

premier platinum

HpSA® PLUS

Enzyme Immunoassay for the Detection of *Helicobacter pylori* Antigens in Stool Specimens for Diagnosis and Monitoring

REF 601396

IVD

Rx Only

INTENDED USE

The Premier Platinum HpSA PLUS enzyme immunoassay (EIA) is an in vitro qualitative procedure for the detection of *Helicobacter pylori* antigens in human stool. Test results are intended to aid in the diagnosis of *H. pylori* infection and to monitor response during and post-therapy in patients. Accepted medical practice recommends that testing by any current method, to confirm eradication, be done at least four weeks following completion of therapy.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Since its discovery over 20 years ago by Marshall and Warren,¹ *Helicobacter pylori* is now recognized as one of the most common and medically important pathogens worldwide.² *Helicobacter pylori* has been firmly established as an etiologic agent in chronic gastritis and peptic ulcer disease, and has been associated with mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and gastric adenocarcinoma.^{1,3-7}

The ecological niche in humans appears to be restricted to the stomach and the duodenum. Patients who harbor the organism are divided into two basic groups. The first group shows no signs or symptoms of gastrointestinal disease and is considered as "colonized". The second group shows gastrointestinal signs and symptoms and is considered as "infected". The process by which an individual becomes colonized or infected is still under investigation.^{3,4,8-10} Many possible routes of transmission of *Helicobacter pylori* to humans such as animals, contaminated water and oral reservoirs have been suggested.¹¹

Diagnostic tests for *H. pylori* can be categorized as invasive (endoscopy, biopsy) or noninvasive (serology, urea breath test and stool antigen test). In invasive testing, a biopsy is taken from the upper gastrointestinal tract and examined microscopically. The tissue is also cultured for *H. pylori* or evaluated in the rapid urease test. This strategy offers the advantages of detecting an active infection and has high specificity and a high positive predictive value. The disadvantages of invasive testing include risk and discomfort to the patient and colonization in patches that might be missed by biopsy. Culture of biopsy material is time consuming and can yield false-negative results due to inherent technical difficulties.^{3,12-15}

The urea breath test (UBT) is a type of noninvasive test that detects the highly active urease of *H. pylori*. Although UBT is highly sensitive and specific, it has a number of significant drawbacks. UBT is time consuming, requires specialized detection equipment and involves the ingestion of isotopically labeled urea by the patient.^{3,16,17} Serological tests, also noninvasive, based on the detection of IgG against *H. pylori* are useful for primary screening of patients that present with uncomplicated infections, yet they do not distinguish between past exposure and active infection.^{6,11,18} The stool antigen test has been evaluated extensively and has been accepted as an accurate non-invasive test both before and after treatment.¹⁹⁻²¹ The recent Maastricht V Consensus Report recommends the use of the stool antigen and UBT tests as an aid in the diagnosis of *H. pylori* disease in the primary care setting.²²

Premier Platinum HpSA PLUS is a microwell-based enzyme immunoassay that detects *H. pylori* antigens present in human stool. No calculations are required and the visual color change makes the interpretation of results objective and simple. In addition, the HpSA test permits assessment of established or novel anti-*H. pylori* treatment during and post-therapy to monitor for treatment effectiveness, relapse or eradication. Premier Platinum HpSA PLUS is a modification of Premier Platinum HpSA that provides increased signal strengths with positive test results and better discrimination between low positive and negative tests.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

The Premier Platinum HpSA PLUS test utilizes a plurality of monoclonal anti-*H. pylori* capture antibodies adsorbed to microwells. (Plurality is defined as a mixture of monoclonal antibodies.) Diluted patient samples and a conjugate (peroxidase conjugated to a plurality of monoclonal antibodies) are added to the wells and incubated for one hour at room temperature. A wash is performed to remove unbound material. Substrate is added and incubated for 10 minutes at room temperature. Color develops in the presence of bound enzyme. Stop Solution I is added and the results are interpreted visually or spectrophotometrically.

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

1. **Antibody Coated Microwells** - Breakaway plastic wells coated with a plurality of murine monoclonal antibodies specific for *H. pylori*.
2. **Positive Control** - Inactivated *H. pylori* diluted in 10 mM phosphate-buffered solution with 0.02% Thimerosal, pH 7.2.
3. **Sample Diluent/Negative Control** - pH 7.2, 10 mM phosphate-buffered solution with 0.02% Thimerosal.
4. **Premier 20X Wash Buffer I** - pH 6.8, 180 mM phosphate-buffered solution with 0.2% Thimerosal.
5. **Enzyme Conjugate** - A plurality of murine monoclonal antibodies specific for *H. pylori* conjugated to horseradish peroxidase in a pH 7.8, 50 mM Tris-buffered solution containing 0.02% Thimerosal.
6. **Premier Substrate I** - a-buffered solution containing urea peroxide and tetramethylbenzidine. (pH 5.0)
7. **Premier Stop Solution I** - 1 M phosphoric acid. CAUTION: Avoid contact with skin. Flush with water if contact occurs.
8. Transfer pipettes (one for each test sample). Each pipette is marked to indicate 50 µL, 100 µL, 200 µL and 300 µL volumes.
9. Plate sealer.
10. Wooden stick applicators.

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Test tubes (12 x 75 mm) for dilution of sample
2. Distilled or deionized water
3. Squirt bottle
4. Graduated cylinder for making 1X Wash Buffer I
5. EIA plate reader capable of reading absorbance at 450 or 450/630 nm*
6. Semiautomated plate washer (e.g., BioTek Elx50) *


* **Note:** It is the operator's responsibility to validate the semiautomated plate washers and readers prior to their use with this product.


PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Patient specimens may contain infectious agents and should be handled and disposed of as potential biohazards.
3. All reagents should be mixed gently before use.
4. Do not interchange the Microwells, Enzyme Conjugate, Substrate I Reagent, or Positive Control reagents between lots. (The Sample Diluent, Premier 20X Wash Buffer I and Premier Stop Solution I are interchangeable provided the reagents are within their assigned expiration dates when used.)
5. Allow reagents to warm to 19-27 C before use.
6. Hold reagent vials vertically at suitable distance above the well to insure proper drop size and delivery.
7. Do not use kit components beyond labeled expiration date.
8. Replace colored caps on correct vials.
9. Dispose of used wash buffer and all test materials in an appropriate container. Treat waste as a potential biohazard.
10. The Positive Control reagent contains inactivated *H. pylori*. It should be handled, however, as a potential biohazard.
11. Avoid skin contact with Premier Stop Solution I (1 M phosphoric acid). Flush with water immediately if contact occurs.
12. Do not reuse microwells.
13. Unused microwells must be placed back inside resealable pouch. It is important to protect strips from moisture.
14. The transfer pipettes provided with this kit must be used for specimen preparation and transfer. Use one per specimen.

15. Avoid splashing when dispensing diluted stool into microwells by placing the transfer pipette tip about halfway down the well and dispensing slowly down the side of well.
16. Microwell washing is to be performed precisely as directed in assay procedure. Inadequate washing may be the cause of elevated background in any EIA protocol.
17. All reagents except the Premier 20X Wash Buffer I are provided already diluted to the proper concentration.
18. Any deviation below or above set incubation times may affect sensitivity and specificity and should be avoided.
19. Stool must be mixed thoroughly (regardless of consistency) to insure a representative sample prior to pipetting.
20. Some precipitation may occur in Premier 20X Wash Buffer I when it is stored at 2-8 C. The precipitate will dissolve when a working dilution is made with the Wash Buffer.
21. Do not use vials that lack a label, a lot number, or an expiration date.

HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS

 <p>Premier Stop Solution I</p>	<p>Signal Word Danger</p> <p>Hazard Statements H412 - Harmful to aquatic life with long lasting effects H314 - Causes severe skin burns and eye damage</p> <p>Precautionary Statements - EU (§28, 1272/2008) P260 - Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapors/spray P264 - Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling P280 - Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing P303 + P361 + P353 - IF ON SKIN (or hair): Remove/ Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower P363 - Wash contaminated clothing before reuse P304 + P340 - IF INHALED: Remove to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/ physician P301 + P330 + P331 - IF SWALLOWED: Rinse mouth. Do NOT induce vomiting P405 - Store locked up P501 - Dispose of contents/ container to an approved waste disposal plant.</p>
--	---

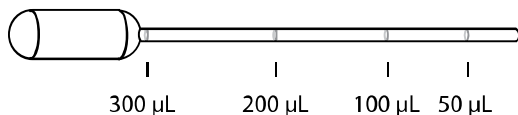
 <p>Premier 20X Wash Buffer I</p>	<p>Signal Word Warning</p> <p>Hazard Statements H312 - Harmful in contact with skin</p> <p>Precautionary Statements - EU (§28, 1272/2008) P280 - Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. P321 - Specific treatment (see supplemental instructions on the administration of antidotes on this label).</p>
--	--

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2-8 C and return the kit promptly to the refrigerator after each use.

PROCEDURAL NOTES

The Premier Platinum HpSA PLUS transfer pipette is diagrammed below:



REAGENT PREPARATION

1. Bring the entire kit, including microwell pouch, to 19-27 C before use.
2. Prepare 1X Wash Buffer I as needed. For example: 4.0 mL of Premier 20X Wash Buffer I + 76.0 mL of distilled or deionized water is sufficient to wash one strip. Place in a clean squirt bottle. The 1X Wash Buffer I can be stored at 19-27 C for up to three months.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

The specimen should be received in an airtight transport container and stored at 2-8 C until tested. The specimen should be tested as soon as possible, but may be held up to 72 hours at 2-8 C prior to testing. (See SPECIMEN PREPARATION section for instructions on diluting samples.) If testing cannot be performed within this time frame, specimens should be frozen immediately upon receipt and stored frozen (-20 C to -80 C) until tested. Specimens may be frozen and thawed twice.

NOTE: Stool in transport media, swabs, or preservatives are inappropriate for testing.

SPECIMEN PREPARATION

1. Using a pipetting device, add 500 µL of Sample Diluent to a clean test tube.
2. Mix stool as thoroughly as possible prior to pipetting.
 - a. Liquid or semi-solid stools - Using the supplied transfer pipette, add 100 µL (second mark from the tip of the pipette) of stool into Sample Diluent. Using same pipette, gently withdraw and expel the stool suspension several times, then vortex 15 seconds. Save the transfer pipette in the sample for later use.
 - b. Formed/Solid stools - Using a wooden applicator stick, transfer a small portion (5-6 mm diameter) of thoroughly mixed stool into Sample Diluent. Emulsify stool using the wooden applicator stick, then vortex 15 seconds.
3. Stool specimens may be centrifuged after dilution. Centrifuge at approximately 2750 x G for five minutes or until solid matter separates from liquid. Proceed with the assay after recovering supernate.

TEST PROCEDURE

1. After the pouch has reached temperature, break off the required number of microwells (1 well for each specimen, plus 1 positive and 1 negative control well per batch). Place the microwells in the microwell strip holder and record the location of all wells. Unused microwells must be resealed in the pouch immediately.
2. Using the specimen transfer pipette, add 100 µL of diluted stool (second mark from the tip of the pipette) to the appropriate well. (Place the pipette tip halfway into well and let the sample slowly run down side of well.)
3. Add 2 free falling drops of Positive Control and 100 µL of Sample Diluent /Negative Control to the appropriate wells.
4. Add 1 free falling drop (approximately 50 µL) of Enzyme Conjugate to each well. Firmly shake/swirl the plate for 30 seconds.
5. Cut plate sealer to size and press firmly onto top of microwells to seal. Incubate the plate for 1 hour at 19-27 C.
6. Carefully remove the plate sealer and wash wells:
 - a. Manual method:
 - i Dump plate contents firmly into a biohazard receptacle.
 - ii Bang the inverted plate on a clean stack of paper towels.
 - iii Fill all wells with 1X Wash Buffer I, directing stream of buffer to the sides of the wells to avoid foaming.
 - iv Repeat wash cycle (dump, bang on fresh towels, fill) 4 times for a total of 5 wash cycles. After the last fill, dump and bang plates on fresh towels hard enough to remove as much excess wash buffer as possible, but do not allow wells to completely dry at any time.
 - b. Semiautomated method using validated equipment
 - i Aspirate the contents of the well.
 - ii Fill the wells to the top (approx 300-350 µL/well) with 1X Wash Buffer I then aspirate. The washer manifold should be adjusted to ensure no foaming occurs during the filling of the wells and that the wells are thoroughly aspirated after each wash.
 - iii Repeat step ii a minimum of 4 more times. Following the last wash, test wells should be thoroughly aspirated to remove as much moisture as possible.
7. Clean the underside of all wells with a lint-free tissue.
8. Add 2 free falling drops (approx. 100 µL) of Premier Substrate Solution I to each well. Firmly shake/swirl the plate for 30 seconds. Incubate for 10 minutes at 19-27 C.
9. Add 2 free-falling drops (approx. 100 µL) of Premier Stop Solution I to each well. Firmly shake/swirl the plate for 30 seconds.
Note: Initial color of positive reaction is blue, which changes to yellow upon addition of Premier Stop Solution I.
10. Inspect and record reactions. Test results can be read visually or using a spectrophotometric reader.
 - a. Visual Determination - Read within 15 minutes after adding Premier Stop Solution I.
 - b. Spectrophotometric Determination - Zero EIA reader on air. Wipe underside of wells with a lint-free tissue. Read absorbance at 450 nm or 450/630 nm within 15 minutes of adding Premier Stop Solution I.

INTERPRETATION OF RESULTS

The following interpretations apply to both initial diagnosis and monitoring of anti-*H. pylori* therapy.

Visual Reading

Negative = colorless to faint yellow

Positive = definite yellow color

To be called positive, a faint yellow color must be confirmed by a spectrophotometric reading. If a spectrophotometer is not available, the cut-off must be determined by an alternative method.

Spectrophotometric Single Wavelength (450 nm)

Negative: < 0.140

Positive: ≥ 0.140

Negative Control: < 0.140

Positive Control: ≥ 0.640

Spectrophotometric Dual Wavelength (450/630 nm)

Negative: < 0.100

Positive: ≥ 0.100

Negative Control: < 0.100

Positive Control: ≥ 0.600

If a Negative Control is < 0.000, reblank the plate reader to air and reread the plate.

A positive result indicates the presence of *H. pylori* antigens. A negative result indicates the absence of *H. pylori* antigens, or that the level of antigens is below what can be detected by the assay. The magnitude of the OD above the cut-off is not indicative of the severity or extent of *H. pylori* infection, nor can it be correlated to an endpoint titer. Extremely strong positive reactions may yield a purple precipitate within a few minutes of stopping the reaction.

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

1. At the time of each use, kit components should be visually examined for obvious signs of microbial contamination, freezing or leakage. Do not use contaminated or suspect reagents. The Positive and Negative Controls must be used with each test batch. See the INTERPRETATION OF RESULTS section above for a description of the expected results for control reagents. Tests should be considered invalid when either control reagent does not produce the expected results. In such cases, repeat tests and controls. If, on repeat testing, the expected reactions are still not observed and the reagents are still within their expiration date, contact Meridian's Technical Support Services at (800) 343-3858 for assistance (USA) or your local distributor.
2. The controls are used to monitor reagent reactivity. Failure of the controls to produce the expected results can mean that one or more of the reagents are no longer reactive at the time of use, the test was not performed correctly, or that reagents or samples were not added. The Positive Control will not ensure precision at the cut-off.
3. Suspect failure of the washing method or device if the Negative Control and/or Positive Controls consistently produce out of specification results. Increasing the number of washes, washing more vigorously, decanting more thoroughly or recalibrating washing devices should correct the problem. **If the expected control reactions are not observed, repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.**
4. Specimen matrix interference has not been observed in this assay as samples are significantly diluted before testing in Sample Diluent. For this reason, the positive and negative control reagents supplied as part of this assay are prepared in the matrix of the Sample Diluent. If control materials that are identical in composition to test samples are preferred, the user can prepare these by diluting known positive and negative specimens in Sample Diluent according to the SPECIMEN PREPARATION section of this insert. Add 100 µL of user prepared controls to test wells.

EXPECTED VALUES

Studies on the epidemiology of *H. pylori* have shown that this organism is present worldwide.^{18,23,24} Gastritis caused by *H. pylori* has been shown to correlate with age, ethnic background, family size and socioeconomic class.^{25,26} The prevalence of *H. pylori* infection in a given population can vary from 20% to 90%. In patients diagnosed with duodenal ulcers, however, it has been shown in every age group to be approximately 80%.¹⁸ Currently recommended eradication treatments have an efficacy rate between 75% and 90%.

The Premier Platinum HpSA PLUS test detects the presence of *H. pylori* antigens in human stool. Expected values for a given population should be determined for each laboratory. The rate of positivity may vary depending on geographic location, method of specimen collection, handling and transportation, test employed and general health environment of patient population under study. As demonstrated by Premier Platinum HpSA in tests conducted in the United States, Canada and Italy, incidence of disease ranged from 34% to 53% to 69% respectively.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The test is qualitative and no quantitative interpretation should be made with respect to the values.
2. Test results should be used in conjunction with information available from the patient clinical evaluation and other diagnostic procedures.
3. Antimicrobials, proton pump inhibitors and bismuth preparations are known to suppress *H. pylori* and ingestion of these prior to *H. pylori* testing (culture, histology, rapid urease, UBT, antigen) may give a false negative result. If a negative result is obtained for a patient ingesting these compounds within two weeks prior to performing the Premier Platinum HpSA PLUS test, it may be a false-negative result and the test should be repeated on a new specimen obtained two weeks after discontinuing treatment. A positive result for a patient ingesting these compounds, within two weeks prior to performing the Premier Platinum HpSA PLUS test, should be considered accurate. As an example, patients with *H. pylori* were placed on a proton pump inhibitor (Lansoprazole) or bismuth for two weeks, and tested with the Premier Platinum HpSA and a urea breath test. Patients were then taken off treatment for two weeks and retested. At the end of treatment, both assays were negative for some patients, but returned to positive two weeks post-treatment (see table).

Treatment	Time Point	Premier Platinum HpSA		Breath Test	
		Pos/Total	% Positive	Pos/Total	% Positive
PPI	End of Treatment	15/20	75.0%	12/20	60.0%
	2 Weeks Post-Treatment	19/20	95.0%	18/20	90.0%
Bismuth	End of Treatment	15/20	75.0%	11/20	55.0%
	2 Weeks Post-Treatment	19/20	95.0%	18/20	90.0%

4. Performance characteristics have not been established for watery, diarrheal stools.
5. Performance characteristics have not been established in asymptomatic populations.
6. H2 blockers do not interfere with positive results.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical evaluations performed with the first generation Premier Platinum HpSA demonstrated that an ELISA-based assay could reliably and predictably detect *H. pylori* antigen in human stool in symptomatic patients. Studies also demonstrated the test can be used to monitor the efficacy of eradication therapy.

The Premier Platinum HpSA was evaluated on 200 symptomatic adults at one Midwestern United States location, one site in Canada, and two sites in Italy. The patients studied had a wide cross-section of gastric pathologies noted, including: antral gastritis (n=81), antral gastropathy (n=25), antral erosions (n=24), esophagitis (n=21), duodenal ulcer (n=15), erosive duodenitis (n=10), GERD (n=10), "normal" (n=10), duodenitis (n=9), gastric ulcer (n=8), total stomach gastritis (n=6), hiatal hernia (n=6), Schatzki's ring (n=4), pyloric ulcer (n=2), and esophageal ulcer (n=1). HpSA test results were compared to diagnosis of *H. pylori* infection as judged by objective reference methods (culture, rapid urease, histology and UBT). Patients were considered positive if culture was positive, or if two or more of the other three tests were positive. Nine patients with negative or no culture results, and only one other test positive, were considered unevaluable. The HpSA test exhibited 96.1% sensitivity and 95.7% specificity when compared to the reference method. Confidence intervals were calculated by the exact binomial method.

Trial Site #1

TEST		DIAGNOSIS		Sensitivity	Specificity	Pos. PV	Neg. PV	Correlation
Method	Result	Infected	Not Infected	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	17	3	94.4%	91.4%	85.0%	97.0%	92.5%
EIA	Neg	1	32	72.7-99.9%	76.9-98.2%	62.1-96.8%	84.2-99.9%	81.8-97.9%
	Equ	0	0					

Reference Methods: Histology, Rapid Urease, Breath Test. Readings Single and Dual Wavelength.

Trial Site #2

TEST		DIAGNOSIS		Sensitivity	Specificity	Pos. PV	Neg. PV	Correlation
Method	Result	Infected	Not Infected	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	9	0	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
EIA	Neg	0	8	66.4-100.0%	63.1-100.0%	66.4-100.0%	63.1-100.0%	80.5-100.0%
	Equ	0	0					

Reference Methods: Histology, Rapid Urease, Culture, Breath Test. Readings Single and Dual Wavelength.

Trial Site #3

TEST		DIAGNOSIS		Sensitivity	Specificity	Pos. PV	Neg. PV	Correlation
Method	Result	Infected	Not Infected	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	44	0	97.8%	100.0%	100.0%	96.0%	98.6%
EIA	Neg	1	24	88.2-99.9%	85.8-100.0%	92.0-100.0%	79.6-99.9%	92.2-100.0%
	Equ	1	0					

Reference Methods: Histology, Rapid Urease, Culture, Breath Test. Readings Single Wavelength.

Trial Site #4

TEST		DIAGNOSIS		Sensitivity	Specificity	Pos. PV	Neg. PV	Correlation
Method	Result	Infected	Not Infected	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	29	1	93.5%	96.3%	96.7%	92.9%	94.8%
EIA	Neg	2	26	78.6-99.2%	81.0-99.9%	82.8-99.9%	76.5-99.1%	85.6-98.9%
	Equ	2	0					

Reference Methods: Histology, Rapid Urease. Readings Dual Wavelength.

Combined Data From All Sites

TEST		DIAGNOSIS		Sensitivity	Specificity	Pos. PV	Neg. PV	Correlation
Method	Result	Infected	Not Infected	±95% CI	±95% CI	±95% CI	±95% CI	±95% CI
PPHpSA	Pos	99	4	96.1%	95.7%	96.1%	95.7%	95.9%
EIA	Neg	4	90	90.4-98.9%	89.5-98.8%	90.4-98.9%	89.5-98.8%	92.2-98.2%
	Equ	3	0					

Therapeutic Monitoring:

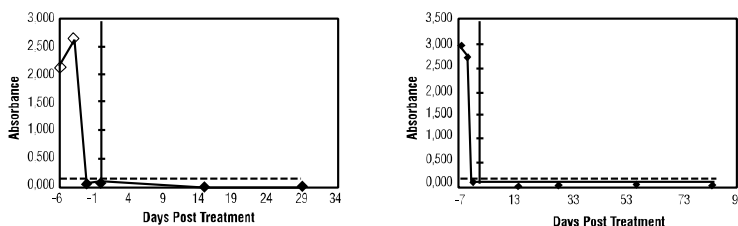
Four sites examined the utility of the stool antigen test for monitoring anti-*H. pylori* treatment in 97 patients who initially tested positive by endoscopy (culture, histology, and rapid urease). Premier Platinum HpSA testing and endoscopic biopsies were performed four weeks after completion of physician-prescribed, *H. pylori* eradication therapy. The test results are compared in the following table. Culture, histology, and rapid urease were used to determine eradication as defined by FDA guidelines.²²

Overall: HpSA vs. 4 Week Scope			
HpSA	4 Weeks Post Treatment		
Result	Infected	Eradicated	
Positive	18	3	
Negative	1	73	
Statistic	Value	95% CI	
Sensitivity	94.7%	74.0-99.9%	
Specificity	96.1%	88.9-99.2%	
Positive PV	85.7%	63.7-97.0%	
Negative PV	98.6%	92.7-100%	
Correlation	95.8%	89.6-98.8%	

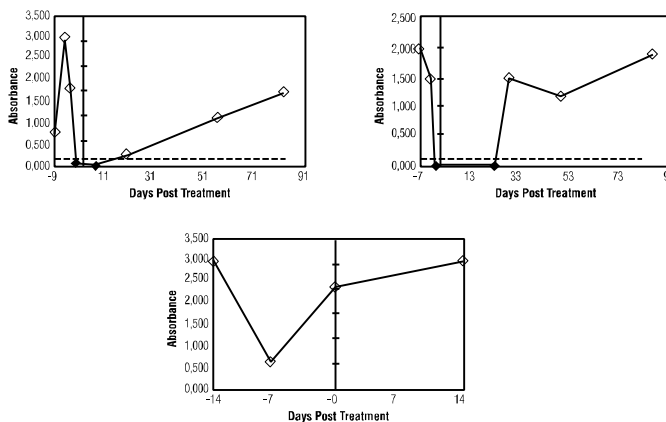
Premier Platinum HpSA correctly identified 18/19 (94.7%) of the infected and 73/76 (96.1%) of the eradicated patients. Two of the 97 stools were equivocal by HpSA (2%). The false negative stool was from a patient that was positive by culture, histology and rapid urease. Three false positive HpSA results were obtained from patients that were negative by all other methods (culture, histology, and rapid urease).

