILITY

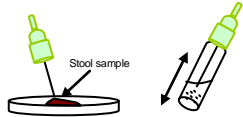
Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

SPECIMEN COLLECTION

Stool samples (not watery and diarrhoeal) should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

Specimen preparation (see illustration):

- (1) Take out the top and add 1 mL (30 drops) of the sample diluent in the stool collection tube.
- (2) Use the stick to pick up a little sample. Close the tube with the diluent and stool sample. (3) Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



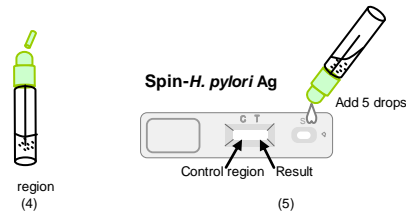
PRECAUTIONS

1. The instructions must be followed to obtain accurate results.
2. Appropriate precautions are necessary in the collection, handling of the specimens and used assay materials as potentially biohazardous.
3. Do not use kit beyond the expiration date, which appears on the package label. Do not mix reagents or components from different lots of test kits.
4. For each sample, use one buffer tube and one card. Do not reuse the buffer tube or the card.
5. The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

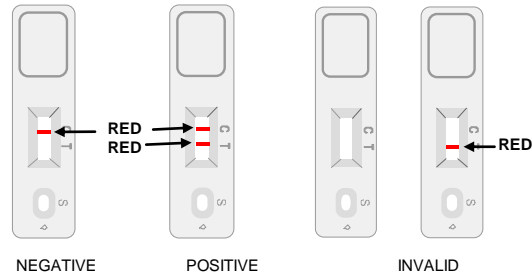
ASSAY PROCEDURE

1. Refrigerated specimens and other test materials, including devices, must be equilibrated to room temperature (15-30°C) before testing to avoid invalid results.
2. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Label them with specimen identification.
3. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion.
4. Cut the end of the top (4).
5. Remove the device from its sealed bag just before using. **Do not open pouches until ready to perform the assay.**

6. Dispense exactly 5 drops or 150 µL into the circular window marked with an arrow, avoiding to add solid particles with the liquid (5). In case the tests did not run due to solid particles fallen into the round window, stir the sample added or dispense a drop of extraction buffer until seeing the liquid running through the reaction zone.
7. Read the result at **10 minutes** (the coloured bands appear).



INTERPRETATION OF RESULTS



NEGATIVE: Only one RED band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the RED control band, another RED band (test line) also appears in the site marked with the letter T (result line).

INVALID: A total absence of the control coloured band regardless the appearance or not of the result line. Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

Notes

The intensity of the red coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigens in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Built-in Control Features

This test contains a built-in quality control feature, the red line appearing in the control region (C). It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique. A clear background is an internal negative background control. If the test is working properly, the background in the result area should be clear and not interfere with the ability to read the result.

External Quality Control

External controls are recommended, positive and negative, to monitor the performance of the assay.

LIMITATIONS

1. This test is a qualitative assay for professional *in vitro* diagnostic use only.
2. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
3. An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
4. Some stool samples can decrease the intensity of the control red line.
5. This test provides a presumptive diagnosis of *Helicobacter pylori* infections. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated must be based in the correlation of the results with further clinical observations.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity

Detection limit: A culture of *H. pylori* bacteria was sonicated, centrifuged and its protein concentration was determined. This reference antigen preparation of *H. pylori* was diluted in the PBS-BSA buffer and tested in accordance with the kit instructions. The detection limit of *Helicobacter pylori* is **4-8 ng/mL**.

Specificity

The evaluation was conducted comparing the results obtained using the Spin-*Helicobacter pylori* Antigen test to another available commercial ELISA assay. The detection of *Helicobacter pylori* showed 95% of concordance with the commercial ELISA assay.

The antibodies used to elaborate the Spin-*Helicobacter pylori* Antigen test recognise epitopes present in the antigen found in stool of patients, as well as in preparations from the bacteria cultures *in vitro*. Sonicated *Helicobacter pylori* extract from different commercial samples reacts with Spin-*Helicobacter pylori* Antigen test.