Response to treatment is generally noted by a negative HpSA test within 5 to 7 days after initiating treatment. Positive results at this time, or later, indicate ineffective therapy or recurrence. Recurrence can result from lack of patient compliance with the drug regimen, ineffective drugs, resistant strains of *H. pylori*, improper dosage, etc. Recurrent *H. pylori* infection generally occurs by four weeks after termination of therapy. Occasionally, however, infections will remain cryptic beyond four weeks. This observation supports accepted medical practice that determination of eradication utilizing any diagnostic method should be done at least four weeks following completion of therapy. The figures below are typical response profiles for successful and unsuccessful eradication therapies. The vertical bar indicates completion of therapy (Day 0). Days to the left of Day 0 reflect the period that patients were taking drugs. The positive cut-off is shown as horizontal dashed lines.

Eradicated Patient Profiles



Non-Eradicated (Infected) Patient Profiles



Comparison of Premier Platinum HpSA PLUS to Premier Platinum HpSA:

Tests with 291 samples from symptomatic patients collected either prior to or following treatment were used to demonstrate that Premier Platinum HpSA PLUS performed similarly to Premier Platinum HpSA. Thirty three of these samples were originally evaluated in an earlier trial to demonstrate the effectiveness of Premier Platinum HpSA. Test performance including 95% confidence intervals is detailed in the following table.

PP HpSA PLUS	PP HpSA (Predicate)		
	Positive	Negative	Indeterminate
Positive	94	10	3
Negative	0	183	1
Agreement	Positive Test	Negative Test	Overall
	94/94 = 100%	183/193 = 94.8%	277/287 = 96.5%

Eight of the 10 samples that were positive by Premier Platinum HpSA PLUS, but negative by Premier Platinum HpSA, were positive by CLO, histology or UBT testing. The three samples that were positive by Premier Platinum HpSA PLUS but indeterminate by Premier Platinum HpSA were positive by CLO, histology or UBT testing. The one sample, that was negative by Premier Platinum HpSA PLUS but indeterminate by Premier Platinum HpSA, was negative by CLO, histology or UBT testing.

Comparison of Modified Premier Platinum HpSA PLUS to Premier Platinum HpSA PLUS (Predicate):

One hundred and fifty-nine (159) archived, unpreserved stool samples from symptomatic patients were analyzed for *H. pylori* antigen by the modified Premier Platinum HpSA PLUS and Premier Platinum HpSA PLUS (Predicate) to demonstrate that changes to the microwell and conjugate antibodies do not affect assay performance. Test performance including 95% confidence intervals is detailed in the following table.

Modified PP HpSA PLUS	PP HpSA PLUS (Predicate)		
	Positive	Negative	Total
Positive	57	0	57
Negative	0	102	102
Total	57	102	159
95% CI			
Positive Agreement	57/57	100.0%	93.7-100.0%
Negative Agreement	102/102	100.0%	96.4-100.0%

REPRODUCIBILITY

Assay precision, intra-assay variability and inter-assay variability were assessed with a reference panel prepared from moderately positive samples (n=3), low positive samples (n=3), high negative samples (n=3) and a true negative sample (n=1). In addition, the positive and negative kit controls were run when each panel was tested. Each panel was tested once a day by two technicians, at three different laboratory sites, for 5 consecutive days. Overall, 100% (300/300, 98.7-100%, 95% CI) of results obtained with the Premier Platinum HpSA PLUS were as expected. There were no invalid results generated during the study (0.0%; 0/300; 0.0-1.3%, 95% CI).

CROSSREACTIVITY

The specificity of Premier Platinum HpSA PLUS was tested by utilizing the following bacterial or viral strains. Potentially cross-reactive microorganisms were added at a target concentration of 1.0×10^7 CFU/mL (bacteria or fungi), or a concentration greater than 1×10^9 TCID₅₀/mL (viruses), to a natural negative and a contrived positive sample. None of the organisms affected positive or negative test results.

Microorganism or virus

Adenovirus 41, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* 8739, *Escherichia coli* 9637, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermanii*, *Escherichia hermanii* EMDI-64, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, Rotavirus, *Salmonella dublin*, *Salmonella hilversum*, *Salmonella heidelberg* (Group B), *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan Strain I), *Staphylococcus epidermidis* and *Yersinia enterocolitica*

ANALYTICAL SENSITIVITY

The Premier Platinum HpSA PLUS test can detect ≥ 4.66 ng *H. pylori* protein/mL of stool.

TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES

The following substances, that may be present in human stool, do not interfere with positive or negative test results at the stated concentrations per 500 μ L human stool: Barium sulfate – 25 mg, Mylanta 11.5 mg, Pepto Bismol – 0.44 mg, Prilosec (omeprazole) – 1 mg, Tagamet (cimetidine) – 1 mg, Tums – 10 mg, Hemoglobin – 62.5 mg, Mucin – 17 mg, NSAID Ibuprofen – 0.25 mg, Stearic acid – 5.3 mg, Palmitic acid – 2.65 mg, White blood cells – 250 μ L, Whole blood – 250 μ L

premier platinum

HpSA® PLUS

Test immunoenzimatico per la ricerca di Antigeni di *Helicobacter pylori*
in campioni fecali per la diagnosi ed il monitoraggio della terapia

REF 601396

IVD

Rx Only

FINALITA' D'USO

Premier Platinum HpSA PLUS è un test immunoenzimatico qualitativo (EIA) per la ricerca di antigeni di *Helicobacter pylori* in campioni fecali. I risultati del test sono da utilizzarsi a supporto della diagnosi dell'infezione causata da *Helicobacter pylori* e consentono inoltre di monitorare la risposta del paziente alla terapia. La pratica clinica suggerisce che i test per la conferma dell'eradicazione, indipendentemente dalla metodica utilizzata, debbano essere effettuati almeno quattro settimane dopo la conclusione della terapia.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Fin dalla sua scoperta, avvenuta più di 20 anni fa da parte di Marshall e Warren,¹ l'*Helicobacter pylori* è riconosciuto in tutto il mondo come uno degli agenti patogeni più comuni e importanti.² L'*Helicobacter pylori* è stato definitivamente confermato come un agente eziologico della gastrite cronica, dell'ulcera peptica, nel linfoma del tessuto linfoide associato alla mucosa gastrica e nell'adenocarcinoma gastrico.^{1,3-7}

La nicchia ecologica nell'uomo sembra essere limitata allo stomaco e al duodeno. I pazienti che ospitano l'organismo si dividono in due gruppi principali. Il primo gruppo non mostra segni o sintomi di malattia gastrointestinale e viene considerato come "colonizzato". Il secondo gruppo mostra segni e sintomi gastrointestinali e viene considerato come "infetto". Il processo attraverso il quale un individuo viene colonizzato o infettato è ancora oggetto di ricerca.^{3,4,8-10} Molte sono le possibili modalità di trasmissione dell'*Helicobacter pylori* nell'uomo; fra gli altri, sono stati indicati serbatoi animali, di acqua contaminata e serbatoi orali.¹¹

I test diagnostici dell'*H. pylori* possono essere classificati come invasivi (endoscopia, biopsia) o non invasivi (test sierologico, test del respiro, test dell'antigene fecale). Nei test invasivi, viene prelevato un campione istologico dal tratto gastrointestinale superiore per la successiva analisi al microscopio. Il tessuto viene anche coltivato per *H. pylori* o esaminato con il test rapido dell'ureasi. Questa metodica offre i vantaggi di individuare un'infezione attiva, ha un elevato grado di specificità e un elevato valore predittivo positivo. Gli svantaggi di un test invasivo comprendono il rischio e il disagio per il paziente ed il fatto che una colonizzazione a macchia del batterio potrebbe sfuggire alla biopsia. La coltura di materiale biotico richiede tempo e può produrre risultati falso negativi a causa di difficoltà tecniche intrinseche.^{3,12-15}

L'Urea 'Breath Test' (UBT) è un tipo di test non invasivo che individua attività ureasica dell'*H. pylori*. Sebbene l'UBT sia altamente sensibile e specifico, esso presenta una serie di inconvenienti. L'UBT richiede tempo, comporta l'uso di strumenti di rivelazione specialistici e prevede l'ingestione da parte del paziente di urea marcata con isotopo.^{3,16,17} I test sierologici, anch'essi non invasivi, basati sull'individuazione di IgG contro *H. pylori* sono utili per l'esame primario di pazienti che presentano infezioni non complicate, ma non distinguono fra esposizione passata e infezione attiva.^{6,11,18} Il test dell'antigene fecale è stato studiato e provato a lungo ed oggi è accettato come test non invasivo, accurato sia prima che dopo la terapia.¹⁹⁻²¹ Il recente Maastricht Consensus Report V, infatti, raccomanda l'uso del test dell'antigene fecale e dell'UBT come supporto alla diagnosi delle infezioni da *H. pylori*.²²

Premier Platinum HpSA PLUS è un test immunoenzimatico su micropiastro che rileva l'antigene di *Helicobacter pylori* in campioni fecali umani. Il test non richiede calcoli e la lettura colorimetrica visiva dei risultati rende l'interpretazione oggettiva e semplice. Inoltre, il test HpSA permette di valutare l'efficacia del trattamento durante e dopo la terapia. Il test Premier Platinum HpSA PLUS è una nuova versione del test Premier Platinum HPSA che fornisce segnali più intensi per i risultati positivi e una miglior discriminazione tra positivi e negativi.

PRINCIPI BIOLOGICI

Il test Premier Platinum HpSA PLUS utilizza pluralità di anticorpi monoclonali anti-*H. pylori* adsorbiti su micropozzetti (pluralità è definita come una miscela di anticorpi monoclonali). I pozzetti, dopo l'aggiunta del campione diluito e della pluralità di anticorpi monoclonali coniugati con perossidasi, vengono incubati per un'ora a temperatura ambiente. Viene poi effettuato un lavaggio per eliminare i reagenti in eccesso. Dopo aggiunta del Substrato I, i pozzetti vengono incubati per 10 minuti a temperatura ambiente. In presenza di enzima legato, si ha sviluppo di colore. Dopo aggiunta della Soluzione di Stop I, si procede alla lettura visiva o spettrofotometrica dei risultati.

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

- Pozzetti Microtiter Adsorbiti con Anticorpi** - Strisce di micropozzetti, frazionabili singolarmente, adsorbiti con una pluralità di anticorpi monoclonali murini, specifici per *H. pylori*.
- Controllo Positivo** - *H. pylori* inattivato diluito in 10 mM soluzione tampone fosfato con 0,02% Thimerosal, pH 7,2.
- Controllo Negativo/Diluente del Campione** - Soluzione tampone fosfato 10 mM, pH 7,2 (contenente Thimerosal 0,02% come conservante).
- Premier Soluzione di Lavaggio I (20X)** - Soluzione tampone fosfato concentrata, 180 mM, pH 6,8 (contenente Thimerosal 0,2% come conservante).
- Coniugato Enzimatico** - Una pluralità di anticorpi monoclonali murini specifici per *H. pylori*, marcati con perossidasi di rafano, in soluzione tampone Tris 50 mM, pH 7,8 (contenente Thimerosal 0,02% come conservante).
- Premier Substrato I** - Soluzione tampone contenente perossido di urea e tetrametilbenzidina. (pH 5,0)
- Premier Soluzione di Stop I** - acido fosforico 1 M. ATTENZIONE: evitare il contatto con la pelle. Risciacquare con acqua se si verifica contatto.
- Pipette di trasferimento (una per ogni campione). Ogni pipetta è marcata per indicare i volumi di 50 µL, 100 µL, 200 µL e 300 µL.
- Foglio di pellicola adesiva per sigillare i pozzetti.
- Bastoncini applicatori in legno.

MATERIALI NON FORNITI

- Provette (12 x 75 mm) per la diluizione del campione
- Acqua distillata o deionizzata
- Spruzzetta per i lavaggi
- Cilindro graduato per preparare la soluzione di lavaggio I diluita (1X)
- Lettore per micropiastre EIA dotato di filtri per la lettura in assorbanza a 450 nm o a 450/630 nm*
- Lavatore di piastre semi-automatico. (ad esempio-BioTek Elx50)*


* **Note:** è responsabilità dell'utilizzatore validare l'utilizzo di questo prodotto con i lavatori di piastre ed i lettori.


PRECAUZIONI

- Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
- I campioni dei pazienti possono contenere agenti infettivi e devono pertanto essere manipolati ed eliminati come materiali potenzialmente pericolosi.
- Tutti i reagenti devono essere delicatamente mescolati prima dell'uso.
- Non utilizzare pozzetti, Coniugato Enzimatico, Substrato I, Controllo Positivo appartenenti a kit con lotti differenti (Il Diluente del Campione, il Premier Soluzione di Lavaggio I (20X) e la Premier Soluzione di Stop I sono intercambiabili tra kit con lotti differenti, purché utilizzati entro la data di scadenza specifica)
- Lasciare che tutti i reagenti raggiungano una temperatura compresa tra 19 e 27 C prima dell'uso.
- Tenere i flaconi dei reagenti in posizione verticale e ad una distanza opportuna dai pozzetti per consentire l'erogazione della quantità esatta di reagente.
- Non usare i componenti del kit oltre la data di scadenza.
- Richiudere ciascun flacone con il tappo colorato corrispondente.
- Eliminare tutti i materiali usati durante il test in appositi contenitori. Trattare i rifiuti come materiale potenzialmente infettivo.
- Il Controllo Positivo contiene *H. pylori* inattivato. Deve comunque essere manipolato come materiale potenzialmente infetto.
- Evitare il contatto della Soluzione di Stop I (acido fosforico 1 M) con la pelle: risciacquare immediatamente con acqua se tale contatto dovesse verificarsi.
- Non riutilizzare i micropozzetti

13. I micropozzetti non utilizzati devono essere riposti immediatamente nella busta fornita che deve essere richiusa accuratamente e conservata a 2-8 C. E' molto importante proteggere le strisce dall'umidità.
14. Le pipette di trasferimento fornite devono essere usate per la preparazione del campione e la sua distribuzione. Usare una pipetta per ciascun campione.
15. Evitare schizzi mentre si distribuiscono i campioni nei pozzetti: per ottenere ciò si consiglia di introdurre il puntale della pipetta fino a metà circa della profondità del pozzetto e di indirizzare il flusso di liquido verso le pareti dello stesso.
16. Il lavaggio dei pozzetti deve essere eseguito esattamente come descritto nella procedura del test. Un lavaggio inadeguato può essere causa di un elevato background in ogni saggio immunoenzimatico.
17. Tutti i reagenti tranne la Premier Soluzione di Lavaggio I (20X) sono forniti già diluiti alla concentrazione appropriata.
18. Ogni variazione dei tempi di incubazione può alterare la sensibilità e la specificità del test e quindi deve essere evitata.
19. I campioni fecali devono essere mescolati in modo appropriato (in base alla loro consistenza) per garantire la dispensazione di un campione rappresentativo.
20. Nella Premier Soluzione di Lavaggio I (20X), quando conservato a 2-8 C, si possono formare dei precipitati. Tali precipitati si dissolvono quando viene preparata la diluizione di lavoro.
21. Non utilizzare flaconi privi di etichetta, numero di lotto e data di scadenza.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

 <p>Premier Stop Solution I</p>	<p>avvertenza Pericolo indicazioni di pericolo H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari Consigli di Prudenza - UE (§28, 1272/2008) P260 - Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso P280 - Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/ il viso. P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/ fare una doccia. P363 - Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente P304 + P340 - IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico P301 + P330 + P331 - IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito P405 - Conservare sotto chiave P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato</p>
--	--

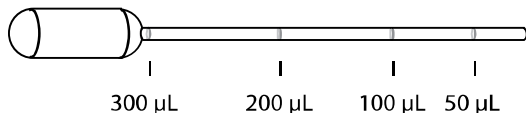
 <p>Premier 20X Wash Buffer I</p>	<p>avvertenza Attenzione indicazioni di pericolo H312 - Nocivo per contatto con la pelle Consigli di Prudenza - UE (§28, 1272/2008) P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. P321 - Trattamento specifico (vedere le istruzioni supplementari relative alla somministrazione di antidoti su questa etichetta).</p>
--	---

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La data di scadenza è indicata sull'etichetta del kit. Conservare il kit a 2-8 C e riporlo in frigorifero immediatamente dopo l'utilizzo.

NOTE PROCEDURALI

Il diagramma seguente mostra la pipetta di trasferimento Premier Platinum HpSA PLUS:



PREPARAZIONE DEI REAGENTI

1. Lasciare che tutti i componenti del kit, busta chiusa dei micropozzetti inclusa, raggiungano la temperatura di 19-27 C prima dell'uso.
2. Preparare una quantità sufficiente di Soluzione di Lavaggio I 1X (ESEMPIO: 4 mL di Soluzione di Lavaggio I 20X + 76 mL di acqua distillata o deionizzata sono sufficienti per lavare una striscia di pozzetti). Versare la Premier Soluzione di Lavaggio diluita in una spruzzetta pulita. La Soluzione di Lavaggio I 1X può essere conservata a temperatura ambiente (19-27 C) fino a tre mesi.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il campione deve pervenire al laboratorio in un apposito contenitore ermetico adatto al trasporto e conservato a 2-8 C fino al momento dell'esame. Il campione dovrebbe essere analizzato il più velocemente possibile, ma può essere conservato fino a 72 ore a 2-8 C prima dell'esecuzione del test. (Vedi la sezione PREPARAZIONE DEL CAMPIONE per le istruzioni sulla diluizione del campione.) Se il test non può essere eseguito in questo lasso di tempo, i campioni devono essere congelati immediatamente all'arrivo e conservati in freezer (-20 C o -80 C) fino al momento dell'esame. I campioni possono essere congelati e scongelati un massimo di 2 volte.

NOTA: Campioni fecali conservati in terreni di trasporto, tamponi, o in conservanti non sono idonei per questo test.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1. Utilizzando un pipettatore, aggiungere 500 µL di Diluente del Campione ad una provetta.
2. Mescolare bene i campioni fecali prima di iniziare il test:
 - a. Feci liquide, o semi-solide: Utilizzando una pipetta appropriata, aggiungere 100 µL di feci (seconda tacca della pipetta) al Diluente del Campione. Usando la stessa pipetta aspirare ed espellere la sospensione fecale diverse volte quindi agitare con vortex per 15 secondi. Conservare la pipetta di trasferimento nel campione per l'utilizzo successivo.
 - b. Feci solide: usando un bastoncino di legno trasferire una piccola quantità di campione fecale (5-6 mm di diametro), precedentemente mescolato, nella provetta contenente il Diluente del Campione. Sminuzzare il campione fecale usando il bastoncino di legno, quindi agitare con vortex per 15 secondi.
3. Dopo essere stati diluiti, i campioni fecali possono essere centrifugati. Centrifugare a circa 2750 x G per cinque minuti, oppure fino a quando fase solida e fase liquida si sono separate. Procedere con il test dopo aver recuperato il sovranatante.

PROCEDURA DEL TEST

1. Dopo che il kit ha raggiunto la temperatura ambiente, aprire la busta e preparare un numero di pozzetti richiesto (in ogni seduta 1 pozzetto per ogni campione più un pozzetto per il Controllo Positivo e uno per il Controllo Negativo). Porre le strisce di pozzetti nel supporto e registrare la posizione di ciascun pozzetto sul supporto. I pozzetti non utilizzati devono essere riposti immediatamente nella busta.
2. Usando le pipette di trasferimento, aggiungere 100 µL di feci diluite (seconda tacca dalla punta della pipetta) al pozzetto appropriato (posizionare la pipetta a metà del pozzetto e lasciar scorrere il campione sulla parete del pozzetto stesso).
3. Aggiungere 2 gocce di Controllo Positivo e 100 µL di Diluente del Campione/Controllo Negativo ai pozzetti corrispondenti.
4. Aggiungere 1 goccia di Coniugato ad ogni pozzetto (circa 50 µL). Mescolare agitando la piastra per 30 secondi.
5. Tagliare una quantità sufficiente di pellicola adesiva e sigillare accuratamente i pozzetti. Incubare la piastra per 1 ora a 19-27 C.
6. Rimuovere con cautela la pellicola adesiva dalla piastra e lavare i pozzetti con le seguenti modalità:
 - a. Metodo manuale:
 - i Svuotare il contenuto della piastra in un contenitore per materiale potenzialmente infetto.
 - ii Scuotere vigorosamente la piastra su carta assorbente pulita.
 - iii Riempire i pozzetti con Soluzione di Lavaggio I 1X. Per evitare la formazione di bolle, direzionare il flusso di tampone della spruzzetta verso la parete del pozzetto.
 - iv Ripetere il ciclo di lavaggio (svuotare, scuotere su carta assorbente, riempire) per 4 volte, per un totale di 5 cicli. Dopo l'ultimo riempimento, svuotare e scuotere la piastra su carta assorbente pulita abbastanza vigorosamente da rimuovere più wash buffer possibile, senza comunque asciugare i pozzetti completamente.
 - b. Metodo semi automatizzato con strumentazione validata:
 - i Aspirare il contenuto dei pozzetti.
 - ii Riempire completamente i pozzetti con Soluzione di Lavaggio I 1X (approx 300-350 µL per ogni pozzetto), poi aspirare. La pompa del lavatore deve essere regolata in modo da evitare la formazione di bolle durante il riempimento dei pozzetti ed affinché ad ogni lavaggio il liquido sia aspirato completamente.
 - iii Ripetere il passaggio ii un minimo di altre 4 volte. Al termine dell'ultimo lavaggio, i pozzetti devono essere aspirati accuratamente al fine di rimuovere più liquido possibile.
7. Pulire i bordi del pozzetto con un tovagliolo di carta pulito.
8. Aggiungere 2 gocce di Premier Substrato I ad ogni pozzetto (approx. 100 µL). Mescolare agitando la piastra per 30 secondi. Incubare a 19-27 C per 10 minuti.
9. Aggiungere 2 gocce di Premier Soluzione di Stop I ad ogni pozzetto (approx. 100 µL), agitando la piastra per 30 secondi.