Cross Reactivity and Interference

The possibility for interference by human anti-mouse antibodies (HAMA) or high levels of RF in the stools sample, has not been evaluated. Some stool samples could produce control lines with a light red colour.

REFERENCES

- 1- Bruce E. Dunn, Hartley Cohen & Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori*. Clin. Microbiol. Rev. **10** (4), 720-741, Oct. (1997)
- 2- Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori* and gastric diseases. BMJ; **316**: 1507-1510 (1998).
- 3- John L. Telford, Antonello Covacci, Rino Rappuoli & Paolo Ghiara. *Immunobiology of Helicobacter pylori infections*. Current Opinion in Immunology, **9**: 498-503 (1997).

PACKAGING

Ref. 1504040	Cont	5 Cards- 5 Buffer tubes
Ref. 1504041		20 Cards-20 Buffer tubes

One Step para la detección cualitativa de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) en heces
 IVD
 Conservar a 2-30°C

USO RECOMENDADO

El test Spin-*Helicobacter pylori* Antígeno es un inmunoensayo cromatográfico rápido. Sólo para uso profesional. Está destinado a la detección cualitativa de *Helicobacter pylori* en muestras de heces. El test se usa únicamente para obtener un resultado preliminar. En cualquier caso el resultado debe ser interpretado por un profesional, particularmente al evaluar un resultado preliminar positivo. Para confirmar los resultados analíticos es necesario un método alternativo más específico.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una bacteria con forma espiral que se encuentra en la mucosa gástrica o adherida a la capa epitelial del estómago. Se estima que esta bacteria es el causante de más del 90% de las úlceras duodenales y por encima del 80% de los carcinomas gástricos.

La importancia del test de Spin-*Helicobacter pylori* Antígeno se ha incrementado enormemente desde la fuerte correlación entre la presencia de la bacteria y enfermedades gastrointestinales (estómago y duodeno) como gastritis, úlcera péptica y carcinoma gástrico.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Este es un inmunoensayo cromatográfico. Durante la prueba, la muestra diluida de heces reacciona con el conjugado coloreado (anticuerpos monoclonales anti-antígeno-partículas de látex coloreadas) secado previamente en la membrana de la tira de reacción. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana. Para dar el resultado como positivo, una línea de color rojo aparecerá en la zona de resultado de la membrana. La ausencia de esta línea roja sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de antígenos de *Helicobacter pylori*, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color rojo (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

REACTIVOS Y MATERIAL PROPORCIONADO

- Ref.1504040:** 5 dispositivos de reacción junto a 5 tubos con tampón de extracción para dilución de muestras
- Ref.1504041:** 20 dispositivos de reacción junto a 20 tubos con tampón de extracción para dilución de muestras

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Contenedores para la toma de muestra
- Cronómetro
- Guantes desechables.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservar el kit a temperatura ambiente 2-30°C. Cada placa puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se conservan, sin abrir, en el envase original. No congelar.

TOMA DE MUESTRA

Las muestras (no utilizar muestras acuosas o diarreicas) deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se pueden conservar, hasta el momento de utilizarlas, 1 ó 2 días a 2-4 °C. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- Con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces.
- Se introduce el palito en el tampón de extracción, para dilución de la muestra, cerrando el tubo.
- Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



PRECAUCIONES

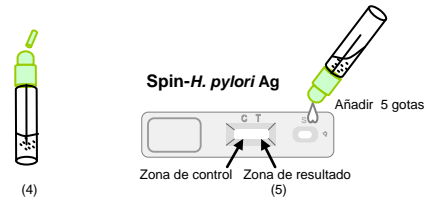
1. Se deben seguir las instrucciones incluidas en el kit para obtener resultados fiables.
2. No usar tests caducados.
3. Tomar las precauciones necesarias durante la toma de muestra y su manipulación; Tratar muestra y material de ensayo como potencialmente infeccioso.
4. Para cada muestra, utilizar un tubo tampón y una placa. No reutilizar el tubo ni la placa.
5. Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