NOTA: la reazione positiva sviluppa un colore blu che diventa giallo dopo l'aggiunta della Premier Soluzione di Stop I.
10. Osservare e registrare i risultati. Il risultato del test può essere ottenuto visivamente o mediante lettura con spettrofotometro:
 - a. Lettura visiva - Leggere entro 15 minuti dopo l'aggiunta della Premier Soluzione di Stop I.
 - b. Lettura spettrofotometrica - Azzerare il lettore EIA contro aria. Pulire il fondo esterno dei pozzetti con un tovagliolo di carta. Leggere l'assorbanza a 450 nm o a 450/630 nm entro 15 minuti dall'aggiunta della Premier Soluzione di Stop I.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La seguente interpretazione dei risultati è applicabile sia a livello di prima diagnosi sia per il monitoraggio della terapia.

Letture visiva

NEGATIVO = Incolore o debolmente giallo

POSITIVO = Giallo ben definito

Per essere definito positivo, un colore debolmente giallo deve essere valutato mediante lettura spettrofotometrica. Se lo spettrofotometro non è disponibile, il cut off deve essere determinato mediante un metodo alternativo.

Letture spettrofotometrica a singola lunghezza d'onda (450 nm)

NEGATIVO < 0,140

POSITIVO ≥ 0,140

Controllo Negativo < 0,140

Controllo Positivo ≥ 0,640

Letture spettrofotometrica a doppia lunghezza d'onda (450/630 nm)

NEGATIVO < 0,100

POSITIVO ≥ 0,100

Controllo Negativo < 0,100

Controllo Positivo ≥ 0,600

Se il valore di assorbanza del Controllo Negativo è < 0,000, riazzerare il lettore contro aria e ripetere la lettura.

Un risultato positivo indica la presenza di antigeni di *H. pylori*. Un risultato negativo può indicare l'assenza di *H. pylori* o che il livello di antigene nel campione è inferiore al limite di rilevazione del metodo. L'entità del valore di assorbanza superiore al cut-off non è indicativo della severità dell'infezione e non può essere correlato con un titolo. Reazioni molto positive possono dare un precipitato colore porpora entro pochi minuti dall'aggiunta della Soluzione di Stop I.

CONTROLLO QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, statali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

1. Al momento di ogni utilizzo, i componenti del kit devono essere ispezionati visivamente per segni evidenti di contaminazione, congelamento o perdita. Non utilizzare reagenti contaminati o sospetti. Il Controllo Positivo e il Controllo Negativo devono essere utilizzati in ogni seduta. Fare riferimento alla sezione INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI per la descrizione dei risultati attesi con i reagenti di controllo. Il test deve essere ritenuto non valido quando anche solo uno dei reagenti di controllo non mostra i risultati attesi. In tali circostanze ripetere le analisi e i controlli. In caso di ulteriore fallimento del test e se i reagenti non sono scaduti, contattare il Servizio Assistenza Tecnica Meridian (per l'Italia 0331433636).
2. I controlli sono utilizzati per monitorare la reattività dei reagenti. Il mancato funzionamento dei controlli può significare che uno o più reagenti non sono reattivi al momento dell'utilizzo, che il test non è stato effettuato correttamente, o che i reagenti o il campione non sono stati aggiunti. Il Controllo Positivo non assicurerà la precisione del cut-off.
3. Dubitare del procedimento di lavaggio o del dispositivo se il Controllo Negativo e/o il Controllo Positivo danno risultati fuori dalle specifiche. Aumentare il numero dei lavaggi, lavare più energicamente, decantare bene o ricalibrare il lavatore potrebbe risolvere il problema. **Se non si ottengono i risultati attesi con i Controlli, come prima opzione per identificare la causa del fallimento ripetere i test di controllo. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale (in Italia 0331433636).**
4. Con questo test non si sono osservate interferenze dovute alla matrice poiché i capioni sono significativamente diluiti in Diluente del Campione prima di essere analizzati. Per questa ragione, il Controllo Positivo ed il Controllo Negativo forniti nel kit sono preparati utilizzando la stessa matrice del Diluente del Campione. Se si vuole utilizzare controlli aggiuntivi (non forniti) della stessa natura del campione, l'utilizzatore può preparare delle diluizioni utilizzando il Diluente del Campione, come descritto nel paragrafo PREPARAZIONE DEL CAMPIONE. Utilizzare 100 µL per pozzetto per ogni controllo così preparato.

VALORI ATTESI

Ricerche epidemiologiche sull'*H. pylori* hanno dimostrato che questo organismo è presente in tutto il mondo.^{18, 23, 24} Gastriti causate dall'*H. pylori* sono state associate a fattori quali età, origine etnica, dimensione del nucleo familiare e classe socioeconomica.^{25, 26} La prevalenza dell'infezione da *H. pylori* in una data popolazione può variare dal 20% al 90%. Tuttavia, in pazienti ai quali sono state diagnosticate ulcere duodenali, l'infezione si è presentata in ogni gruppo di età con una percentuale di circa l'80%.¹⁸ Attualmente, le terapie di eradicazione raccomandate hanno una percentuale di successo del 75-90%.

Premier Platinum HpSA PLUS rileva la presenza di antigeni di *H. pylori* in campioni fecali. I valori attesi per una data popolazione dovrebbero essere determinati per ogni laboratorio. Il tasso di positività può variare in dipendenza della zona geografica, del metodo di raccolta, trattamento e trasporto del campione, dal test utilizzato e dallo stato generale di salute della popolazione sotto studio. Come dimostrato tramite Premier Platinum HpSA in studi condotti negli Stati Uniti, in Canada e in Italia l'incidenza dell'infezione può variare dal 34% al 53% e al 69%, rispettivamente.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Il test è qualitativo e quindi i valori ottenuti non devono essere interpretati in modo quantitativo.
- I risultati del test devono essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente e da altri metodi diagnostici.
- E' dimostrato che terapie a base di antibiotici, inibitori della pompa protonica e preparazioni a base di bismuto possono sopprimere *H. pylori* e l'utilizzo di questi farmaci può dare origine a risultati falso-negativi, indipendentemente dal metodo diagnostico utilizzato (Coltura, istologia, test rapido all'ureasi, UBT, ricerca dell'antigene). Se si ottiene un risultato negativo in un paziente che ha assunto tali farmaci nelle due settimane antecedenti l'esecuzione del test, tale risultato potrebbe essere un falso negativo ed il test deve essere ripetuto su un nuovo campione raccolto almeno due settimane dopo il termine della terapia. Se si ottiene un risultato positivo in un paziente che ha assunto tali farmaci nelle due settimane antecedenti l'esecuzione del test Premier Platinum HpSA PLUS, tale risultato deve essere considerato corretto. Come esempi, alcuni pazienti con infezione da *H. pylori* sono stati trattati con un inibitore di pompa protonica (Lansoprazolo) o bismuto per due settimane ed analizzati con Premier Platinum HpSA ed Urea Breath Test. Dopo due settimane dal termine del trattamento gli stessi pazienti sono stati rianalizzati. Al termine del trattamento entrambi i test sono risultati negativi per alcuni pazienti, ma sono risultati di nuovo positivi dopo due settimane (vedere tabella).

Trattamento	Tempo	Premier Platinum HpSA		Urea Breath Test	
		Pos/Totale	% Positivi	Pos/Totale	% Positivi
PPI	Fine del trattamento	15/20	75,0%	12/20	60,0%
	2 settimane dopo il trattamento	19/20	95,0%	18/20	90,0%
Bismuth	Fine del trattamento	15/20	75,0%	11/20	55,0%
	2 settimane dopo il trattamento	19/20	95,0%	18/20	90,0%

- Le caratteristiche del test non sono state stabilite per le feci acquose e diarroiche.
- Le caratteristiche del test non sono state stabilite per la popolazione di pazienti asintomatici.
- I bloccanti H2 non interferiscono con i risultati positivi.

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Le valutazioni cliniche condotte con il test di prima generazione Premier Platinum HpSA hanno dimostrato che un test ELISA può rilevare, in modo ripetibile e affidabile, l'antigene di *H. pylori* nelle feci di pazienti sintomatici. Gli studi hanno anche dimostrato che il test può essere utilizzato per monitorare l'efficacia della terapia di eradicazione.

Il test Premier Platinum HpSA è stato valutato testando 200 pazienti adulti sintomatici, in quattro diversi centri di cui uno negli Stati Uniti, uno in Canada e due in Italia. I pazienti studiati presentavano un'ampia casistica di patologie gastriche: gastrite antrale (n=81), gastropatia antrale (n=25), erosione antrale (n=24), esofagite (n=21), ulcera duodenale (n=15), duodenite erosiva (n=10), GERD (n=10), "normali" (n=10), duodenite (n=9), ulcera gastrica (n=8), gastrite (n=6), ernia iatale (n=6), anelli di Schatzki (n=4), ulcera pilorica (n=2), ulcera esofagea (n=1). I risultati del test Premier Platinum HpSA PLUS sono stati confrontati con quelli ottenuti con i test di riferimento (coltura, test rapido all'ureasi, istologia e UBT). I pazienti sono stati considerati infetti da *H. pylori* se l'esame colturale risultava positivo o se almeno due degli altri test di riferimento erano positivi. Nove pazienti con coltura negativa o di cui non si aveva il risultato dell'esame colturale e con solo un altro test positivo sono stati esclusi dalla valutazione. Il test HpSA ha mostrato sensibilità pari al 96,1% e specificità 95,7% quando comparato al metodo di riferimento. Gli intervalli di confidenza sono stati calcolati mediante il metodo binomiale.

Sito n° 1

TEST		DIAGNOSI		Sensibilità	Specificità	Pos. PV	Neg. PV	Correlaz.
Metodo	Risultato	Infetto	Non Infetto	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	17	3	94,4%	91,4%	85,0%	97,0%	92,5%
EIA	Neg	1	32	72,7-99,9%	76,9-98,2%	62,1-96,8%	84,2-99,9%	81,8-97,9%
	Dubbio	0	0					

Metodi di riferimento: Istologia, Test rapido all'ureasi, UBT. Lettura a Singola e Doppia Lunghezza d'onda.

Sito n° 2

TEST		DIAGNOSI		Sensibilità	Specificità	Pos. PV	Neg. PV	Correlaz.
Metodo	Risultato	Infetto	Non Infetto	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	9	0	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
EIA	Neg	0	8	66,4-100,0%	63,1-100,0%	66,4-100,0%	63,1-100,0%	80,5-100,0%
	Dubbio	0	0					

Metodi di riferimento: Istologia, Test rapido all'ureasi, UBT. Lettura a Singola e Doppia Lunghezza d'onda.

Sito n° 3

TEST		DIAGNOSI		Sensibilità	Specificità	Pos. PV	Neg. PV	Correlaz.
Metodo	Risultato	Infetto	Non Infetto	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	44	0	97,8%	100,0%	100,0%	96,0%	98,6%
EIA	Neg	1	24	88,2-99,9%	85,8-100,0%	92,0-100,0%	79,6-99,9%	92,2-100,0%
	Dubbio	1	0					

Metodi di riferimento: Istologia, Test rapido all'ureasi, UBT. Lettura a Singola Lunghezza d'onda.

Sito n° 4

TEST		DIAGNOSI		Sensibilità	Specificità	Pos. PV	Neg. PV	Correlaz.
Metodo	Risultato	Infetto	Non Infetto	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	29	1	93,5%	96,3%	96,7%	92,9%	94,8%
EIA	Neg	2	26	78,6-99,2%	81,0-99,9%	82,8-99,9%	76,5-99,1%	85,6-98,9%
	Dubbio	2	0					

Metodi di riferimento: Istologia, Test rapido all'ureasi, UBT. Lettura a Doppia Lunghezza d'onda.

Dati complessivi

TEST		DIAGNOSI		Sensibilità	Specificità	Pos. PV	Neg. PV	Correlaz.
Metodo	Risultato	Infetto	Non Infetto	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	99	4	96,1%	95,7%	96,1%	95,7%	95,9%
EIA	Neg	4	90	90,4-98,9%	89,5-98,8%	90,4-98,9%	89,5-98,8%	92,2-98,2%
	Dubbio	3	0					

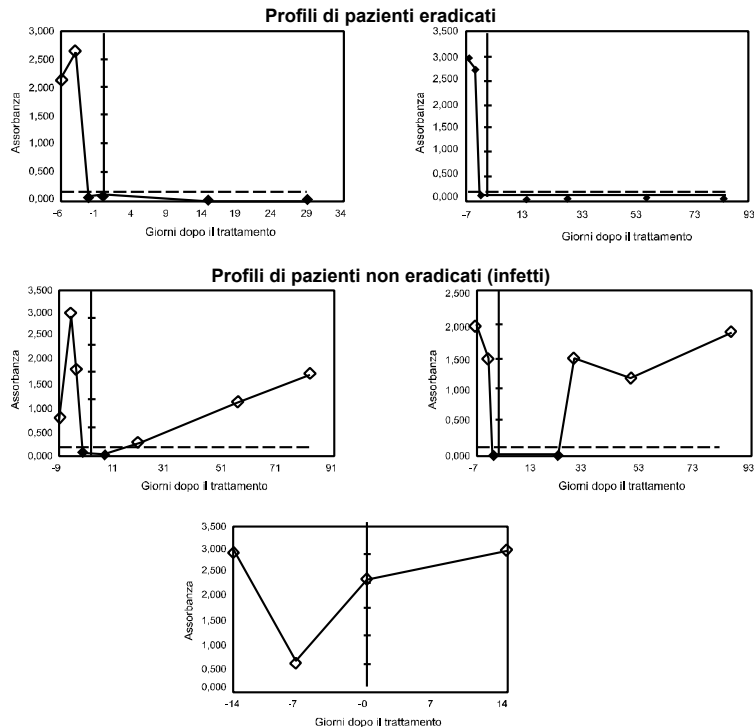
Monitoraggio della Terapia:

Quattro laboratori hanno valutato l'utilità del test di ricerca dell'antigene fecale per il monitoraggio della terapia in 97 pazienti che inizialmente erano risultati positivi all'esame endoscopico (coltura, istologia, test rapido all'ureasi). Dopo quattro settimane dal termine della terapia di eradicazione prescritta dal medico, sono stati effettuati i test Premier Platinum HpSA e gli altri esami endoscopici. I risultati delle analisi sono indicati nella tabella seguente. Allo scopo di determinare l'eradicazione del batterio, come richiesto dalle direttive FDA, sono stati utilizzati i seguenti metodi: coltura, istologia e test rapido all'ureasi.²²

Risultati HpSA vs. metodi endoscopici		
Risultati HpSA	4 Settimane post trattamento	
	Infetto	Eradicato
Positivo	18	3
Negativo	1	73
Statistica	Valore	95% CI
Sensibilità	94,7%	74,0-99,9%
Specificità	96,1%	88,9-99,2%
Positivo PV	85,7%	63,7-97,0%
Negativo PV	98,6%	92,7-100%
Correlazione	95,8%	89,6-98,8%

Il test Premier Platinum HpSA ha identificato correttamente 18/19 (94,7%) pazienti infetti e 73/76 (96,1%) di quelli eradicati. Due dei 97 campioni fecali sono risultati dubbi con il test HpSA (2%). Il risultato falso negativo ottenuto, riguardava un paziente che era risultato positivo alla coltura, all'istologia e al test rapido all'ureasi. Tre risultati falsi positivi si sono invece ottenuti in pazienti risultati negativi con tutti gli altri metodi (coltura, istologia e test rapido all'ureasi).

La risposta al trattamento è generalmente denotata da un test HpSA negativo dopo 5-7 giorni dall'inizio del trattamento. Un risultato positivo in questa fase o successivamente indica l'inefficacia della terapia o una ricaduta. La ricaduta può essere dovuta alla mancanza di compliance del paziente nei confronti della terapia farmacologica, inefficacia della terapia, ceppi resistenti di *H. pylori*, dosaggio inappropriato ecc...Reinfezioni di *H. pylori* generalmente si verificano entro quattro settimane dal termine del trattamento. Occasionalmente, comunque, le infezioni possono rimanere criptiche oltre le quattro settimane. Questa osservazione supporta la pratica medica accettata che la determinazione dell'eradicazione, con qualsiasi metodo diagnostico, debba essere effettuata almeno quattro settimane dopo il termine della terapia antibiotica. Le figure sotto riportate rappresentano i tipici profili di risposta alle terapie di eradicazione con esito positivo e negativo. La barra verticale indica il completamento della terapia (Giorno 0). I giorni a sinistra del Giorno 0 riflettono il periodo di assunzione dei farmaci. Il Cut Off del positivo è indicato da una barra orizzontale tratteggiata.



Comparazione tra Premier Platinum HpSA PLUS e Premier Platinum HpSA:

Test su 291 campioni ottenuti da pazienti sintomatici, sia prima che dopo il trattamento, sono stati utilizzati per dimostrare l'equivalenza nelle performances dei due test. Trentatré di questi campioni erano già stati analizzati in precedenza per dimostrare l'efficacia del test Premier Platinum HpSA. I risultati del test inclusi nell'intervallo di confidenza del 95% sono esposti nel dettaglio nella tabella seguente.

PP HpSA PLUS	PP HpSA		
	Positivo	Negativo	Indeterminato
Positivo	94	10	3
Negativo	0	183	1
Concordanza	Positivo	Negativo	Totale
	94/94 = 100%	183/193 = 94,8%	277/287 = 96,5%

Otto dei 10 campioni risultati positivi con Premier Platinum HpSA PLUS, ma negativi con Premier Platinum HpSA, sono risultati positivi mediante CLO test, istologia e UBT. I tre campioni risultati positivi con Premier Platinum HpSA PLUS, ma indeterminati con Premier Platinum HpSA, sono risultati positivi mediante CLO test, istologia e UBT. L'unico campione risultato negativo con Premier Platinum HpSA PLUS, ma indeterminato con Premier Platinum HpSA, è risultato negativo mediante CLO test, istologia e UBT.

Confronto del Premier Platinum HpSA PLUS Modificato con il Premier Platinum HpSA PLUS (Predicato):

Centocinquantanove (159) campioni fecali archiviati, non preservati, da pazienti sintomatici sono stati analizzati per l'antigene *H. pylori* mediante il Premier Platinum HpSA PLUS modificato ed il Premier Platinum HpSA PLUS (Predicato) per dimostrare che le modifiche sui pozzetti e anticorpi coniugati non influenzano le prestazioni del test. Le prestazioni del test che includono gli intervalli di confidenza al 95% sono dettagliate nella seguente tabella.

PP HpSA PLUS Modificato	PP HpSA PLUS (Predicato)		
	Positivo	Negativo	Totale
Positivo	57	0	57
Negativo	0	102	102
Totale	57	102	159
			95% CI
Concordanza Positiva	57/57	100.0%	93.7-100.0%
Concordanza Negativa	102/102	100.0%	96.4-100.0%

RIPRODUCIBILITÀ

La precisione del saggio, la variabilità intra-saggio e la variabilità inter-saggio sono state valutate con un pannello di riferimento preparato con campioni moderatamente positivi (n=3), campioni bassi positivi (n=3), campioni alti negativi (n=3) e un campione vero negativo (n=1). In aggiunta, i controlli positivo e negativo del kit sono stati utilizzati con ciascun pannello analizzato. Ciascun pannello è stato analizzato una volta al giorno da due tecnici, in tre diversi laboratori per 5 giorni consecutivi. Nel complesso, il 100% (300/300, 98.7-100%, 95% CI) dei risultati ottenuti con il Premier Platinum HpSA PLUS è stato come previsto. Non sono stati generati risultati invalidi durante lo studio (0.0%; 0/300; 0.0-1.3%, 95% CI).

CROSS-REATTIVITÀ

La specificità del Premier Platinum HpSA PLUS è stata analizzata utilizzando i seguenti ceppi batterici o virali. Potenzialmente i microorganismi cross-reattivi sono stati aggiunti ad una concentrazione target di 1.0×10^7 CFU/mL (batteri o funghi), o ad una concentrazione maggiore di 1×10^5 TCID₅₀/mL (virus), ad un campione negativo naturale e un positivo artificiale. Nessuno degli organismi ha influenzato i risultati positivi o negativi del test.

Virus e batteri (numero di ceppi testati)

Adenovirus 41, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* 8739, *Escherichia coli* 9637, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermanii*, *Escherichia hermanii* EMDI-64, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, Rotavirus, *Salmonella dublin*, *Salmonella hilversum*, *Salmonella heidelberg* (Group B), *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan Strain I), *Staphylococcus epidermidis* and *Yersinia enterocolitica*

SENSIBILITÀ ANALITICA

Il test Premier Platinum HpSA PLUS è in grado di rilevare un quantitativo $\geq 4,66$ ng di antigeni proteici di *H. pylori* per mL di feci.

ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI

Le seguenti sostanze, che possono essere presenti nei campioni fecali umani, non interferiscono con i risultati positivi o negativi del test alle concentrazioni dichiarate per 500 μ L di campione fecale umano: solfato di Bario – 25 mg, Mylanta 11.5 mg, Pepto Bismol – 0.44 mg, Prilosec (omeprazolo) – 1 mg, Tagamet (cimetidina) – 1 mg, Tums – 10 mg, Emoglobina – 62.5 mg, Mucina – 17 mg, NSAID Ibuprofene – 0.25 mg, acido Stearico – 5.3 mg, acido Palmitico – 2.65 mg, Globuli Bianchi – 250 μ L, Sangue intero – 250 μ L.

premier platinum

HpSA® PLUS

Test immuno-enzymatique pour la détection des antigènes *Helicobacter pylori* dans les échantillons de selles. Pour le diagnostic et le suivi thérapeutique.

REF 601396

IVD

Rx Only

BUT DE LA METHODE

Le coffret Premier Platinum HpSA PLUS, technique ELISA (EIA) est utilisé pour la recherche qualitative des antigènes d'*Helicobacter pylori* dans les échantillons de selles. Les résultats de ce test sont destinés à fournir une aide au diagnostic des infections à *H. pylori* et à surveiller la réponse pendant et après une thérapie chez les patients. Les pratiques médicales recommandent que quelle que soit la méthode utilisée, les tests réalisés pour confirmer l'éradication soient effectués au moins 4 semaines après la fin de la thérapie.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Helicobacter pylori a été découverte il y a plus de 20 ans par Marshall et Warren,¹ cet organisme est maintenant reconnu comme étant l'un des pathogènes les plus communs et les plus importants à l'échelle mondiale.² Il a été solidement établi que *Helicobacter pylori* est l'agent étiologique de la gastrite chronique, de l'ulcère peptique, du lymphome du système lymphoïde des muqueuses et de l'adénocarcinome de l'estomac.^{1, 3-7}

Chez l'humain, la niche écologique semble se restreindre à l'estomac et au duodénum. Les patients qui hébergent cet organisme se divisent en deux groupes fondamentaux. Le premier groupe ne présente ni signe ni symptôme de troubles gastro-intestinaux et est considéré comme étant « colonisé ». Le second groupe présente des signes et des symptômes gastro-intestinaux et est considéré comme étant « infecté ». Le processus par lequel une personne devient colonisée ou infectée est encore à l'étude.^{3, 4, 8-10} Plusieurs voies de transmission possibles de *Helicobacter pylori* à l'homme ont été suggérées : animaux, eau contaminée, réservoirs buccaux.¹¹

Les tests diagnostiques recherchant *H. pylori* peuvent être classés en deux catégories: invasifs (endoscopie, biopsie) ou non invasifs (sérologie, test respiratoire à l'urée et la recherche d'antigènes spécifiques dans les selles). Au cours des tests invasifs, on pratique une biopsie des voies gastro-intestinales supérieures et l'échantillon prélevé est examiné au microscope. Le tissu est également mis en culture pour isoler *H. pylori* ou évalué au moyen d'un test rapide à l'uréase. Cette stratégie offre l'avantage de détecter une infection évolutive et possède une haute spécificité et une valeur prédictive positive élevée. Les désavantages des tests invasifs comprennent les risques et l'inconfort pour le patient et le fait qu'une colonisation en plaques peut ne pas être décelée par la biopsie. La culture du matériel biopsique prend beaucoup de temps et peut produire des faux négatifs en raison des difficultés techniques qui lui sont propres.^{3, 12-15}

Le test respiratoire à l'urée (TRU) est un test non invasif qui détecte l'uréase extrêmement active de *H. pylori*. Bien que le TRU soit très sensible et spécifique, il présente plusieurs inconvénients notables. Il prend du temps, nécessite un matériel de détection spécial et exige que le patient ingère de l'urée marquée par isotope.^{3, 16, 17} Des tests sérologiques, également non invasifs, basés sur la détection des IgG dirigées contre *H. pylori* sont utiles pour le dépistage initial de patients qui présentent des infections non compliquées. Cependant ils ne permettent pas la distinction entre une exposition passée et une infection évolutive.^{6, 11, 18} Les tests de détection d'antigènes dans les selles ont été évalués à grande échelle et ont été reconnus comme tests non invasifs précis avant et après traitement.¹⁹⁻²¹ Le récent Rapport de consensus de Maastricht V recommande l'utilisation des tests de détection d'antigènes dans les selles et les TRU comme aides au diagnostic d'une infection par *H. pylori* en première intention.²²

Le test Premier Platinum HpSA PLUS permet de détecter la présence d'antigènes spécifiques de *H. pylori* dans les selles humaines, à l'aide d'une technique immunoenzymatique. Aucun calcul n'est nécessaire et la visibilité du changement de couleur rend l'interprétation des résultats simple et objective. De plus, le test Premier Platinum HpSA PLUS permet d'évaluer un traitement anti-*H. pylori*, établi ou nouveau, pendant et après la thérapie, de façon à surveiller l'efficacité du traitement, une rechute ou l'éradication. Le test Premier Platinum HpSA PLUS est une modification du test Premier Platinum HpSA. Il procure des résultats positifs d'une intensité accrue et une meilleure discrimination entre les résultats de test faiblement positifs et négatifs.

PRINCIPE DU TEST

Une pluralité d'anticorps monoclonaux de capture est adsorbée dans les puits de la microplaque du test Premier Platinum HpSA PLUS. (Le terme pluralité se définit dans ces lignes comme un mélange d'anticorps monoclonaux). Dans un premier temps, les échantillons dilués et le conjugué (une pluralité d'anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase) sont déposés dans les puits de la microplaque. Incuber une heure à température ambiante. Les éléments non fixés sont ensuite éliminés par lavage de la microplaque. Le Substrat (Premier Substrate I) est ajouté, et le mélange est incubé 10 minutes à température ambiante. Une réaction colorée apparaît en présence d'antigène *H. pylori*. La réaction est stoppée par ajout de la solution d'arrêt (Premier Stop Solution I) et les résultats sont interprétés par une lecture visuelle ou au spectrophotomètre.

MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

1. **Microplaque (puits sécables)** - recouverte d'une pluralité d'anticorps monoclonaux de souris spécifiques d' *H. pylori*.
2. **Contrôle positif** - Antigène inactivé d'*Helicobacter pylori* dilué dans un tampon phosphate 10 mM, avec 0,02% de thimerosal, pH 7,2.
3. **Contrôle négatif Diluant échantillons** - Solution de tampon phosphate 10 mM, pH 7,2, avec 0,02% de thimerosal.
4. **Solution de lavage concentrée 20X (Premier 20X Wash Buffer I)** - Solution de tampon phosphate 180 mM, pH 6,8, avec 0,2% de thimerosal.
5. **Conjugué enzymatique** - Une pluralité d'anticorps monoclonaux de souris, anticorps spécifiques d' *H. pylori* conjugué à la peroxydase de raifort dans un tampon TRIS 50 mM, pH 7,8, avec 0,02% de thimerosal.
6. **Substrat (Premier Substrate I)** - Solution tamponnée, pH 5,0, contenant du peroxyde d'urée et du tétraméthyl benzidine.
7. **Solution d'arrêt (Premier Stop Solution I)** - solution d'acide phosphorique -1 M. PRECAUTION: Eviter tout contact avec la peau, rincer abondamment à l'eau si contact.
8. Pipettes de transfert (une pour chaque échantillon) - Chaque pipette présente des marques correspondant respectivement aux volumes de 50 µL, 100 µL, 200 µL et 300 µL.
9. Film adhésif
10. Bâtonnets d'application en bois

MATERIEL NON FOURNI

1. Tubes pour la dilution des échantillons de selles (12 x 75 mm)
2. Eau distillée ou déionisée
3. Bouteille pour la solution de lavage
4. Fiole jaugée pour la dilution de la solution de lavage
5. Lecteur de microplaque (optionnel) avec un filtre à 450 nm ou 450/630 nm.*
6. Laveur semi-automatique de microplaque (ex: BioTek Elx50)*


* **Remarque:** Il est de la responsabilité de l'opérateur de valider les laveurs semi-automatiques et lecteurs de microplaque avant utilisation de ces appareils avec le test Premier Platinum HpSA PLUS.


PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Les échantillons de selles doivent être manipulés avec précaution, ils doivent être considérés comme potentiellement infectieux.
3. Tous les composants du coffret doivent être mélangés doucement avant usage.
4. Ne pas mélanger les micropuits, le conjugué enzymatique, le Substrat (Premier Substrate I), le contrôle positif de différents lots. (Le diluant échantillons, la solution de lavage concentrée 20X (Premier 20X Wash Buffer I) et la solution d'arrêt (Premier Stop Solution I) sont interchangeables lorsque les réactifs n'ont pas dépassé la date de péremption.)
5. Laisser revenir les réactifs à température ambiante (19-27 C) avant utilisation.
6. Tenir les flacons de réactifs verticalement pour assurer un dépôt correct.

7. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur le coffret.
8. Replacer les bouchons colorés sur le flacon correspondant après usage.
9. Eliminer les déchets dans un récipient spécial pour élément potentiellement infectieux.
10. Le contrôle positif contient de l'antigène *H. pylori* inactivé, et doit être traité comme potentiellement infectieux.
11. La solution d'arrêt (Premier Stop Solution I) est irritante pour la peau, en cas de contact rincer abondamment avec de l'eau.
12. Ne pas réutiliser les puits de la microplaque.
13. Les puits non utilisés doivent être placés dans un sachet refermable. Il est important de protéger les barrettes de l'humidité.
14. Les pipettes de transfert sont à usage unique. Utiliser une pipette par échantillon.
15. Introduire la pipette de transfert délicatement dans les puits et la placer à mi-hauteur dans les puits. Déposer très lentement l'échantillon dilué, le long de la paroi du puits afin de ne pas contaminer les autres puits.
16. Le protocole de lavage doit être suivi scrupuleusement sous peine d'observer un bruit de fond élevé comme dans toute technique EIA.
17. Tous les réactifs (sauf la solution de lavage concentrée 20X (Premier 20X Wash Buffer I) sont prêts à l'emploi.
18. Respecter les temps d'incubation. Toute déviation peut affecter la sensibilité et la spécificité du test et doit donc être évitée.
19. Les selles doivent être bien mélangées avant prélèvement afin d'assurer un échantillon représentatif.
20. Un précipité peut être présent dans la solution de lavage concentrée 20X (Premier 20X Wash Buffer I) stockée à 2-8 C. Le précipité se dissout par dilution dans l'eau lors de la préparation de la solution de lavage 1X.
21. Ne pas utiliser les flacons où manque une étiquette, un numéro de lot ou une date de péremption.

DANGER ET MISES EN GARDE

 <p>Premier Stop Solution I</p>	<p>mention d'avertissement Danger</p> <p>mentions de danger H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme H314 - Provoque des brûlures de la peau et de graves lésions des yeux</p> <p>Conseils de prudence - UE (par 28, 1272/2008) P260 - Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols P264 - Se laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation P280 - Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage. P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer P303 + P361 + P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/ se doucher. P363 - Laver les vêtements contaminés avant réutilisation P304 + P340 - EN CAS D'INHALATION: transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin P301 + P330 + P331 - EN CAS D'INGESTION : Rincer la bouche. NE PAS faire vomir P405 - Garder sous clef P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée</p>
--	---

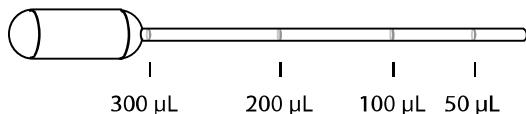
 <p>Premier 20X Wash Buffer I</p>	<p>mention d'avertissement Attention</p> <p>mentions de danger H312 - Nocif par contact cutané</p> <p>Conseils de prudence - UE (par 28, 1272/2008) P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P321 - Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires relatives à l'administration d'antidotes sur cette étiquette).</p>
---	---

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration est indiquée sur les étiquettes du coffret. Le coffret doit être conservé à 2-8 C et remis au réfrigérateur après chaque usage.

REMARQUES SUR LA PROCEDURE

Ci-dessous, un schéma de la pipette de transfert Premier Platinum HpSA PLUS:



PREPARATION DES REACTIFS

1. Avant utilisation, amener tous les éléments du coffret, y compris la pochette contenant les micropuits, à température ambiante 19-27 C.
2. Préparer le volume nécessaire de solution de lavage 1X en diluant la solution de lavage concentrée au 1/20 dans de l'eau distillée ou désionisée. Exemple: pour une barrette, préparer 80 mL de solution de lavage 1X en ajoutant 4,0 mL de solution de lavage concentrée 20X (Premier 20X Wash Buffer I) à 76,0 mL d'eau distillée ou désionisée et mélanger doucement. La solution de lavage 1X est stable trois mois à 19-27 C.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons doivent être recueillis dans des récipients adaptés et stockés à 2-8 C jusqu'à leur utilisation. Ils doivent être testés le plus tôt possible, mais peuvent être conservés jusqu'à 72 heures à 2-8 C avant le test. (Se référer au paragraphe PREPARATION DES ECHANTILLONS pour la dilution de l'échantillon). S'il n'est pas possible d'effectuer le test dans ce laps de temps, les échantillons doivent être congelés immédiatement après réception et stockés entre (-20 C et -80 C) jusqu'au moment du test. Les échantillons peuvent être congelés et décongelés deux fois.

Remarque: les selles conservées avec des milieux de transport ou des conservateurs ne sont pas utilisables dans ce test.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

1. Pipetter, au moyen d'une micropipette, 500 µL de diluant échantillons dans un tube propre.
2. Mélanger les selles avant le prélèvement à la pipette:
 - a. Selles liquides et semi-solides: Ajouter dans le tube comprenant le diluant échantillons 100 µL de selle à l'aide d'une pipette appropriée (deuxième graduation à partir de l'embout de la pipette). Mélanger à l'aide de la pipette par refoulement successif puis bien mélanger en utilisant un vortex pendant 15 secondes. Conserver la pipette de transfert dans l'échantillon pour un usage ultérieur.
 - b. Selles solides: A l'aide d'une spatule, transférer une noisette de selle (5-6 mm de diamètre) dans le tube contenant le diluant échantillons. Bien émulsionner les selles à l'aide de la spatule puis mélanger à l'aide d'un vortex pendant 15 secondes.
3. Après dilution, les échantillons de selles peuvent être éventuellement centrifugés à environ 2750 x G pendant cinq minutes ou jusqu'au moment où la partie solide se sépare de la partie liquide. Procéder ensuite au test en utilisant le surnageant.

PROCEDURE DE TEST

- Après avoir amené les réactifs à température ambiante, sortir le nombre de puits nécessaires et établir un schéma de dépôt comprenant: 1 puits par échantillon, 1 puits pour le contrôle positif et 1 puits pour le contrôle négatif/diluant échantillons. Placer les micropuits sur le support de plaque et noter l'emplacement de chaque puits. Placer immédiatement les puits non utilisés dans le sachet plastique refermable.
- Pipetter, au moyen de la pipette de transfert fournie, 100 µL de selle diluée (deuxième graduation à partir de l'embout de la pipette) dans le puits correspondant. (Placer la pipette à mi-hauteur dans le puits et déposer très lentement l'échantillon dilué, le long de la paroi du puits.)
- Ajouter 2 gouttes de contrôle positif dans un puits, et 100 µL de contrôle négatif/diluant échantillons dans un puits.
- Ajouter dans chaque puits une goutte de conjugué enzymatique (approximativement 50 µL). Bien homogénéiser la plaque par mouvement circulaire pendant 30 secondes.
- Recouvrir la plaque à l'aide du film adhésif et laisser incubé 1 heure à température ambiante (19-27 C).
- Enlever délicatement le film adhésif et procéder au lavage de la manière suivante:
 - Méthode manuelle:
 - Éliminer d'un geste ferme le contenu des puits dans un récipient pour déchets biologiques.
 - Retourner la plaque et la taper sur du papier absorbant.
 - Remplir complètement les puits de solution de lavage 1X. Éviter la formation de mousse dans les puits en dirigeant le flux du tampon sur la paroi du puits.
 - Répéter ces étapes de lavage (éliminer, taper la plaque retournée, remplir) 4 fois pour un total de 5 cycles de lavage. Après la dernière étape, taper fermement la plaque retournée sur du papier absorbant afin d'éliminer au mieux les traces résiduelles de tampon de lavage. Ne jamais laisser sécher les puits.
 - Méthode semi-automatique sur appareillage validé:
 - Aspirer le contenu des puits.
 - Remplir complètement les puits de solution de lavage 1X (approximativement 300-350 µL/puits) et aspirer ensuite le contenu des puits. Ajuster le flux du liquide de telle manière à éviter la formation de mousse pendant le remplissage des puits et veiller à ce que les puits soient complètement aspirés après chaque lavage.
 - Répéter l'étape ii au minimum 4 fois encore. Après le dernier lavage, les puits doivent être complètement aspirés afin d'éliminer au mieux les traces résiduelles de tampon de lavage.
- Nettoyer le dessous de la plaque à l'aide d'un papier absorbant.
- Ajouter 2 gouttes (approximativement 100 µL) de Substrat (Premier Substrate I) dans chaque puits. Bien homogénéiser la plaque par mouvement circulaire pendant 30 secondes. Laisser incubé pendant 10 minutes à température ambiante (19-27 C).
- Ajouter 2 gouttes (approximativement 100 µL) de solution d'arrêt (Premier Stop Solution I) dans chaque puits. Bien homogénéiser la plaque par mouvement circulaire pendant 30 secondes.

Note: la couleur passe du bleu au jaune au moment de l'addition de la solution d'arrêt (Premier Stop Solution I).
- Observer et noter les réactions. Les résultats des tests peuvent être lus visuellement ou au moyen d'un spectrophotomètre.
 - Lecture visuelle: lire dans les 15 minutes qui suivent l'ajout de la solution d'arrêt (Premier Stop Solution I).
 - Lecture de l'absorbance au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm ou 450/630 nm (faire le zéro sur l'air): bien nettoyer le dessous de la plaque à l'aide d'un papier absorbant et lire dans les 15 minutes qui suivent l'ajout de la solution d'arrêt (Premier Stop Solution I).

INTERPRETATION DES RESULTATS

L'interprétation suivante s'applique pour le diagnostic et pour le suivi de la thérapie anti-*H. pylori*

Lecture visuelle

Négatif = incolore ou très légère coloration jaune pâle.

Positif = coloration jaune bien définie.

Une couleur jaune pâle doit être évaluée spectrophotométriquement. A défaut d'un lecteur de plaque, la valeur-seuil sera déterminée par une méthode alternative.

Spectrophotomètre, simple longueur d'onde (450 nm)

Négatif < 0,140

Positif ≥ 0,140

Contrôle négatif < 0,140

Contrôle positif ≥ 0,640

Spectrophotomètre, double longueur d'onde (450/630 nm)

Négatif < 0,100

Positif ≥ 0,100

Contrôle négatif < 0,100

Contrôle positif ≥ 0,600

Lorsque le contrôle négatif/diluant échantillons est lu < 0,000, refaire le zéro du lecteur de plaque sur l'air et relire la microplaque.

Un résultat positif indique la présence d'antigènes d' *H. pylori*. Un résultat négatif indique l'absence d'antigènes d' *H. pylori* ou que le taux d'antigènes est inférieur au seuil de détection du test. L'ordre de grandeur de la DO, au dessus de la valeur seuil, n'est pas indicatrice de la sévérité ou de l'étendue de l'infection à *H. pylori* et ne peut être reliée à un titre limite. Une réaction très positive peut provoquer un précipité violet dans les minutes qui suivent l'addition de la solution d'arrêt.

CONTROLE DE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

- À chaque utilisation, les composants du coffret doivent être visuellement examinés pour contrôler l'absence de contamination microbienne, de congélation ou de fuite. Ne pas utiliser les réactifs contaminés ou suspects. Les contrôles positif et négatif doivent être utilisés dans chaque série de test. Les résultats attendus pour les réactifs de contrôle sont décrits sous la rubrique INTERPRETATION DES RESULTATS ci-dessus. Les tests doivent être considérés comme non valides lorsque l'un ou l'autre réactif de contrôle ne produit pas le résultat escompté. Dans ce cas, répéter les tests et les contrôles. Si, sur les tests répétés, les résultats attendus ne sont pas observés et que les réactifs n'ont pas dépassé leur date d'expiration, contacter les services techniques de Meridian Bioscience ou votre distributeur local.
- Les contrôles sont utilisés pour détecter d'éventuels défauts des réactifs. Le fait de ne pas obtenir les résultats attendus indique que l'un ou l'autre réactif est défectueux au moment de l'utilisation, que le test n'a pas été effectué correctement, ou que les réactifs ou échantillons n'ont pas été ajoutés. Le contrôle positif n'est pas indicateur de la valeur-seuil.
- Revoir la méthode de lavage ou contrôler votre laveur si le contrôle négatif et/ou le contrôle positif produisent de façon systématique des résultats en dehors des spécifications. Il est alors recommandé d'effectuer un lavage plus vigoureux, d'augmenter le nombre de cycles de lavage, d'éliminer les résidus éventuels plus complètement ou de recalibrer le laveur.

Si les réactions attendues ne sont pas observées, la première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.
- Aucune interférence de la matrice de l'échantillon n'a été observée, la dilution des échantillons étant élevée dans ce test. Aussi, les réactifs de contrôle fournis sont préparés dans la matrice du diluant échantillons. Au cas où des contrôles identiques aux échantillons testés, en termes de composition, sont préférés, l'utilisateur est invité à les préparer en diluant des échantillons positifs et négatifs connus dans le diluant échantillons suivant la procédure décrite sous la rubrique PREPARATION DES ECHANTILLONS. Ajouter 100 µL des contrôles ainsi préparés dans les puits.

VALEURS ATTENDUES

Des études sur l'épidémiologie de *H. pylori* ont indiqué que cet organisme est présent dans le monde entier.^{18, 23, 24} Il a été démontré que la gastrite provoquée par *H. pylori* est corrélée avec l'âge, la descendance ethnique, la taille de la famille et la classe socio-économique.^{25, 26} La prévalence d'une infection par *H. pylori* dans une population donnée peut varier de 20 à 90%. Cependant, chez les patients atteints d'un ulcère duodénal, la prévalence d'une telle infection s'est avérée être d'environ 80% dans chaque groupe d'âge.¹⁸ Les traitements d'éradication actuellement recommandés ont un taux d'efficacité se situant entre 75 et 90%.

Le test Premier Platinum HpSA PLUS détecte la présence des antigènes *H. pylori* dans les selles humaines. Les valeurs attendues pour une population donnée doivent être déterminées pour chaque laboratoire. Le taux de positivité peut varier en fonction de la localisation géographique, de la méthode de collection, de la manipulation et du transport des échantillons, du test employé et de l'environnement général de santé de la population étudiée. Dans les études utilisant le Premier Platinum HpSA PLUS réalisées aux USA, au Canada et en Italie, l'incidence de la maladie s'étendait respectivement de 34% à 53% et à 69%.

LIMITES DU TEST

- Le test est une technique qualitative, une interprétation quantitative ne peut pas être réalisée.
- Les résultats du test doivent être interprétés en conjonction avec les informations disponibles sur le patient, les évaluations cliniques et les autres procédures de diagnostic.
- Les agents antibactériens, les inhibiteurs de la pompe à protons, et les préparations de sels de bismuth éliminent l'*H. pylori*. En cas d'ingestion de ces produits, les tests (culture, histologie, test rapide à l'uréase, test respiratoire à l'urée, recherche de l'antigène) peuvent donner des résultats faussement négatifs. Si le test Premier Platinum HpSA PLUS est réalisé dans les deux semaines qui suivent le traitement, un résultat faussement négatif peut être possible. Aussi il est recommandé de renouveler le test sur un autre échantillon de selle obtenu après une période de deux semaines sans prise de ces médicaments. Un résultat positif avec le test Premier Platinum HpSA PLUS, dans les deux semaines qui suivent le traitement, doit être considéré avec prudence. Par exemple, des patients avec *H. pylori* ont été placés sous inhibiteur de la pompe à proton (lansoprazole) ou sous sels de bismuth pendant deux semaines, puis testés avec le Premier Platinum HpSA PLUS et un test respiratoire à l'urée. Le traitement a ensuite été arrêté pendant deux semaines et les patients ont été testés à nouveau. A la fin du traitement, les deux tests étaient négatifs pour certains patients, mais sont redevenus positifs après deux semaines d'arrêt de traitement (voir le tableau).

Traitement	Status	Premier Platinum HpSA		Test respiratoire à l'urée	
		Pos/Total	% Positif	Pos/Total	% Positif
PPI	Fin du traitement	15/20	75,0%	12/20	60,0%
	2 sem. après traitement	19/20	95,0%	18/20	90,0%
Bismuth	Fin du traitement	15/20	75,0%	11/20	55,0%
	2 sem. après traitement	19/20	95,0%	18/20	90,0%

- Les performances du test n'ont pas été établies pour les selles aqueuses ou diarrhéiques.
- Les performances du test n'ont pas été établies pour les populations asymptomatiques.
- Les H2 bloquants n'interfèrent pas avec les résultats positifs.

PERFORMANCES DU TEST

Les évaluations cliniques du test Premier Platinum HpSA de première génération ont démontré qu'un test de type ELISA détecte de manière fiable et prévisible l'antigène *H. pylori* dans les selles de patients (humains) symptomatiques. Les études ont également montré que le test permet un suivi de l'efficacité de la thérapie d'éradication.

Le coffret Premier Platinum HpSA a été évalué sur des échantillons provenant de 200 adultes symptomatiques, dans quatre sites différents: un site dans l'ouest des Etats-Unis, un site Canadien, et deux sites Italiens. Les patients étudiés présentaient une gamme représentative de pathologies gastriques, incluant: gastrite antrale (n=81), gastropathie antrale (n=25), érosions antrales (n=24), oesophagites (n=21), ulcère duodénal (n=15), duodénite érosive (n=10), reflux gastro-oesophagien (n=10), patients normaux (n=10), duodénites (n=9), ulcère gastrique (n=8), gastrite de l'estomac total (n=6), hernie hiatale (n=6), anneau de Schatzki (n=4), ulcère pylorique (n=2), et ulcère oesophagien (n=1). Les résultats du test Premier Platinum HpSA ont été comparés au diagnostic d'une infection à *H. pylori* effectué par des méthodes de référence objectives (cultures, test rapide à l'uréase, histologie et test respiratoire à l'urée). Les patients ont été considérés comme positifs si la culture était positive, ou si deux ou plus des trois autres tests étaient positifs. Neuf échantillons présentant une culture négative, ou sans résultats de culture, et positifs avec un seul autre test, ont été considérés comme non interprétables. Le test Premier Platinum HpSA montrait 96,1% de sensibilité et 95,7% de spécificité en comparaison à la méthode de référence. Les intervalles de confiance ont été calculés par la méthode binomiale exacte.