PROCEDIMIENTO

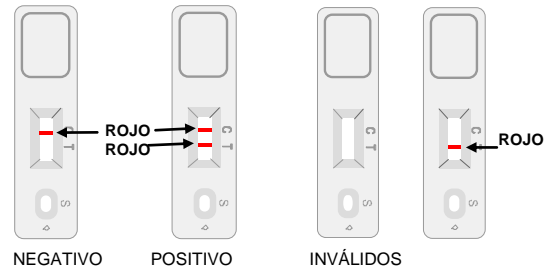
1. Atemperar (**15-30°C**) la muestra y los otros materiales necesarios para el test, incluidos los dispositivos, antes realizar el ensayo.
2. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Identificar cada uno con los datos de la muestra.
3. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión.
4. Romper el extremo superior del tubo (4).
5. Extraer el dispositivo de reacción de su envase para utilizarlo inmediatamente.
6. Depositar 5 gotas o 150 µL del líquido de extracción en la ventana circular del dispositivo marcada con una flecha o una S, evitando añadir partículas sólidas con el líquido (5).

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas en la ventana circular, retirarlas y añadir una gota de tampón hasta que se vea avanzar al líquido (zona de reacción y de control).

7. Leer el resultado del test a los 10 minutos tras la adición de la muestra.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color ROJO aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control ROJO, también aparece una línea ROJA (línea de resultado) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

INVÁLIDO: Si la línea de control no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de resultado. Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

Notas

La intensidad de la línea roja en la zona de resultado puede variar dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

• **Control de Calidad interno**

El test contiene un control de calidad interno, la línea roja que aparece en la zona de control (C). La presencia de esta línea indica que se ha usado un volumen correcto de muestra y el procedimiento seguido ha sido el adecuado. La claridad del fondo de la ventana es también un control interno. Si el test funciona correctamente, este fondo estará claro y no interferirá con la lectura del resultado.

• **Control de Calidad externo**

Se recomiendan controles externos, positivos y negativos, para controlar el desarrollo del ensayo.

LIMITACIONES

1. El test es sólo para diagnóstico *in vitro* profesional.
2. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
3. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.
4. Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control rojo.
5. Esta prueba diagnóstica la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Sensibilidad

Límite de detección: Un cultivo de *H. pylori* fue sonicado, centrifugado y se determinó la concentración de proteína presente. Esta preparación de antígeno de referencia de *H. pylori* se diluyó en un tampón PBS-BSA y se hizo la prueba siguiendo las instrucciones de uso. Obteniendo que el límite de detección de la prueba de Spin-*Helicobacter pylori* Antígeno es de 4-8 ng/mL.

Especificidad

La eficacia de Spin-*Helicobacter pylori* Antígeno test se evaluó comparando los resultados obtenidos en paralelo con un test ELISA del mercado.

La detección de *Helicobacter pylori* muestra **95%** de concordancia en especificidad en comparación con la prueba ELISA.

El uso de anticuerpos monoclonales en la elaboración de Spin-*Helicobacter pylori* Antígeno test asegura un alto grado de especificidad para los antígenos de *H. pylori*. Los anticuerpos utilizados para elaborar esta prueba reconocen epítopos presentes en los antígenos encontrados en las muestras de heces de los pacientes, tanto como en las preparaciones provenientes de cultivos de la bacteria *in vitro*.

Reacciones cruzadas e Interferencia

La posibilidad de interferencia con anticuerpos humanos anti-antígenos de ratón o con niveles elevados de RF en las muestras, no se han evaluado. Algunas muestras podrían producir líneas de control con un color rojo brillante.

REFERENCIAS

1. Bruce E. Dunn, Hartley Cohen & Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori*. Clin. Microbiol. Rev. 10 (4), 720-741, Oct. (1997)
2. Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori and gastric diseases*. BMJ: 316: 1507-1510 (1998).
3. John L. Telford, Antonello Covacci, Rino Rappuoli & Paolo Ghiara. *Immunobiology of Helicobacter pylori infections*. Current Opinion in Immunology, 9: 498-503 (1997).

PRESENTACIÓN

Ref. 1504040	Cont	5 Placas-5 Tubos tampón
Ref. 1504041		20 Placas-20 Tubos tampón