Site 1

TEST		DIAGNOSTIC		Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Corrélation
Méthode	Résultats	Infecté	Non Infecté	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%
PPHpSA	Pos	17	3	94,4%	91,4%	85,0%	97,0%	92,5%
EIA	Neg	1	32	72,7-99,9%	76,9-98,2%	62,1-96,8%	84,2-99,9%	81,8-97,9%
	Equ	0	0					

Techniques de référence: Histologie, Test rapide à l'uréase, Test respiratoire à l'urée. Longueurs d'onde simple et double.

Site 2

TEST		DIAGNOSTIC		Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Corrélation
Méthode	Résultats	Infecté	Non Infecté	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%
PPHpSA	Pos	9	0	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
EIA	Neg	0	8	66,4-100,0%	63,1-100,0%	66,4-100,0%	63,1-100,0%	80,5-100,0%
	Equ	0	0					

Techniques de référence: Histologie, Test rapide à l'uréase, Culture, Test respiratoire à l'urée. Longueurs d'onde simple et double.

Site 3

TEST		DIAGNOSTIC		Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Corrélation
Méthode	Résultats	Infecté	Non Infecté	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%
PPHpSA	Pos	44	0	97,8%	100,0%	100,0%	96,0%	98,6%
EIA	Neg	1	24	88,2-99,9%	85,8-100,0%	92,0-100,0%	79,6-99,9%	92,2-100,0%
	Equ	1	0					

Techniques de référence: Histologie, Test rapide à l'uréase, Culture, Test respiratoire à l'urée. Longueur d'onde simple.

Site 4

TEST		DIAGNOSTIC		Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Corrélation
Méthode	Résultats	Infecté	Non Infecté	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%
PPHpSA	Pos	29	1	93,5%	96,3%	96,7%	92,9%	94,8%
EIA	Neg	2	26	78,6-99,2%	81,0-99,9%	82,8-99,9%	76,5-99,1%	85,6-98,9%
	Equ	2	0					

Techniques de référence: Histologie, Test rapide à l'uréase. Longueur d'onde double.

Résultats globaux

TEST		DIAGNOSTIC		Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Corrélation
Méthode	Résultats	Infecté	Non Infecté	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%	IC à ± 95%
PPHpSA	Pos	99	4	96,1%	95,7%	96,1%	95,7%	95,9%
EIA	Neg	4	90	90,4-98,9%	89,5-98,8%	90,4-98,9%	89,5-98,8%	92,2-98,2%
	Equ	3	0					

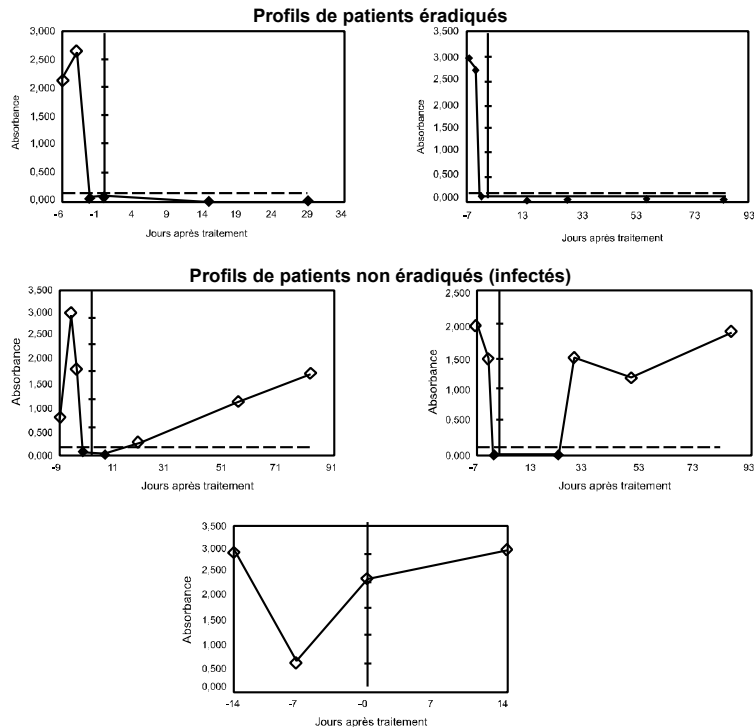
Suivi thérapeutique:

Quatre sites ont examiné l'utilité du test Premier Platinum HpSA pour le suivi du traitement anti- *H. pylori* chez 97 patients qui avaient initialement été testés positifs en endoscopie (culture, histologie, test rapide à l'uréase). Le test Premier Platinum HpSA et les biopsies endoscopiques ont été réalisés quatre semaines après la fin de la prescription thérapeutique d'éradication de *H. pylori*. Les résultats sont comparés dans le tableau suivant. La culture, l'histologie et le test rapide à l'uréase ont été utilisés pour contrôler l'éradication telle qu'elle est définie par les instructions de la FDA.²²

HpSA comparé à l'endoscopie après 4 semaines		
HpSA Résultats	4 semaines après traitement	
	Infectés	Éradiqués
Positif	18	3
Négatif	1	73
Statistique	Valeur	IC à 95%
Sensibilité	94,7%	74,0-99,9%
Spécificité	96,1%	88,9-99,2%
VPP	85,7%	63,7-97,0%
VPN	98,6%	92,7-100%
Corrélation	95,8%	89,6-98,8%

Le Premier Platinum HpSA a identifié correctement 18/19 (94,7%) des patients infectés et 73/76 (96,1%) des patients éradiqués. Deux des selles ont été trouvées indéterminées avec le test Premier Platinum HpSA (2%). L'échantillon de selles faussement négatif provenait d'un patient positif en culture, en histologie et en test rapide à l'uréase. Les trois résultats faussement positifs en HpSA ont été obtenus sur des patients trouvés négatifs par les autres méthodes (culture, histologie et test rapide à l'uréase).

La réponse au traitement se traduit généralement par un résultat HpSA négatif dans les 5 à 7 jours après le début du traitement. Des résultats positifs à ce moment-là, ou plus tardivement, indiquent une thérapie inefficace ou une récurrence. La récurrence peut être due à une absence de réaction du patient au médicament prescrit, à un médicament inefficace, à une résistance de la souche de *H. pylori*, à un dosage inadapté, etc. Une récurrence à une infection *H. pylori* arrive généralement dans les quatre semaines après la fin de la thérapie. Cependant, quelques cas d'infections restées silencieuses au-delà de quatre semaines, ont été observés. Cette observation conforte les pratiques médicales indiquant que, quelle que soit la méthode de diagnostic utilisée, la mise en évidence de l'éradication doit être faite au moins quatre semaines après l'arrêt total de la thérapie. Les schémas ci-dessous sont des profils de réponses typiques après des thérapies d'éradication réussies ou non réussies. Les barres verticales indiquent la fin de la thérapie (jour 0). Les jours sur la gauche du jour 0 reflètent la période au cours de laquelle les patients ont pris des médicaments. La valeur-seuil est indiquée par une ligne horizontale en pointillé.



Comparaison entre les tests Premier Platinum HpSA PLUS modifié et Premier Platinum HpSA PLUS:

Cent cinquante-neuf (159) échantillons de selles non conservés archivés provenant de patients symptomatiques ont été analysés pour la détection de l'antigène de *H. pylori* par le Premier Platinum HpSA PLUS modifié et le Premier Platinum HpSA PLUS afin de démontrer que les modifications apportées aux micropuits et aux anticorps conjugués n'affecte pas les performances du test. Les détails des résultats du test de performance ainsi que les intervalles de confiance à 95% sont repris dans le tableau ci-dessous.

PP HpSA PLUS modifié	PP HpSA PLUS		
	Positif	Négatif	Total
Positif	57	0	57
Négatif	0	102	102
Total	57	102	159
			IC à 95%
Concordance POS	57/57	100,0%	93,7-100,0%
Concordance NEG	102/102	100,0%	96,4-100,0%

REPRODUCTIBILITE DU TEST

La précision du test, la variabilité intra-test et inter-tests ont été évaluées avec un panel d'échantillons de référence préparé à partir d'échantillons modérément positifs (n = 3), d'échantillons faiblement positifs (n = 3), d'échantillons fortement négatifs (n = 3) et d'un échantillon négatif vrai (n = 1). Les contrôles positif et négatif du kit ont également été testés à chaque analyse du panel. Chaque panel a été testé une fois par jour par deux techniciens, sur trois sites de laboratoire différents, pendant 5 jours consécutifs. Au total, 100% (300/300, IC à 95% : 98,7-100%) des résultats obtenus avec le Premier Platinum HpSA PLUS étaient conformes aux attentes. Aucun résultat non valide n'a été généré pendant l'étude (0,0%, 0/300, IC à 95%: 0,0-1,3%).

REACTIONS CROISEES

La spécificité de Premier Platinum HpSA PLUS a été testée en utilisant les souches bactériennes ou virales suivantes. Des micro-organismes potentiellement réactifs ont été ajoutés à une concentration cible de $1,0 \times 10^7$ UFC /mL (bactéries ou champignons) ou supérieure à 1×10^5 DICT₅₀/mL (virus) à un échantillon naturel négatif et un échantillon positif artificiel. Aucun des organismes listés n'a affecté les résultats des tests positif ou négatif.

Micro organismes ou virus (nombre de souches testées)

Adenovirus 41, Aeromonas hydrophila, Bacillus subtilis, Borrelia burgdorferi, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Campylobacter lari, Candida albicans, Citrobacter freundii, Clostridium difficile, Clostridium perfringens, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli O157:H7, Escherichia coli, Escherichia coli 8739, Escherichia coli 9637, Escherichia fergusonii, Escherichia hermanii, Escherichia hermanii EMDI-64, Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Listeria monocytogenes, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Rotavirus, Salmonella dublin, Salmonella hilversum, Salmonella heidelberg (Group B), Salmonella minnesota, Salmonella typhimurium, Serratia liquefaciens, Serratia marcescens, Shigella boydii, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus (Souche Cowan I), Staphylococcus epidermidis et Yersinia enterocolitica

SENSIBILITE ANALYTIQUE

Le Premier Platinum HpSA PLUS peut détecter des quantités $\geq 4,66$ ng de protéines *H. pylori*/mL de selles.

TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES

Les substances suivantes, éventuellement présentes dans les selles humaines, n'interfèrent pas avec les résultats des tests, aux concentrations indiquées par 500 μ L de selles humaines: sulfate de baryum - 25 mg, Mylanta 11,5 mg, Pepto Bismol - 0,44 mg, Prilosec (oméprazole) - 1 mg, Tagamet (cimétidine) - 1 mg, Tums - 10 mg, Hémoglobine - 62,5 mg, Mucine - 17 mg, AINS Ibuprofène - 0,25 mg, Acide stéarique - 5,3 mg, Acide palmitique - 2,65 mg, Hématies - 250 μ L, Sang total - 250 μ L.

premier platinum

HpSA® PLUS

Immunoensayo enzimático para la detección de antígenos de *H. pylori*
en muestras de materia fecal - Método para el diagnóstico y la monitorización

REF 601396

IVD

Rx Only

USO INDICADO

El inmunoensayo enzimático (EIA) Premier Platinum HpSA PLUS es un procedimiento para la detección cualitativa in vitro de los antígenos de *Helicobacter pylori* en la materia fecal humana. Los resultados de la prueba ayudan a diagnosticar la infección de *H. pylori* y a monitorizar la respuesta en pacientes durante y después del tratamiento. Los protocolos médicos aceptados recomiendan que el análisis por cualquier método actual, para confirmar la erradicación, se realice por lo menos cuatro semanas después de completar el tratamiento.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Desde que fue descubierto por Marshall y Warren¹ más de 20 años atrás, el *Helicobacter pylori* es reconocido como uno de los patógenos más comunes y médicamente más importantes de todo el mundo.² El *Helicobacter pylori* está firmemente establecido como agente etiológico en la gastritis crónica, la afección de úlcera péptica, el linfoma tisular linfóide y el adenocarcinoma gástrico asociados con la mucosa.^{1,3,7}

El nicho ecológico en los seres humanos parece estar restringido al estómago y el duodeno. Los pacientes portadores del organismo se dividen en dos grupos básicos. El primer grupo no presenta señales ni síntomas de afección gastrointestinal y se considera "colonizado". El segundo grupo presenta señales y síntomas gastrointestinales y se considera "infectado". El proceso por el cual un individuo pasa a quedar colonizado o infectado está todavía bajo investigación.^{3,4,8-10} Se han sugerido muchas posibles rutas de transmisión del *Helicobacter pylori* a los seres humanos como los animales, el agua y los reservorios orales contaminados.¹¹

Las pruebas diagnósticas para *H. pylori* pueden categorizarse como invasivas (endoscopia, biopsia) o no invasivas (serología, prueba de urea de aliento y de antígenos en la materia fecal). En las pruebas invasivas, se hace una iopsia del tracto gastrointestinal superior y se examina microscópicamente. El tejido es también cultivado en busca de *H. pylori* o evaluado mediante el ensayo de ureasa rápida. Esta estrategia ofrece la ventaja de detectar una infección activa, tiene alta especificidad y alto valor de predicción positiva. Las desventajas de las pruebas invasivas incluyen riesgo e incomodidad para el paciente, y la posible colonización en sitios no alcanzados por la biopsia. El cultivo de la biopsia lleva mucho tiempo y puede dar resultados falsos negativos debido a inherentes dificultades técnicas.^{3,12-15}

La prueba de urea de aliento (UBT por sus iniciales en Inglés) es un tipo de prueba no invasiva que detecta la ureasa producida por *H. pylori*. Aunque la prueba de UBT es sumamente sensible y específica, tiene una cantidad considerable de inconvenientes: toma mucho tiempo, requiere equipo especializado de detección e implica para el paciente la ingestión de urea marcada con isótopos.^{3,16,17} Las pruebas serológicas, igualmente no invasivas, basadas en la detección de IgG contra *H. pylori* son útiles para la selección primaria de los pacientes que presentan infecciones no complicadas, pero no hacen la distinción entre exposición anterior e infección activa.^{6,11,18} La prueba de antígenos en la materia fecal ha sido ampliamente evaluada y aceptada como una prueba de precisión, no invasiva para antes y después del tratamiento.^{19,20,21} El reciente Informe del Consenso Maastricht V recomienda el uso de pruebas de antígeno en materia fecal y pruebas de UBT como auxiliares de diagnóstico de la enfermedad por *H. pylori* en el ámbito de la atención primaria.²²

Premier Platinum HpSA PLUS es un enzimoimmunoensayo por pocillos que detecta antígenos de *H. pylori* presentes en la materia fecal humana. No se precisan cálculos y el cambio de color visible hace que la interpretación de los resultados sea objetiva y simple. Además el test HpSA permite evaluar tratamientos anti-*H. pylori* nuevos o ya establecidos, durante y después de la terapia para monitorizar la efectividad de los mismos, la recaída o la erradicación. Premier Platinum HpSA PLUS es una modificación del producto Premier Platinum HpSA, el cual provee un aumento en señal con resultados positivos y mejor separación entre resultados positivos bajos y negativos.

PRINCIPIO BIOLÓGICOS

El test Premier Platinum HpSA PLUS utiliza una pluralidad de anticuerpos de captura anti-*H. pylori* monoclonales absorbidos en los micropocillos. (Pluralidad es definido como una mezcla de anticuerpos monoclonales.) A los pocillos se le añaden muestras de pacientes diluidas y una pluralidad de anticuerpos monoclonales conjugado con peroxidasa. Los pocillos son luego incubados durante una hora a temperatura ambiente. Se realiza un lavado para eliminar el material no unido. Se añade el sustrato y se incuba durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se desarrolla color en presencia de enzima unido. Se añade Solución de Parada I y los resultados se interpretan visualmente o espectrofotométricamente.

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.

1. **Micropocillos recubiertos con anticuerpos** – Pocillos plásticos separables recubiertos con una pluralidad de anticuerpos monoclonales murinos específicos para *H. pylori*.
2. **Control Positivo - *H. pylori* inactivado** está diluido en una solución tampón fosfato 10 mM, con timerosal 0,02%, pH 7,2.
3. **Control Negativo/ Diluyente de Muestra** – solución tampón fosfato 10 mM, pH 7,2, con timerosal 0,02%.
4. **Premier Solución Tampón de Lavado 20X I** – solución tampón fosfato 180 mM, pH 6,8, con timerosal 0,2%.
5. **Conjugado Enzimático** – Una pluralidad de anticuerpos monoclonales murinos específicos para *H. pylori* conjugados a una peroxidasa de rábano en una solución tampón Tris 50 mM, pH 7,8, conteniendo timerosal 0,02%.
6. **Premier Substrato I** – solución tampón citrato-acetato, pH 5,0, conteniendo peróxido de urea y 3,3',5,5' tetrametilbenzidina.
7. **Premier Solución de Parada I** – ácido fosfórico 1 M. PRECAUCION: Evitar el contacto con la piel. En caso de contacto, lavar con agua.
8. Pipetas de transferencia (una para cada muestra). Cada pipeta está marcada con los siguientes volúmenes: 50 µL, 100 µL, 200 µL y 300 µL.
9. Sellador de la tira de micropocillos.
10. Aplicadores de madera.

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Tubos de ensayo (12 x 75 mm) para la dilución de las muestras
2. Agua destilada o desionizada
3. Botella surtidora para enjuague
4. Probeta graduada para preparar la Solución Tampón de Lavado 1X I
5. Lector de placas de EIA capaz de leer absorbancias a 450 o 450/630 nm*
6. Lavador de plato semi-automático (ej. BioTek Elx 50)*

*NOTA: Es la responsabilidad del operador de validar el lavador de plato semi-automático y el lector antes de usarlo con este producto.

PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. Las muestras de los pacientes pueden contener agentes infecciosos y deberán ser tratadas y desechadas como materiales biológicos potencialmente peligrosos.
3. Antes de utilizarlos, agitar todos los reactivos suavemente.
4. No intercambie los Micropocillos, el Conjugado, el Substrato I, el Control Positivo con distintos números de lote. (El Diluyente de Muestra, el Premier Solución Tampón de Lavado 20X I y la Premier Solución de Parada I son intercambiables dado que se encuentren dentro de su fecha de caducidad al usarse.)
5. Antes de usarlos, deje que los reactivos alcancen una temperatura de 19-27 C.
6. Sostener los viales de reactivos verticalmente sobre el pocillo a una distancia adecuada para asegurar la administración de un tamaño de gota correcto.
7. No utilizar los componentes del kit después de las fechas de caducidad.
8. Reemplazar los tapas de color en sus viales correspondientes.
9. Desechar la Solución Tampón de Lavado usada y todos los materiales de la prueba en recipientes adecuados. Tratar los desechos como materiales biológicos potencialmente peligrosos.

10. El reactivo del Control Positivo contiene *H. pylori* inactivado. Sin embargo, deberá tratarse como un material biológico potencialmente peligroso.
11. Evitar que la Premier Solución de Parada I (1 M ácido fosfórico) entre en contacto con la piel. En caso de contacto, lavar inmediatamente con agua abundante.
12. No reutilizar los Micropocillos.
13. Colocar los Micropocillos que no han sido utilizados, de nuevo en la bolsa resellable. Es importante proteger las tiras de la humedad.
14. Use las pipetas de transferencia provistas para preparar y transferir las muestras. Usar una pipeta por muestra.
15. Evitar salpicaduras al colocar la materia fecal diluida en el micropocillo, colocando la punta de la pipeta de transferencia aproximadamente en la mitad del micropocillo y dispensando lentamente hacia abajo por la pared del mismo.
16. Lavar el micropocillo exactamente como se indica en el procedimiento del ensayo. Lavar inadecuadamente puede ser la causa de una señal elevada no específica en cualquier protocolo de ELISA.
17. Todos los reactivos, excepto la solución Premier Solución Tampón de Lavado 20X I, ya vienen diluidos a la concentración adecuada.
18. Deberá evitarse cualquier desviación por debajo o por encima de los tiempos de incubación establecidos ya que puede afectar a la sensibilidad y la especificidad del método.
19. Para asegurar una muestra adecuada, antes de remover la muestra, la materia fecal deberá mezclarse completamente (independientemente de la consistencia).
20. Precipitado puede ocurrir en el Premier Solución Tampón de Lavado 20X I cuando se almacena a 2-8 C. El precipitado se disuelve cuando se prepara la solución de trabajo (1X I) del Tampón de Lavado.
21. No use reactivos al cual le falte la etiqueta, el número de lote o la fecha de expiración.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

<p>Premier Stop Solution I</p>	<p>Palabras de advertencia Peligro</p> <p>indicaciones de peligro H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves</p> <p>Consejos de prudencia - UE (§28, 1272/2008) P260 - No respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol P264 - Lavarse la cara, las manos y las áreas de la piel expuestas concienzudamente tras la manipulación P280 - Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección. P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado P303 + P361 + P353 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse P363 - Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas P304 + P340 - EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico P301 + P330 + P331 - EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagar la boca. NO provocar el vómito P405 - Guardar bajo llave P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada</p>
--------------------------------	---

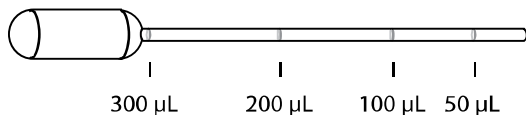
<p>Premier 20X Wash Buffer I</p>	<p>Palabras de advertencia Atención</p> <p>indicaciones de peligro H312 - Nocivo en contacto con la piel</p> <p>Consejos de prudencia - UE (§28, 1272/2008) P280 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver las instrucciones adicionales de administración de antídotos en esta etiqueta).</p>
----------------------------------	---

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad está indicada en la etiqueta del kit. Almacenar el kit a 2-8 C y colocarlo de nuevo en el refrigerador inmediatamente después de cada utilización.

NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

A continuación se muestra un diagrama de la pipeta de transferencia que viene con el kit Premier Platinum HpSA PLUS:



PREPARACIÓN DE REACTIVOS

1. Antes de utilizarlo, dejar que todo el kit, incluyendo la bolsa de los micropocillos, alcance una temperatura de 19-27 C.
2. Preparar el volumen necesario de solución Tampón de Lavado 1X I. Por ejemplo: 4,0 mL de solución Premier Solución Tampón de Lavado 20X I + 76,0 mL de agua destilada o desionizada son suficientes para lavar una tira. Colocarlo en una botella surtidora de enjuague limpia. La Solución Tampón de Lavado 1X I puede guardarse a 19-27 C por un máximo de tres meses.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRAS

La muestra deberá recibirse en un envase adecuado para transporte de cierre hermético y almacenarse a 2-8 C hasta ser analizada. La muestra deberá analizarse lo antes posible, no obstante puede guardarse por un máximo de 72 horas a 2-8 C antes del análisis. (Vea la sección PREPARACIÓN DE LA MUESTRA para instrucciones de cómo diluir la muestra). Si no es posible realizar el análisis dentro de este plazo, la muestra deberá congelarse inmediatamente una vez recibida y almacenarse hasta ser analizada (-20 C a -80 C). Las muestras pueden congelarse y descongelarse dos veces.

NOTA: La muestra de materia fecal que provenga de un medio líquido de transporte, de hisopos o de conservantes no es apropiada para el análisis.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Con una pipeta añada 500 µL del Diluyente de Muestra a un tubo de ensayo limpio.
2. Antes de remover la muestra, mezcle la materia fecal lo mejor posible.
 - a. Materia fecal líquida o semisólida (NOTA: Las muestras acuosas y diarreas no son apropiadas para ser analizadas) – Con la pipeta de transferencia suplida, añada 100 µL (segunda marca desde la punta de la pipeta) de materia fecal al Diluyente de Muestra. Usando la misma pipeta, aspirar y expulsar suavemente la suspensión de materia fecal varias veces, luego mezclar con un vórtex durante 15 segundos. Guarde la pipeta de transferencia en la muestra para usarse más tarde.
 - b. Materia fecal sólida – Usando un aplicador de madera, transfiera una porción pequeña (5-6 mm de diámetro) de materia fecal bien mezclada al Diluyente de Muestra. Emulsionar la materia fecal usando el aplicador de madera, luego mezclar con un vórtex durante 15 segundos.
3. La muestra puede ser centrifugada luego de ser diluida. Centrifuge a aproximadamente 2750 x G por cinco minutos o hasta que la porción líquida se separe de la sólida. Proceda con el procedimiento luego de remover el sobrenadante.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Después de que la bolsa de micropocillos haya alcanzado la temperatura indicada, separe el número de micropocillos requeridos (1 pocillo para cada muestra, más 1 pocillo para el Control Positivo y 1 para el Control Negativo por serie). Coloque los micropocillos en el soporte de la tira de los mismos y registrar la ubicación de todos ellos. Guarde los micropocillos no utilizados en la bolsa resellable inmediatamente.
- Con la pipeta de transferencia, añada 100 µL (Segunda marca desde la punta de la pipeta) de la muestra diluida al micropocillo correspondiente. (Ponga la punta de la pipeta a mitad del micropocillo y permita que la muestra corra por la pared del pocillo hacia abajo.)
- Añada 2 gotas del Control Positivo (permitiendo que caigan libremente) y 100 µL de Diluyente de Muestra/Control Negativo al micropocillo correspondiente.
- Añada 1 gota del Conjugado Enzimático a cada pocillo, dejando que ésta caiga libremente. Agitar y mezclar la placa con movimientos giratorios durante 30 segundos.
- Cortar el sellador de la placa al tamaño indicado y presionarlo firmemente sobre la parte superior de los micropocillos para sellarlos. Incubar la placa durante 1 hora a 19-27 C.
- Cuidadosamente, quitar el sellador de la placa y lavar los micropocillos:
 - Método Manual:
 - Bote el contenido del plato en un receptáculo para materiales infecciosos
 - Dé con el plato invertido hacia abajo encima de varias toallas de papel desechables
 - Llene los pocillos con Tampón de Lavado 1X I, apuntando hacia los lados del micropocillo para evitar que se formen espumas.
 - Repita el ciclo de lavado (bote, dé y llene los pocillos) 4 veces para un total de 5 ciclos de lavado. Luego del último lavado, bote y dé con fuerza para eliminar lo más posible el exceso de Tampon de Lavado, pero no permita que los pocillos se sequen por completo.
 - Método semi-manual con equipo validado:
 - Aspire el contenido del micropocillo
 - Llene el pocillo hasta el tope (approx. 300-350 µL/pocillo) con Tampón de Lavado 1X I, luego aspire. La cabeza del lavador automático debe ser ajustada para no permitir que se forme espuma mientras se llenan los pocillos y para que se aspire completamente luego de cada paso de lavado.
 - Repita el paso ii un mínimo de 4 más veces. Luego del último lavado, los pocillos deben ser aspirados completamente para remover el exceso lo más posible.
- Limpiar la parte inferior de los pocillos con un pañuelo de papel sin hilas.
- Añada 2 gotas (approx. 100 µL) de Premier Substrato I a cada pocillo, dejando que las gotas caigan libremente. Agitar y mezclar la placa con movimientos giratorios durante 30 segundos. Incubar durante 10 minutos a 19-27 C.
- Añada 2 gota de Premier Solución de Parada I a cada pocillo (approx. 100 µL) dejando que la misma caiga libremente. Agitar y mezclar la placa con movimientos giratorios durante 30 segundos.

Nota: El color inicial de la reacción positiva es azul, cambiando a amarillo al añadir la Premier Solución de Parada I.
- Lea y anote los resultados. Los resultados se pueden leer visual o usando un lector espectrofotométrico.
 - Determinación visual – Leer dentro de los 15 minutos después de añadir la Premier Solución de Parada I.
 - Determinación espectrofotométrica – Ajustar el lector de EIA a cero absorbancia en aire. Limpiar la parte inferior de los pocillos con un pañuelo de papel sin hilas. Leer la absorbancia a 450 o 450/630 nm dentro de los 15 minutos posteriores a la adición de la Premier Solución de Parada I.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Las interpretaciones siguientes se aplican tanto al diagnóstico inicial como a la monitorización del tratamiento anti- *H. pylori*.

Lectura visual

Negativo = de incoloro a amarillo poco visible
Positivo = color amarillo fuerte

Un negativo de color amarillo poco visible debe evaluarse espectrofotométricamente. Si no se dispone de un espectrofotómetro, la línea de corte (cut-off) debe determinarse por un método alternativo.

Longitud de onda espectrofotométrica única (450 nm)

Negativo	< 0,140
Positivo	≥ 0,140
Control negativo	< 0,140
Control positivo	≥ 0,640

Longitud de onda espectrofotométrica dual (450/630 nm)

Negativo	< 0,100
Positivo	≥ 0,100
Control negativo	< 0,100
Control positivo	≥ 0,600

Si el Control Negativo es < 0,000, re-ajuste el lector en aire y re-lea el plato.

Un resultado positivo indica la presencia de antígenos de *H. pylori*. Un resultado negativo indica la ausencia de antígenos de *H. pylori*, o que el nivel de antígenos es inferior al nivel que el ensayo puede detectar. La magnitud de la DO por encima de la línea de corte no es indicativa de la severidad o del grado de infección con *H. pylori*, ni tampoco puede correlacionarse con el título de la dilución final. Las reacciones positivas extremadamente fuertes pueden dar un precipitado púrpura a los pocos minutos de parar la reacción.

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

- Los componentes del kit deberán examinarse visualmente cada vez que se usen, observando si existen signos obvios de contaminación microbiana, congelación o derrame. No use los reactivos si están contaminados o son sospechosos. El Control Positivo y Negativo debe usarse con cada serie de muestras. Vea la sección VALORES ESPERADOS abajo para una descripción completa de los resultados esperados para los controles. Los resultados deben considerarse inválidos cuando cualquiera de los dos controles no produce los resultados esperados. En dicho caso, repita la prueba y los controles. Si no se observan las reacciones esperadas y los reactivos aún no han alcanzado la fecha de caducidad, por favor contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian Bioscience al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.
- La finalidad de los controles es detectar un error importante del reactivo. Si los controles no producen los resultados esperados puede ser debido a que uno o más de los reactivos dejaron de funcionar, la prueba no fue ejecutada correctamente, o la muestra o algún reactivo no fue añadido. El control positivo no nos va a asegurar precisión en la línea de corte (cut-off).
- Sospeche el método de lavado si los resultados del Control Negativo y/o Positivo consistentemente producen resultados fuera de las especificaciones, o si más de 5% de las muestras producen resultados en la zona equivocada. Para corregir el problema puede aumentar el número de ciclos de lavado, lavar más vigorosamente. **Si los resultados esperados para el control no son observados, repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.**
- Si bien en este ensayo no se ha observado ninguna interferencia por parte de la matriz del espécimen, ya que las muestras están significativamente diluidas antes de probarse en Diluyente de Muestra. Por esta razón el Control Positivo y Negativo suplidos como parte de este ensayo están preparados en la matriz del Diluyente de Muestra. Si se prefiere un control idéntico en composición al de la muestra, se puede diluir una muestra conocida positiva y negativa en Diluyente de Muestra de acuerdo a la sección PREPARACION DE MUESTRA. Añada 100 µL de la muestra preparada al pocillo de control.

VALORES ESPERADOS

Los estudios sobre la epidemiología del *H. pylori* han mostrado que este organismo está presente en todo el mundo.^{18, 23, 24} Se ha señalado la correlación entre la gastritis causada por el *H. pylori* y la edad, el origen étnico, el tamaño de la familia y la clase socioeconómica.^{25, 26} La prevalencia infecciosa del *H. pylori* en una población dada puede fluctuar entre 20% y 90%. Sin embargo, en los pacientes diagnosticados con úlcera duodenal, la presencia demostrada en todos los grupos etarios es de 80%.¹⁸ Los tratamientos de erradicación que se recomiendan actualmente tienen una tasa de eficacia de 75% a 90%.

El test Premier Platinum HpSA PLUS detecta la presencia de antígenos de *H. pylori* en muestras de materia fecal humana. Los valores esperados en una población determinada deben ser determinados por cada laboratorio. La tasa de positividad puede variar dependiendo de la localización geográfica, del método de recolección de las muestras, del manejo y transporte de las mismas, del tipo de prueba empleada y del ambiente de salud general en la población de pacientes que está siendo estudiada. En los estudios realizados con el test Premier Platinum HpSA PLUS, la incidencia de enfermedad encontrada tuvo un rango que abarcó desde 34% en los Estados Unidos, hasta 53% en Canadá y aún hasta 69% en Italia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El ensayo es cualitativo y no se deberá hacer una interpretación cuantitativa con respecto a los valores obtenidos.
- Los resultados de la prueba deberán usarse en conjunto con la información clínica del paciente y otros procedimientos de diagnóstico.
- Se sabe que los antimicrobianos, los inhibidores de la bomba de protones y las preparaciones de bismuto suprimen a *H. pylori*, y que la ingestión de éstos previamente al análisis de *H. pylori* (cultivo, histología, ureasa rápida, UBT, antígeno) puede ocasionar un resultado falso negativo. Si se obtiene un resultado negativo de un paciente que ha estado tomando estos compuestos dentro de las dos semanas previas a realizar el análisis con Premier Platinum HpSA PLUS, podría tratarse de un resultado falso negativo y se debería repetir la prueba con una nueva muestra obtenida dos semanas después de interrumpir el tratamiento. Un resultado positivo para un paciente que ha estado tomando estos compuestos dentro de las dos semanas previas a realizar el ensayo Premier Platinum HpSA PLUS, debería considerarse como preciso. Como ejemplo, muestras de pacientes con *H. pylori* que habían sido tratados durante dos semanas con un inhibidor de la bomba de protones (Lansoprazole) o con bismuto, fueron analizadas con Premier Platinum HpSA y con la prueba de urea en aliento. Luego los pacientes interrumpieron el tratamiento durante dos semanas y se analizaron nuevas muestras. Al final del tratamiento, ambas pruebas fueron negativas para algunos pacientes, pero volvieron a ser positivas a las dos semanas de post-tratamiento (ver tabla).

Tratamiento	Momento	Premier Platinum HpSA		Prueba de aliento	
		Pos/Total	% Positivo	Pos/Total	% Positivo
PPI	Fin del tratamiento	15/20	75,0%	12/20	60,0%
	2 semanas postratamiento	19/20	95,0%	18/20	90,0%
Bismuth	Fin del tratamiento	15/20	75,0%	11/20	55,0%
	2 semanas postratamiento	19/20	95,0%	18/20	90,0%

- La funcionalidad del ensayo no ha sido establecida para la materia fecal acuosa y diarrea.
- La funcionalidad del ensayo no ha sido establecida en poblaciones asintomáticas.
- Los bloqueantes H2 no interfieren con los resultados positivos.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

La primera generación de estudios clínicos que se llevó a cabo con Premier Platinum HpSA demostró que un ensayo de ELISA puede en forma confiable y predecible detectar antígeno de *H. pylori* en heces de pacientes sintomáticos.

El test Premier Platinum HpSA fue estudiado en 200 adultos sintomáticos en cuatro lugares: uno en el Occidente medio de los EE.UU. uno otro en Canadá y dos en Italia. Los pacientes estudiados presentaron una amplia gama de patologías gástricas; entre ellas, gastritis antral (n=81), gastropatía antral (n=25), erosiones antrales (n=24), esofagitis (n=21), úlcera duodenal (n=15), duodenitis erosiva (n=10), Enfermedad de Reflujo Gastro Esofágico ERGE (n=10), "normal" (n=10), duodenitis (n=9), úlcera gástrica (n=8), gastritis estomacal total (n=6), hernia hiatal (n=6), anillo de Schatzki's (n=4), úlcera pilórica (n=2) y úlcera esofágica (n=1). Los resultados del test Premier Platinum HpSA PLUS fueron comparados con el diagnóstico de infección por *H. pylori* de acuerdo con métodos de referencia objetivos: cultivo, test rápido de la ureasa, histología y test del aliento con urea. Los pacientes fueron considerados positivos si el cultivo también lo fue, o si dos o más de los otros tres pruebas fueron positivas. Nueve pacientes fueron no-evaluables: resultados negativos o sin resultado de cultivo y con tan sólo un resultado positivo en cualquiera de las otras pruebas. El test Premier Platinum HpSA PLUS demostró 96,1% de sensibilidad y 95,7% de especificidad en comparación al método de referencia. Los intervalos de confianza fueron calculados por el método exacto binomial.

Lugar del estudio # 1

Prueba		Diagnóstico		Sensitividad	Especificidad	PP +	PP -	Correlación
Método	Resultado	Infectado	No Infectado	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	17	3	94,4%	91,4%	85,0%	97,0%	92,5%
EIA	Neg	1	32	72,7-99,9%	76,9-98,2%	62,1-96,8%	84,2-99,9%	81,8-97,9%
	Equivoco	0	0					

Métodos de Referencia: histología, test rápido de la ureasa, test del aliento con úrea (UBT). Lecturas de Densidad Óptica Única y Densidad Óptica Dual.

Lugar del estudio # 2

Prueba		Diagnóstico		Sensitividad	Especificidad	PP +	PP -	Correlación
Método	Resultado	Infectado	No Infectado	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	9	0	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
EIA	Neg	0	8	66,4-100,0%	63,1-100,0%	66,4-100,0%	63,1-100,0%	80,5-100,0%
	Equivoco	0	0					

Métodos de Referencia: histología, test rápido de la ureasa, test del aliento con úrea (UBT). Lecturas de Densidad Óptica Única y Densidad Óptica Dual.

Lugar del estudio # 3

Prueba		Diagnóstico		Sensitividad	Especificidad	PP +	PP -	Correlación
Método	Resultado	Infectado	No Infectado	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	44	0	97,8%	100,0%	100,0%	96,0%	98,6%
EIA	Neg	1	24	88,2-99,9%	85,8-100,0%	92,0-100,0%	79,6-99,9%	92,2-100,0%
	Equivoco	1	0					

Métodos de Referencia: histología, test rápido de la ureasa, test del aliento con úrea (UBT). Lecturas de Densidad Óptica Única y Densidad Óptica Dual.

Lugar del estudio # 4

Prueba		Diagnóstico		Sensitividad	Especificidad	PP +	PP -	Correlación
Método	Resultado	Infectado	No Infectado	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	29	1	93,5%	96,3%	96,7%	92,9%	94,8%
EIA	Neg	2	26	78,6-99,2%	81,0-99,9%	82,8-99,9%	76,5-99,1%	85,6-98,9%
	Equivoco	2	0					

Métodos de Referencia: histología, test rápido de la ureasa, test del aliento con úrea (UBT). Lecturas de Densidad Óptica Única y Densidad Óptica Dual.

Datos combinados de los tres lugares

Prueba		Diagnóstico		Sensitividad	Especificidad	PP +	PP -	Correlación
Método	Resultado	Infectado	No Infectado	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI	± 95% CI
PPHpSA	Pos	99	4	96,1%	95,7%	96,1%	95,7%	95,9%
EIA	Neg	4	90	90,4-98,9%	89,5-98,8%	90,4-98,9%	89,5-98,8%	92,2-98,2%
	Equivoco	3	0					

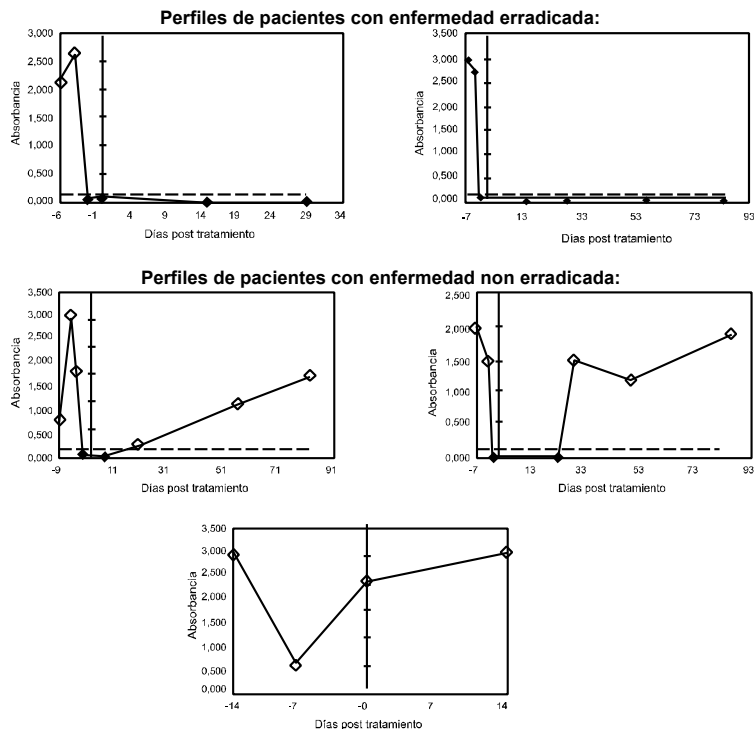
Monitoreo Terapéutico:

Cuatro centros examinaron la utilidad de la prueba de antígeno fecal para el monitoreo del tratamiento anti-*H. pylori* en 97 pacientes, los cuales inicialmente dieron resultados positivos por endoscopia (cultivo, histología y prueba rápida de ureasa). Las pruebas de Premier Platinum HpSA y endoscopia se llevaron a cabo cuatro semanas luego de completar el tratamiento recetado por doctores para la erradicación de *H. pylori*. Los resultados han sido comparados en la tabla siguiente. Las pruebas de cultivo, histología y prueba rápida de ureasa fueron usadas para determinar la erradicación según la directiva de la FDA.²²

En General: Endoscopia 4 Semanas		
HpSA	4 Semanas Post Tratamiento	
Resultados	Infectado	Erradicado
Positivo	18	3
Negativo	1	73
Estadística	Valor	95% CI
Sensitividad	94,7%	74,0-99,9%
Especificidad	96,1%	88,9-99,2%
VP Predecible	85,7%	63,7-97,0%
VP Negativo	98,6%	92,7-100%
Correlación	95,8%	89,6-98,8%

Premier Platinum HpSA identificó correctamente 18/19 (94,7%) de los infectados y 73/76 (96,1%) de los pacientes erradicados. Dos de las 97 heces dieron resultados equivocados por HpSA (2%). El resultado falso negativo fue de un paciente que dio positivo por cultivo, histología y prueba rápida de ureasa. Tres resultados falsos positivos por HpSA fueron obtenidos de pacientes que dieron negativo por todos los otros métodos (cultivo, histología y prueba rápida de ureasa.)

Respuesta al tratamiento es generalmente notado por una prueba negativa entre 5-7 días luego de iniciar el tratamiento. Resultados positivos en este tiempo o luego, indican ineficacia de la terapia o re-ocurrencia. La re-ocurrencia puede resultar por falta de cumplimiento de parte del paciente en completar el tratamiento, ineficacia de las drogas, cepas resistentes de *H. pylori*, dosis incorrecta, etc. La re-ocurrencia de *H. pylori* usualmente ocurre cuatro semanas luego de completar el tratamiento. Pero, ocasionalmente, la infección puede permanecer bajo niveles de detección pasado las cuatro semanas. Esta observación le da soporte a la práctica médica aceptada de esperar cuatro semanas antes de determinar erradicación utilizando cualquier tipo de prueba diagnóstica una vez se completa la terapia. Las figuras siguientes son ejemplos de respuestas típicas de pacientes que obtuvieron o fallaron erradicación. La barra vertical indica el punto de terminación de la terapia (Día 0), días a la izquierda del Día 0 refleja el periodo que el paciente estuvo bajo terapia. El valor de corte (cut-off value) es la barra horizontal entrecortada.



Comparación de Premier Platinum HpSA PLUS a Premier Platinum HpSA:

Pruebas de 291 muestras de pacientes sintomáticos obtenidas antes o luego del tratamiento fueron usadas para demostrar que Premier Platinum HpSA PLUS ejecuta similar a Premier Platinum HpSA. Treinta y tres de estas muestras fueron originalmente evaluadas en un estudio anterior para demostrar la eficacia de Premier Platinum HpSA. La ejecución de la prueba a un intervalo de confianza de 95% está detallada en la tabla siguiente.

PP HpSA PLUS	PP HpSA (Preaprobado)		
	Positivo	Negativo	Indeterminado
Positivo	94	10	3
Negativo	0	183	1
Acuerdo	Positivo	Negativo	En General
	94/94 = 100%	183/193 = 94,8%	277/287 = 96,5%

Ocho de las 10 muestras positivas por Premier Platinum HpSA PLUS, pero negativas por Premier Platinum HpSA eran positivas por histología, la prueba rápida de ureasa y UBT. Las tres pruebas positivas por Premier Platinum HpSA PLUS, pero indeterminadas por Premier Platinum HpSA eran positivas por histología, la prueba rápida de ureasa y UBT. La muestra que dio negativo con Premier Platinum HpSA PLUS, indeterminada por Premier Platinum HpSA, es negativa por histología, la prueba rápida de ureasa y UBT.

Comparación de Premier Platinum HpSA PLUS Modificado a Premier Platinum HpSA PLUS (Predicado):

Ciento cincuenta y nueve (159) muestras de heces archivadas, sin-preservar de pacientes sintomáticos fueron analizadas para antígeno de *H. pylori* por Premier Platinum HpSA PLUS Modificado y por Premier Platinum HpSA (Predicado) para demostrar que los cambios a los anticuerpos de los micropocillos y conjugado no afecta el desempeño de la muestra. El funcionamiento de la prueba incluyendo 95% intervalo de confianza está detallado en la tabla abajo.

PP HpSA PLUS Modificado	PP HpSA PLUS (Predicado)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	57	0	57
Negativo	0	102	102
Total	57	102	159
95% CI			
Acuerdo Positivo	57/57	100.0%	93.7-100.0%
Acuerdo Negativo	102/102	100.0%	96.4-100.0%

REPRODUCIBILIDAD

La precisión del ensayo, la variabilidad intra-ensayo e inter-ensayo fueron evaluadas con un panel de referencia preparado usando muestras positivas moderada (n=3), muestras positivas bajas (n=3) y muestras negativas alta (n=3) y una muestra negativa de verdad (n=1). En adición, también se probaron los controles negativo y positivo del equipo. Cada panel fue evaluado una vez al día por dos técnicos, en tres distintos laboratorios por 5 días consecutivos. En general, 100% (300/300, 98.7-100%, 95% CI) de los resultados obtenidos con Premier Platinum HpSA PLUS eran según esperados. No hubo resultados inválidos durante el estudio (0.0%; 0/300; 0.0-1.3%, 95% CI).

REACTIVIDAD CRUZADA

La especificidad de Premier Platinum HpSA fue evaluada utilizando las siguientes cepas de bacterias y virus. Microorganismos con potencial de reacción cruzada fueron añadidos a una concentración de 1.0×10^7 CFU/mL (bacteria o hongo) o a una concentración de 1×10^5 TCID₅₀/mL (virus), a una muestra natural negativa y una muestra artificial positiva. Ninguno de los organismos afectó los resultados positivos o negativos.

Microorganismo o virus

Adenovirus 41, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* 8739, *Escherichia coli* 9637, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia hermannii* EMDI-64, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, Rotavirus, *Salmonella dublin*, *Salmonella hilversum*, *Salmonella heidelberg* (Group B), *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan Strain I), *Staphylococcus epidermidis* and *Yersinia enterocolitica*

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El ensayo Premier Platinum HpSA PLUS puede detectar ≥ 4.66 ng de proteína *H. pylori*/mL de material fecal.

PRUEBAS PARA SUBSTANCIAS INTERFERENCIA

Las siguientes sustancias, las cuales pueden estar presente en heces humanas, no interfieren con los resultados positivos o negativos a las concentraciones estipuladas per 500 μ L de muestra humana: sulfato de bario – 25 mg, Mylanta – 11.5 mg, Pepto Bismol – 0.44 mg, Prilosec (omeprazole) – 1 mg, Tagamet (cimetidine) – 1 mg, Tums – 10 mg, hemoglobina – 62.5 mg, Mucin – 17 mg, NSAID Ibuprofen – 0.25 mg, ácido steric – 5.3 mg, ácido palmítico – 2.65 mg, globulos blancos – 250 μ L, sangre completa – 250 μ L.

premier platinum

HpSA® PLUS

Enzymimmunoassay zum Nachweis von *Helicobacter pylori*-Antigenen in Stuhlproben zur Diagnose und Therapieüberwachung

REF 601396

IVD

Rx Only

VERWENDUNGSZWECK

Der Premier Platinum HpSA PLUS-Enzymimmunoassay (EIA) ist ein qualitativer in vitro Test zum Nachweis von *Helicobacter pylori* Antigenen im menschlichen Stuhl. Die Testergebnisse sollen die Diagnose der *H. pylori*-Infektion unterstützen und das Ansprechen von Patienten auf die Therapie während und nach der Behandlung überwachen. Allgemein anerkannte medizinische Praxis ist es, die Eliminierung des Erregers mindestens vier Wochen nach Abschluß der Therapie durch eine der gängigen Methoden zu überprüfen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TEST

Seit seiner Entdeckung vor mehr als 20 Jahren durch Marshall und Warren¹ ist *Helicobacter pylori* als eines der weltweit häufigsten und medizinisch wichtigsten Pathogene bekannt.² Es ist mit Sicherheit erwiesen, dass *Helicobacter pylori* an den Ursachen chronischer Gastritis, Ulkuserkrankung, Lymphom im Lymphgewebe der Magenschleimhaut und Adenokarzinom des Magens maßgeblich beteiligt ist.^{1, 3-7}

Beim Menschen scheint seine ökologische Nische auf Magen und Zwölffingerdarm beschränkt zu sein. Bei Patienten, die den Organismus beherbergen, unterscheidet man zwei Hauptgruppen. Die erste Gruppe hat keine Anzeichen oder Symptome einer Magen-Darmerkrankung und wird als „kolonisiert“ betrachtet. Die zweite Gruppe weist Anzeichen und Symptome einer Magen-Darm-Erkrankung auf und gilt als „infiziert“. Der Prozess, durch den eine Person kolonisiert oder infiziert wird, ist noch nicht geklärt.^{3, 4, 8-10} Es wurden zahlreiche Möglichkeiten der Übertragung von *Helicobacter pylori* auf den Menschen ins Auge gefasst, wie z.B. Tiere, kontaminiertes Wasser und die Mundhöhle als Reservoir.¹¹

Diagnostische Tests auf *H. pylori* können als invasiv (Endoskopie, Biopsie) bzw. nicht-invasiv (Serologie, Harnstoff-Atemtest und Stuhl-Antigentest) kategorisiert werden. Bei invasiven Tests wird eine Biopsieprobe aus dem oberen Magen-Darm-Trakt entnommen und mikroskopisch untersucht. Das Gewebe wird für das Anlegen von *H. pylori*-Kulturen herangezogen oder im Urease-Schnelltest untersucht. Diese Vorgehensweise hat den Vorteil, dass aktive Infektionen nachweisbar sind, und zeichnet sich durch eine hohe Spezifität und einen hohen positiven Vorhersagewert aus. Nachteile der invasiven Tests sind u.a. Risiko und Unannehmlichkeit für den Patienten und stellenweise Kolonisierung, die bei der Biopsie nicht erfasst wird. Das Anlegen von Kulturen des Biopsiematerials ist zeitaufwändig und kann durch inhärente technische Schwierigkeiten falsch-negative Ergebnisse erbringen.^{3, 12-15}

Der Harnstoff-Atemtest (UBT für Urea Breath Test) stellt eine nicht-invasive Diagnostikmethode für den Nachweis der sehr aktiven *H. pylori*-Urease dar. Obwohl der Harnstoff-Atemtest äußerst empfindlich und spezifisch ist, hat er auch eine Reihe erheblicher Nachteile. Der Harnstoff-Atemtest ist zeitaufwändig, erfordert besondere Nachweisgeräte und macht die Einnahme isotopisch markierten Harnstoffs seitens des Patienten notwendig.^{3, 16, 17} Ebenfalls nicht-invasive serologische Tests, die auf dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *H. pylori* beruhen, eignen sich für ein primäres Screening von Patienten mit Anzeichen unkomplizierter Infektionen, ermöglichen jedoch keine Differenzierung zwischen einer früheren Exposition und einer aktiven Infektion.^{6, 11, 18} Der Stuhl-Antigentest ist gründlich erforscht und als genauer, nicht-invasiver Test für den Einsatz vor und nach der Behandlung anerkannt.¹⁹⁻²¹ Der kürzlich erschienene „Maastricht V Consensus Report“ empfiehlt den Einsatz von Stuhl-Antigentests und Harnstoff-Atemtests zur Unterstützung der Diagnose einer *H. pylori*-Erkrankung in der ärztlichen Praxis.²²

Der Premier Platinum HpSA PLUS-Test ist ein enzymatischer Immunoassay, der *H. pylori*-Antigene in menschlichem Stuhl nachweist. Es sind keine Berechnungen nötig, und ein Farbumschlag macht die Interpretation der Ergebnisse objektiv und einfach. Hinzu kommt, daß der HpSA-Test eine bereits laufende oder neue Anti- *H. pylori*-Therapie auf Effektivität, Rückfälle oder Eliminierung überprüfen kann – und zwar während und nach der Therapie. Der Premier Platinum HpSA PLUS Test ist eine Abänderung von dem Premier Platinum HpSA Test. Er bewirkt eine Erhöhung der Signalstärke mit positiven Testresultaten und eine bessere Unterscheidung zwischen schwachpositiven und negativen Tests.

TESTPRINZIP

Der Premier Platinum HpSA PLUS-Test verwendet eine Mischung aus mehreren monoklonalen Anti- *H. pylori* Erfassungs-Antikörpern. Verdünnte Patientenproben und eine Mischung aus monoklonalen Antikörpern, die mit Peroxidase markiert sind, werden in die Kavitäten gegeben. Das Gemisch eine Stunde lang bei Raumtemperatur inkubieren lassen. Ungebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Substrat wird zugegeben und 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. Bei Anwesenheit von gebundenem Enzym entwickelt sich Farbe. Nach Zugabe der Stopplösung I werden die Ergebnisse mit bloßem Auge oder spektrophotometrisch bestimmt.

REAGENZIE/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Außenseite der Packung angegeben.

1. **Antikörper-beschichtete Kavitäten** - Plastikavitäten, die einzeln abbrechbar sind, beschichtet mit einer Vielfalt von monoklonalen Mausantikörpern, die spezifisch für *H. pylori* sind.
2. **Positivkontrolle** - Inaktivierte *H. pylori* Bakterien verdünnt in 10mM Phosphat-gepufferten Lösung, mit 0,02% Thimerosal, pH 7,2.
3. **Negativkontrolle/ Probenverdünnungspuffer** - pH 7,2, 10 mM Phosphat-gepufferte Lösung, mit 0,02% Thimerosal.
4. **20fach konzentrierter Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer I)** (50 mL): pH 6,8, 180 mM Phosphat-gepufferte Lösung mit 0,2% Thimerosal.
5. **Enzymkonjugat** - Eine Vielfalt von monoklonalen Mausantikörpern spezifisch für *H. pylori*, konjugiert mit Meerrettich-Peroxidase in einer pH 7,8, 50 mM Tris-gepufferten Lösung mit 0,02% Thimerosal.
6. **Substrat I (Premier Substrate I)** - Gepufferte Lösung mit Harnstoffperoxid und Tetramethylbenzidin (pH 5,0).
7. **Stopplösung I (Premier Stop Solution I)** – 1 M Phosphorsäure. VORSICHT: Hautkontakt vermeiden, bei Kontakt mit Wasser spülen.
8. Transferpipetten (Pro Stuhlprobe eine verwenden) Jede Pipette ist gekennzeichnet um die 50 µL, 100 µL, 200 µL und 300 µL Volumen anzuzeigen.
9. Klebefolie zum Verschließen der Platte
10. Holzspatel.

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Reagenzröhrchen (12 x 75 mm) zur Probenverdünnung
2. Destilliertes oder deionisiertes Wasser
3. Spritzflasche
4. Meßzylinder zur Herstellung des einfach konzentrierten 1X Waschpuffers I
5. ELISA-Plattenphotometer für Extinktionsmessungen bei 450 nm oder 450/630 nm*
6. Halbautomatisiertes Kavitätenwaschgerät (Zum Beispiel: BioTek Elx50)*


*Anmerkung: Der Anwender ist verantwortlich für die Bestätigung des halbautomatisierten Kavitätenwaschgeräts und des Lesegeräts. Dies muss vor dem Test geschehen.


VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Die Patientenproben können infektiös sein und sollten als potentiell pathogen gehandhabt und entsorgt werden.
3. Alle Reagenzien sollten vor Gebrauch vorsichtig durchmischt werden.
4. Kavitäten, Enzymkonjugat, Substrat I oder Positivkontrolle aus Testkits unterschiedlicher Chargennummer nicht austauschen. (Der Probenverdünnungspuffer, 20fach konzentrierter Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer I) und die Stopplösung I (Premier Stop Solution I) sind chargenübergreifend verwendbar solange das Verfallsdatum nicht abgelaufen ist.)
5. Die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen, 19-27 C.
6. Die Reagenzien Fläschchen in geeignetem Abstand senkrecht über die Kavität halten, um eine sorgfältige Zugabe von Tropfen der richtigen Größe zu gewähren.
7. Die Testkitbestandteile nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums auf den Etiketten verwenden.
8. Die Fläschchen mit den richtigen farbigen Deckeln verschließen.
9. Benutzten Waschpuffer und andere verwendete Reagenzien in geeigneten Behältern entsorgen und als potentiell pathogen behandeln.
10. Die Positivkontrolle enthält inaktivierten *H. pylori*. Sie sollte dennoch als potentiell pathogen behandelt werden.

11. Vermeiden Sie den Hautkontakt mit der Stopplösung I (Premier Stop Solution I) (1 M Phosphorsäure). Sofort mit Wasser spülen, wenn ein Kontakt auftritt.
12. Gebrauchte Mikrotiterkavitäten nicht wiederverwenden.
13. Nicht benutzte Kavitäten müssen in den wiederverschließbaren Beutel zurückgelegt werden. Es ist wichtig, die Kavitäten vor Feuchtigkeit zu schützen.
14. Die mitgelieferten Transferpipetten müssen für die Probenvorbereitung und den Transfer benutzt werden. Für jede Probe eine neue Pipette verwenden.
15. Vermeiden Sie ein Verspritzen des verdünnten Stuhls beim Einfüllen in die Mikrotiterkavitäten, indem Sie die Spitze der Transferpipette ungefähr halb in die Kavität eintauchen und die Probe langsam an der Seite der Kavität herunter laufen lassen.
16. Das Waschen der Mikrotiterkavitäten muss genau nach den Testanweisungen durchgeführt werden. Unzureichendes Waschen kann einen erhöhten Hintergrund in jedem ELISA-Protokoll verursachen.
17. Alle Reagenzien bis auf den 20fach konzentrierten Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer I) sind gebrauchsfertig.
18. Jede Abweichung nach oben oder unten von den angegebenen Inkubationszeiten kann die Sensitivität und Spezifität beeinflussen und sollte vermieden werden.
19. Vor dem Pipettieren muß der Stuhl sorgfältig gemischt werden (unabhängig von der Konsistenz), um sicherzugehen, daß eine repräsentative Probe entnommen wird.
20. Es kann zu einer Ausfällung im 20fach konzentrierten Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer I) kommen, wenn es bei 2-8 C gelagert ist. Das Präzipitat löst sich auf, wenn eine inkraftgetretene Verdünnung des 1X Waschpufferkonzentrats stattfindet.
21. Fläschchen, ohne Chargennummer, Verfallsdatum oder Etikett nicht benutzen.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

 Premier Stop Solution I	SIGNALWORT Gefahr Gefahrenhinweise H412- Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung H314 - Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden Sicherheitshinweise - Verordnung (EG) §28, Nr. 1272/2008 P260 - Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen P264 - Nach Gebrauch Gesicht, Hände und exponierte Haut gründlich waschen P280 - Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. P305 + P351 + P338 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen P303 + P361 + P353 - BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/ duschen. P363 - Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen P304 + P340 - BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert P310 - Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen P301 + P330 + P331 - BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen P405 - Unter Verschluss aufbewahren P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen
--	--

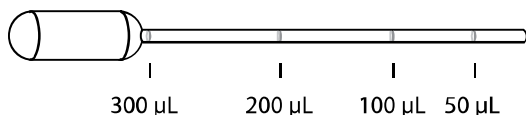
 Premier 20X Wash Buffer I	SIGNALWORT Achtung Gefahrenhinweise H312 - Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt Sicherheitshinweise - Verordnung (EG) §28, Nr. 1272/2008 P280 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P321 - Besondere Behandlung (siehe ergänzende Anweisungen zur Verabreichung des Gegenmittels auf diesem Kennzeichnungsetikett).
--	---

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Haltbarkeitsdatum ist auf dem Testkitetikett angegeben. Lagern Sie den Kit bei 2-8 C und legen Sie ihn sofort nach jedem Gebrauch in den Kühlschrank zurück.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die Premier Platinum HpSA PLUS-Transferpipette ist im Folgenden abgebildet:



VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

1. Den gesamten Testkit, einschließlich dem Beutel mit den Mikrotiterkavitäten, vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen (19-27 C).
2. Einfach konzentrierten 1X Waschpuffer I nach Bedarf herstellen. Zum Beispiel: 4,0 mL 20fach konzentrierter Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer I) + 76,0 mL destilliertes oder deionisiertes Wasser reichen zum Waschen eines Streifens. In eine saubere Spritzflasche geben. Der einfach konzentrierte Waschpuffer kann bei 19-27 C bis zu drei Monate lang aufbewahrt werden.

PROBENNAHME UND VORBEREITUNG

Die Stuhlproben sollten in ein luftdichtes Transportgefäß gegeben werden und bei 2-8 C bis zum Testen gelagert werden. Die Proben sollten so bald wie möglich untersucht werden, sie sind jedoch bei 2-8 C 72 Stunden bis zum Test haltbar. (Siehe Vorbereitung der Proben, Abschnitt für verdünnte Proben). Wenn der Test nicht innerhalb dieses Zeitrahmens durchgeführt werden kann, sollten die Proben sofort nach der Abnahme eingefroren werden und bis zum Test gefroren (-20 C bis -80 C) gelagert werden. Die Proben können zweimal eingefroren und wieder aufgetaut werden.

ACHTUNG: Proben in Transportmedien oder Konservierungsmitteln sowie Abstrichtupfer sind nicht geeignet für den Test.

VORBEREITUNG DER PROBEN

1. 500 µL Probenverdünnungspuffer in ein sauberes Reagenzröhrchen geben.
2. Den Stuhl vor dem Pipettieren so sorgfältig wie möglich mischen.
 - a. Flüssiger oder halbfester Stuhl: Mit einer geeigneten Pipette 100 µL (Zweiter Pipettenstrich) Stuhl in den Probenverdünnungspuffer geben. Mit derselben Pipette, die Stuhlsuspension mehrmals vorsichtig aufziehen und wieder ausdrücken, dann 15 Sekunden mit dem Rüttler mischen. Die Transferpipette in der Probe zur späteren Verwendung behalten.
 - b. Geformter, fester Stuhl: Mit einem Holzspatel eine kleine (5-6 mm Durchmesser) Portion des sorgfältig gemischten Stuhls in den Probenverdünnungspuffer überführen. Den Stuhl mit dem Holzspatel aufemulgieren und dann 15 Sekunden im Vortexrüttler durchmischen.
3. Die Stuhlproben können nach der Verdünnung zentrifugiert werden. Zentrifugieren Sie die Proben bei ungefähr 2750 x G für fünf Minuten oder bis die festen Bestandteile sich von der Flüssigkeit trennen. Führen Sie den Test mit dem Überstand durch.

TESTDURCHFÜHRUNG

- Nachdem der Beutel auf Raumtemperatur gebracht wurde, die benötigte Anzahl von Mikrotiterkavitäten abbrechen (1 Kavität für jede Probe plus 1 Positiv- und 1 Negativkontrolle pro Testlauf). Die Kavitäten in die Halterung setzen und den Platz aller Kavitäten notieren. Unbenutzte Kavitäten müssen sofort wieder in dem Beutel verschlossen werden.
- Je 100 µL des verdünnten Stuhls in die dafür vorgesehene Kavität geben. (Zweite Markierung von der Spitze der Pipette aus.) (Pipettenspitze halb in die Kavität einbringen, Probe langsam an der Seite der Kavität entlang hinunterlaufen lassen.)
- Je 2 freifallende Tropfen der Positivkontrolle und 100 µL dem Probenverdünnungspuffer/Negativkontrolle in die dafür vorgesehenen Kavitäten geben.
- Je 1 freifallenden Tropfen Enzym-konjugat in jede Kavität geben. Die Platte 30 Sekunden lang stark schütteln.
- Die Folie zum Verschließen der Platte zurechtschneiden und fest auf die Mikrotiter-kavitäten drücken. Die Platte 1 Stunde lang bei 19-27 C inkubieren.
- Die Folie vorsichtig entfernen und die Kavitäten waschen:
 - Manuelle Methode:
 - Den Kavitäten inhalt gründlich in einem Abfallgefäß auskippen.
 - Die Kavitäten umgekehrt auf frischen Papiertüchern ausklopfen.
 - Alle Kavitäten mit 1X Waschpuffer I füllen. Bitte richten sie den Pufferstrahl an die Seite der Kavitäten um Schaum zu vermeiden.
 - Wiederholen Sie diesen Waschzyklus (auskippen, auf frischen Papiertüchern ausklopfen, füllen) 4mal für insgesamt 5 Waschgänge. Nach dem letzten Füllen, auskippen und so stark auf frischen Papiertüchern ausklopfen, daß soviel überschüssiger Waschpuffer wie möglich entfernt wird, aber lassen Sie die Kavitäten zu keiner Zeit vollständig austrocknen.
 - Halbautomatisierte Methode mit anerkannten Instrumenten.
 - Den Kavitäteninhalt absaugen.
 - Alle Kavitäten mit 1X Waschpuffer I füllen (ungefähr 300-350 µL/kavität) und dann absaugen. Bitte richten Sie den Pufferstrahl so ein, daß kein Schaum sich bilden kann während der Füllung der Kavitäten und das die Kavitäten sämtlich nach jedem Waschen abgesaugt werden.
 - Wiederholen Sie diesen Waschzyklus mindestens 4mal. Nach dem letzten Füllen, sollen die Kavitäten sämtlich abgesaugt werden, so daß soviel Feuchtigkeit wie möglich entfernt wird.
- Die Unterseite aller Kavitäten mit einem fusselfreien Tuch säubern.
- Je 2 freifallende Tropfen (ungefähr 100 µL) der Substratlösung I (Premier Substrate Solution I) in jede Kavität geben. Die Platte 30 Sekunden lang kräftig schütteln. 10 Minuten bei 19-27 C inkubieren.
- Je 2 freifallende Tropfen (ungefähr 100 µL) der Stopplösung (Premier Stop Solution I) in jede Kavität geben. Die Platte 30 Sekunden lang kräftig schütteln.
ACHTUNG: die anfängliche Farbe einer Positivreaktion ist blau, die sich bei Zugabe der Stopplösung (Premier Stop Solution I) in gelb wandelt.
- Die Testergebnisse können mit bloßem Auge oder mit einem Spektralphotometermessgerät bestimmt werden.
 - Bestimmung mit bloßem Auge: innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stopplösung I (Premier Stop Solution I) ablesen.
 - Spektralphotometrische Bestimmung: das EIA-Messgerät an der Luft kalibrieren. Die Unterseite der Kavitäten mit einem fusselfreien Tuch abwischen. Die Extinktion bei 450 nm oder 450/630 nm innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stopplösung I (Premier Stop Solution I) ablesen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Die folgenden Interpretationen sind sowohl für die Erstdiagnose als auch für die Überwachung der anti- *H. pylori*-Therapie anzuwenden:

AbleSEN mit dem bloßen Auge:

Negativ = farblos bis schwach gelb
Positiv = deutlich gelbe Farbe

Eine schwache Gelbfärbung muß spektrophotometrisch ausgewertet werden. Wenn kein Photometer zur Verfügung steht, muß der Cut-Off-Wert durch eine andere Methode ermittelt werden.

Spektralphotometrische Bestimmung, einfache Wellenlänge (450 nm)

Negativ < 0,140
Positiv ≥ 0,140
Negativkontrolle < 0,140
Positivkontrolle: ≥ 0,640

Spektralphotometrische Bestimmung, zweifache Wellenlänge (450/630 nm)

Negativ: < 0,100
Positiv: ≥ 0,100
Negativkontrolle: < 0,100
Positivkontrolle: ≥ 0,600

Wenn die Negativkontrolle geringer als 0,000 ist, dann das Plattenmessgerät erneut an der Luft kalibrieren und die Platte erneut ablesen.

Ein positives Ergebnis zeigt das Vorkommen von *H. pylori* Antigenen an. Ein negatives Ergebnis zeigt entweder die Abwesenheit von *H. pylori*-Antigenen an, oder daß die Antigenkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt. Die OD-Größenordnung über dem Schwellenwert ist kein Anzeichen für die Ernsthaftigkeit oder das Ausmaß der *H. pylori*-Infektion. Sehr stark positive Reaktionen können zu einem purpurinen Niederschlag innerhalb weniger Minuten nach Abstoppen der Reaktion führen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch.

- Bei jedem Gebrauch sollten die Testbestandteile auf offensichtliche Anzeichen von mikrobiellem Befall, Einfrierung oder Undichtigkeit überprüft werden. Keine kontaminierte oder suspekt Reagenzien sollen benutzt werden. Positiv und Negativkontrollen müssen zur Qualitätsüberprüfung der Reagenzien in jedem Testlauf mitanalysiert werden. Die erwarteten Ergebnisse der Kontrollen werden im oberen Paragraphen "AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE" beschrieben. Wenn die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse geben, sollen die Tests als ungültig betrachtet werden. In diesem Fall, wiederholen Sie die Tests und Kontrollen. Wenn die erwarteten Resultate nicht erhalten werden und die Haltbarkeit der Reagenzien noch nicht abgelaufen ist, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.
- Die Kontrollen dienen zur Überprüfung eines möglichen Versagens der Reagenzien. Wenn man die erwarteten Resultate nicht erhalten hat, beweist das, dass ein oder mehrere Produkte im Moment des Gebrauches fehlerhaft waren, dass der Test nicht sorgfältig durchgeführt wurde oder dass die Reagenzien nicht hinzugefügt wurden. Die Positivkontrolle kann die Genauigkeit des Cut off Wertes nicht sicherstellen.
- Wenn die positiven und/oder negativen Kontrollen systematisch Ergebnisse außerhalb der Testspezifikationen ergeben, wird es empfohlen, kräftiger zu waschen, die Waschzykluszahl zu erhöhen, eventuelle Abfallprodukte zu eliminieren oder die Waschgeräte zu kalibrieren während der Testdurchführung. **Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, wiederholen Sie zur Ermittlung der Fehlerquelle als Erstes die Kontrolltests. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.**
- Kein Einfluß der Probenmatrix auf den Test wurde festgestellt da die Verdünnung der Proben -hoch ist. Deshalb werden die mitgelieferten Kontrollen in der Probenverdünnungsmatrix vorbereitet. Falls Kontrollreagenzien mit gleicher Komposition wie die Testproben bevorzugt werden, kann der Benutzer diese bekannten positiven oder negativen Proben im Probenverdünnungspuffer verdünnen wie beschrieben unter dem Paragraphen " VORBEREITUNG DER PROBEN". 100 µL von den vorbereiteten Proben in die Kavität geben.

ERWARTETE WERTE

Epidemiologie Studien über *H. pylori* haben gezeigt, daß dieser Organismus weltweit vorkommt.^{18, 23, 24} Es konnte gezeigt werden, daß die durch *H. pylori* ausgelöste Gastritis mit dem Alter, der ethnischen Zugehörigkeit, der Familiengröße und dem sozioökonomischen Umfeld korreliert.^{25, 26} Die Häufigkeit der *H. pylori*-Infektionen in einer bestimmten Bevölkerung kann zwischen 20% und 90% variieren. Bei Patienten mit diagnostizierten Zwölffingerdarmgeschwüren wurde jedoch in jeder Altersgruppe eine Häufigkeit von etwa 80% festgestellt.¹⁸ Die heute empfohlenen Eradikationstherapien zeigen eine Wirksamkeit von 75% bis 90%.

Der Premier Platinum HpSA PLUS - Test weist das Vorkommen von *H. pylori* Antigenen in menschlichem Stuhl nach. Erwartungswerte für eine gegebene Bevölkerung sollten für jedes Labor bestimmt werden. Die Positivrate hängt von der geographischen Lage, der Methode der Probenahme, -handhabung und des -transports, von dem angewandten Test und den allgemeinen Gesundheitsbedingungen der untersuchten Patientenbevölkerung ab. In Studien mit dem Premier Platinum HpSA Test, die in den USA, Kanada und Italien durchgeführt wurden, lag die Inzidenz der Erkrankung bei 34%, 53% beziehungsweise 69%.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Dies ist ein qualitativer Test, quantitative Auswertung anhand der Werte sollten nicht gemacht werden.
2. Die Testergebnisse sollten in Verbindung mit den verfügbaren klinischen Befunden und anderen diagnostischen Verfahren verwendet werden.
3. Antibiotika, Protonenpumpen-Inhibitoren und Wismuth-Präparate sind bekannt für ihre hemmende Wirkung auf *H. pylori*, und ihre Einnahme vor den *H. pylori*-Tests (Kultivierung, Histologie, Urease schnelltest, Harnstoffatmetest, Antigentest) kann ein falsch negatives Ergebnis bedingen. Wenn ein negatives Ergebnis bei einem Patienten auftritt, der diese Wirkstoffe innerhalb der letzten zwei Wochen vor der Durchführung des Premier Platinum HpSA PLUS -Tests eingenommen hat, könnte dies ein falsch negatives Ergebnis sein. Der Test sollte mit einer neuen Probe, die zwei Wochen nach dem Therapieende genommen wurde, wiederholt werden. Ein positives Ergebnis bei einem Patienten, der diese Wirkstoffe innerhalb von zwei Wochen vor dem Premier Platinum HpSA PLUS -Test eingenommen hat, sollte als richtig angesehen werden. Ein Beispiel: Patienten mit *H. pylori* wurden auf einen Protonenpumpen-Inhibitor (PPI, Lansoprazole) oder Wismuth eingestellt und nach zwei Wochen mit dem Premier Platinum HpSA - und einem Harnstoffatmetest untersucht. Dann wurde die Therapie zwei Wochen lang abgesetzt und die Patienten wurden erneut getestet. Am Ende der Behandlung waren beide Tests in einigen Patienten negativ, sie wurden jedoch zwei Wochen nach dem Therapieende wieder positiv (s. Tabelle).

Therapie	Zeitpunkt	Premier Platinum HpSA		Atemtest	
		Pos/Gesamt	% Positiv	Pos/Gesamt	% Positiv
PPI	Ende der Therapie	15/20	75,0%	12/20	60,0%
	2 Wochen nach Therapieende	19/20	95,0%	18/20	90,0%
Wismuth	Ende der Therapie	15/20	75,0%	11/20	55,0%
	2 Wochen nach Therapieende	19/20	95,0%	18/20	90,0%

4. Die Leistungsmerkmale wurden nicht für wässrige, Diarrhoe-Stühle überprüft.
5. Die Leistungsmerkmale wurden nicht in asymptomatischen Bevölkerungen überprüft.
6. H2-Blocker haben keinen Einfluss auf positive Ergebnisse.

LEISTUNGSMERKMALE

Klinische Bestätigungen mit dem ersten Generations Premier Platinum HpSA Test demonstrierten, dass der Elisatest verlässlich und vorhersehbar ist. Dies im Nachweis von HpSA Antigenen in menschlichem Stuhl von symptomatischen Patienten. Studien haben auch gezeigt, dass der Test benützt werden kann, um die Effizienz der Eradikationstherapie zu überwachen.

Der Premier Platinum HpSA Test wurde an 200 symptomatischen Erwachsenen an einem Ort im mittleren Westen der USA, einem Ort in Kanada und zwei Orten in Italien evaluiert. Die Patienten dieser Studie deckten einen Großteil bekannter gastrologischer Pathologien ab und beinhaltete: Antrum Gastritis (n=81), Antrum Gastropathie (n=25), Antrum Erosionen (n=24), Ösophagitis (n=21), Zwölffingerdarm Geschwür (n=15), erosive Duodenitis (n=10), GERD (n=10), "Normale" (n=10), Duodenitis (n=9), gastrischer Ulcus (n=8), Gesamt Magen Gastritis (n=6), Hernie (n=6), Schatzki's Ring (n=4), Pylorischer Ulcus (n=2), und Ösophagus Ulcus (n=1). Die Ergebnisse des HpSA Tests wurden mit der Diagnose der *H. pylori* Infektion, die durch objektive Referenzmethoden (Kultur, Urease Schnelltest, Histologie und Atemtest) ermittelt wurden, verglichen. Die Patienten wurden als positive eingestuft, wenn die Kultur positiv war, oder wenn zwei oder mehr der anderen drei Tests positiv waren. Neun Patienten mit negativem oder gar keinem Kultur Ergebnis und nur einem positiven Ergebnis der anderen Tests wurden als nicht-evaluierbar eingestuft. Der HpSA Test weist im Vergleich zur Referenzmethode eine Sensitivität von 96,1% und eine Spezifität von 95,7% auf. Die Konfidenzintervalle wurden mit der exakten Binomial Methode berechnet.

Studienort # 1

Test		Diagnose		Sensitivität	Spezifität	Pos. PV	Neg PV	Korrelation
Methode	Ergebnis	Infiziert	Nicht Infiziert	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI
PPHpSA	Pos	17	3	94,4%	91,4%	85,0%	97,0%	92,5%
EIA	Neg	1	32	72,7-99,9%	76,9-98,2%	62,1-96,8%	84,2-99,9%	81,8-97,9%
	Equiv.	0	0					

Referenz Methoden: Histologie, Urease Schnelltest, Atemtest. Bestimmungen mit Einfacher und Doppelter Wellenlänge.

Studienort # 2

Test		Diagnose		Sensitivität	Spezifität	Pos. PV	Neg PV	Korrelation
Methode	Ergebnis	Infiziert	Nicht Infiziert	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI
PPHpSA	Pos	9	0	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
EIA	Neg	0	8	66,4-100,0%	63,1-100,0%	66,4-100,0%	63,1-100,0%	80,5-100,0%
	Equiv.	0	0					

Referenz Methoden: Histologie, Urease Schnelltest; Kultur, Atemtest. Bestimmungen mit Einfacher und Doppelter Wellenlänge.

Studienort # 3

Test		Diagnose		Sensitivität	Spezifität	Pos. PV	Neg PV	Korrelation
Methode	Ergebnis	Infiziert	Nicht Infiziert	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI
PPHpSA	Pos	44	0	97,8%	100,0%	100,0%	96,0%	98,6%
EIA	Neg	1	24	88,2-99,9%	85,8-100,0%	92,0-100,0%	79,6-99,9%	92,2-100,0%
	Equiv.	1	0					

Referenz Methoden: Histologie, Urease Schnelltest, Kultur, Atemtest. Bestimmungen mit Einfacher Wellenlänge

Studienort # 4

Test		Diagnose		Sensitivität	Spezifität	Pos. PV	Neg PV	Korrelation
Methode	Ergebnis	Infiziert	Nicht Infiziert	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI
PPHpSA	Pos	29	1	93,5%	96,3%	96,7%	92,9%	94,8%
EIA	Neg	2	26	78,6-99,2%	81,0-99,9%	82,8-99,9%	76,5-99,1%	85,6-98,9%
	Equiv.	2	0					

Referenz Methoden: Histologie, Urease Schnelltest Bestimmungen mit Doppelter Wellenlänge.

Zusammengefasste Daten aller Studienorte

Test		Diagnose		Sensitivität	Spezifität	Pos. PV	Neg PV	Korrelation
Methode	Ergebnis	Infiziert	Nicht Infiziert	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI	± 95% VI
PPHpSA	Pos	99	4	96,1%	95,7%	96,1%	95,7%	95,9%
EIA	Neg	4	90	90,4-98,9%	89,5-98,8%	90,4-98,9%	89,5-98,8%	92,2-98,2%
	Equiv.	3	0					

Therapie Monitoring:

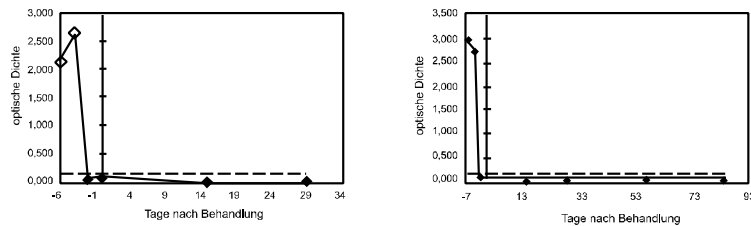
Vier Orte untersuchten die Nutzbarkeit des Stuhl-Antigen-Tests für das Monitoring der anti-*H. pylori* Behandlung bei 97 Patienten, die zu Beginn auf Grund der Endoskopie als positiv eingestuft wurden (Kultur, Histologie und Urease Schnelltest). Der Premier Platinum HpSA -Test und die endoskopischen Biopsien wurden vier Wochen nach Beendigung der durch den Arzt verordneten *H. pylori* Eradikationstherapie durchgeführt. Die Testergebnisse werden in der folgenden Tabelle miteinander verglichen. Kultur, Histologie und Urease Schnelltest wurden gemäß den FDA Richtlinien zur Bestimmung der Eradikation verwendet.²²

Gesamt: HpSA vs. Endoskopie nach 4 Wochen		
HpSA Ergebnis	4 Wochen nach Behandlung	
	Infiziert	Eradiziert
Positiv	18	3
Negativ	1	73
Statistischer Wert		95% VI
Sensitivität	94,7%	74,0-99,9%
Spezifität	96,1%	88,9-99,2%
Positiver PV	85,7%	63,7-97,0%
Negativer PV	98,6%	92,7-100%
Korrelation	95,8%	89,6-98,8%

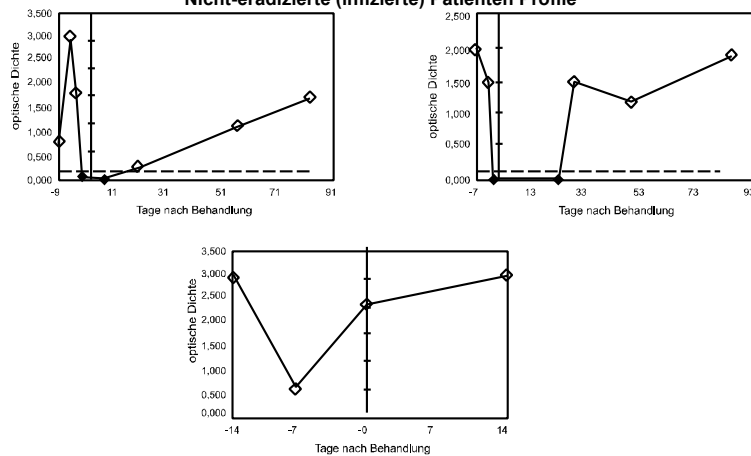
Der Premier Platinum HpSA -Test identifizierte genau 18/19 (94,7%) der infizierten und 73/76 (96,1%) der eradizierten Patienten. Zwei der 97 Stuhlproben waren im HpSA Test grenzwertig (2%). Die falsch-negative Stuhlprobe stammt von einem Patienten, der einen positiven Befund im Kultur, Histologie und Urease Schnelltest zeigte. Drei falsch-positive HpSA Ergebnisse wurden von Patienten erhalten, die mit allen anderen Methoden negativ waren (Kultur, Histologie und Urease Schnelltest).

Ob die Therapie anschlägt, wird im allgemeinen durch einen negativen HpSA Test festgestellt, der innerhalb von 5 bis 7 Tagen nach Beginn der Therapie durchgeführt wird. Positive Ergebnisse, die zu diesem oder späteren Zeitpunkt festgestellt werden, indizieren eine erfolglose Therapie oder einen Rückfall. Ein Rückfall kann entweder aus Patienten Fehlverhalten mit den Medikamenten, unwirksamen Medikamenten, resistenten Stämmen von *H. pylori*, ungenauer Dosierung etc. resultieren. Eine wiederkehrende *H. pylori* Infektion erscheint im allgemeinen vier Wochen nach Beendigung der Therapie. Gelegentlich bleiben Infektionen jedoch nach vier Wochen noch kryptisch. Diese Beobachtung unterstützt die allgemein akzeptierte medizinische Praxis, dass die Feststellung der Eradikation, unabhängig davon welche diagnostische Methode verwendet wird, mindestens vier Wochen nach Beendigung der Therapie erfolgen sollte. Die unter gezeigten Abbildungen stellen typische Antwort Profile für eine erfolgreiche und eine erfolglose Eradikationstherapie dar. Der vertikale Balken indiziert das Therapieende (Tage 0). Die Tage links von Tage 0 zeigen den Zeitraum, in dem die Patienten Medikamente genommen haben. Der Cut Off ist durch gestrichelte, horizontale Linien aufgezeigt.

Eradizierte Patienten Profile



Nicht-eradizierte (infizierte) Patienten Profile



Vergleich des Premier Platinum HpSA Plus Tests mit dem Premier Platinum HpSA Test:

Testresultate mit 291 Proben symptomatischer Patienten, die entweder vor oder nach der Behandlung entnommen wurden, zeigen, dass die Tests Premier Platinum HpSA PLUS und Premier Platinum HpSA ähnliche Leistungen erfüllen. Dreiunddreißig dieser Proben wurden anfangs in einem früheren Versuch evaluiert, um die Wirksamkeit des Premier Platinum HpSA Tests zu demonstrieren. Die Leistungsmerkmale, die 95% Konfidenzintervalle einbeziehen, sind in der folgenden Tabelle detailliert.

PP HpSA PLUS Ergebnis	PP HpSA		
	Positiv	Negativ	Unbestimmbar
Positiv	94	10	3
Negativ	0	183	1
Übereinstimmung	Positiver Test	Negativer Test	Gesamt
	94/94 = 100%	183/193 = 94,8%	277/287 = 96,5%

Acht der 10 Proben, die positiv mit Premier Platinum HpSA Plus waren, aber negativ mit Premier Platinum HpSA, waren positiv mit Urease Schnelltest, Histologie oder Harnstoffatmetest (UBT). Drei Proben, die positiv mit Premier Platinum HpSA Plus waren, aber unbestimmbar mit Premier Platinum HpSA, waren positiv mit Urease Schnelltest, Histologie oder Harnstoffatmetest (UBT). Eine Probe, die negativ mit Premier Platinum HpSA Plus war, aber unbestimmbar mit Premier Platinum HpSA, war negativ mit Urease Schnelltest, Histologie oder Harnstoffatmetest (UBT).

Vergleich des modifizierten Premier Platinum HpSA PLUS Tests mit dem Premier Platinum HpSA PLUS Test (Prädikatstest)

Einhundertneundfünfzig (159) archivierte, nicht konservierte Stuhlproben von symptomatischen Patienten wurden mit dem modifizierten Premier Platinum HpSA PLUS und dem Premier Platinum HpSA PLUS Test (Prädikatstest) auf *H. pylori*-Antigen analysiert, um zu zeigen, dass Änderungen an den Antikörpern der Mikrotiterplatte und des Konjugats die Assay-Leistung nicht beeinflussen.

Modifizierter PP HpSA PLUS Test	PP HpSA PLUS (Prädikatstest)		
	Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv	57	0	57
Negativ	0	102	102
Gesamt	57	102	159
			95% CI
Positive Übereinstimmung	57/57	100.0%	93.7-100.0%
Negative Übereinstimmung	102/102	100.0%	96.4-100.0%

REPRODUZIERBARKEIT

Die Assay-Präzision, die Intra-Assay-Variabilität und die Inter-Assay-Variabilität wurden mit einem Referenzpanel aus mäßig positiven Proben (n = 3), niedrig positiven Proben (n = 3), hoch negativen Proben (n = 3) und einer echten negativen Probe (n = 1) bewertet. Zusätzlich wurden die Positiv- und Negativ-Kit-Kontrollen durchgeführt als jedes Panel getestet wurde. Jedes Panel wurde einmal täglich von zwei Anwendern an drei verschiedenen Laborstandorten an fünf aufeinanderfolgenden Tagen getestet. Insgesamt entsprachen 100% (300/300, 98,7-100%, 95% CI) der mit dem Premier Platinum HpSA PLUS Test erzielten Ergebnisse den Erwartungen. Während der Studie wurden keine ungültigen Ergebnisse erzielt (0,0%; 0/300; 0,0-1,3%, 95% CI).

KREUZREAKTIVITÄT

Die Spezifität des Premier Platinum HpSA PLUS Tests wurde unter Verwendung der folgenden Bakterien- oder Virusstämme getestet. Potentiell kreuzreaktive Mikroorganismen wurden in einer Zielkonzentration von $1,0 \times 10^7$ CFU / mL (Bakterien oder Pilze) oder einer Konzentration von mehr als 1×10^5 TCID₅₀ / mL (Viren) zu einer natürlichen negativen und einer konstruierten positiven Probe hinzugefügt. Keiner der Organismen beeinflusste die positiven oder negativen Testergebnisse.

Mikroorganismen oder Viren

Adenovirus 41, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* 8739, *Escherichia coli* 9637, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia hermannii* EMDI-64, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, Rotavirus, *Salmonella dublin*, *Salmonella hilversum*, *Salmonella heidelberg* (Gruppe B), *Salmonella minnesota*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowan Stamm I), *Staphylococcus epidermidis* and *Yersinia enterocolitica*

TESTEMPFINDLICHKEIT

Der Premier Platinum HpSA PLUS -Test kann $\geq 4,66$ ng *H. pylori*-Protein/mL Stuhl nachweisen. (Analytische Sensibilitätsgrenze.)

STÖRSUBSTANZEN -TESTS

Die folgenden Substanzen, die möglicherweise in humanen Stuhlproben vorkommen, beeinflussen nicht die Testergebnisse bei den angegebenen Konzentrationen pro 500 µL humane Stuhlprobe: Bariumsulfat – 25 mg, Mylanta 11,5 mg, Pepto Bismol – 0,44 mg, Prilosec (Omeprazol) – 1 mg, Tagamet (Cimetidin) – 1 mg, Tums – 10 mg, Hämoglobin – 62,5 mg, Mucin – 17 mg, NSAID Ibuprofen – 0,25 mg, Stearinsäure – 5,3 mg, Palmitinsäure – 2,65 mg, Leukozyten – 250 µL, Vollblut – 250 µL.

REFERENCES

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;i: 1311-1314.
2. Versalovic J. *Helicobacter pylori*. Pathology and diagnostic strategies. *Am J Clin Pathol* 2003;119:403-12.
3. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997;10:720-41.
4. Gregson DB, Simor AE. *Helicobacter pylori* and inflammatory disease of the stomach and duodenum. *Stomach and Bowel*, 1991;Sep:29-30, 35-7.
5. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP et al. 1991. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991;325:1127-31.
6. Sanders MK, Peura DA. *Helicobacter pylori*-associated diseases. *Curr Gastro Reports*. 2002;4:448-54.
7. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med*. 2001;345:784-9.
8. Graham DY. I. *Helicobacter pylori*: Its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1991;6:105-13.
9. Malaty HM, Graham DY, Klein PD et al. Transmission of *Helicobacter pylori* infection. Studies in families of healthy individuals. *Scand J Gastroenterol* 1991;26:927-32.
10. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *campylobacter*. *Med J Austral* 1985;142:436-439.
11. Veralovic J, Fox JG. *Helicobacter*. In: Murray PR et al eds. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. Washington DC:ASM Press, 2003:915-28.
12. Alpert LC, Graham DY, Evans DJ Jr et al. Diagnostic possibilities for *Campylobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1989;1:17-26.
13. Barthel JS, Everett ED. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: The "gold standard" and the alternatives. *Rev Infect Dis* 1990;12:S107-14.
14. Nichols L, Sughayer M, DeGirolami PC et al. Evaluation of diagnostic methods for *Helicobacter pylori* gastritis. *Am J Clin Pathol* 1991;95:769-73.
15. Vaira D, Vakil N. Blood, urine, stool, breath, money and *Helicobacter pylori*. *Gut* 2001;48:287-9.
16. Graham DY, Klein PD, Evans DJ Jr et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. *Lancet* 1987;i:1174-7.
17. Graham DY, Malaty HM, Evans DG et al. *Epidemiology of Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 1991;100:1495-1501.
18. Talley NJ, Newell DG, Ormand JE et al. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol* 1991;29:1635-9.
19. Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. *Lancet* 1999;354:30-3.
20. Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F et al. Non invasive antigen-based assay for assessing *Helicobacter pylori* eradication: a European Multicentre Study. *Am J Gastroenterol* 2002;95:925-9.
21. Montiero L, de Mascarel A, Sarrasqueta A. et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection: Noninvasive Methods Compared to Invasive Methods and Evaluation of Two New Tests. *Am J Gastroenterol* 2001;96:353-8.
22. Malfertheiner P, Megraud F, Morain O et al. Management of *Helicobacter pylori* infection – The Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut* 2016;0:1-25, doi:10.1136/gutjnl-2016-312288.
23. Murray DM. Clinical relevance of infection by *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Newlett* 1993;15:33-7.
24. Loffeld RJLF, Stobberingh E, Van Spreeuwel JP et al. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. *J Med Microbiol* 1991;32:105-9.
25. Morris A, Nicholson G, Lloyd G et al. Seroepidemiology of *Campylobacter pyloridis*. *N. Z. Med. J.* 1986;99:657-9.
26. Fiedorek SC, Malaty HM, Evans D Letal. Factors influencing the epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in children. *Pediatrics* 1991;88:578-582.



SN11203













REV. 01/24

 <p>Manufactured By</p>	<p>Meridian Bioscience, Inc. 3471 River Hills Drive Cincinnati, OHIO - 45244 USA www.meridianbioscience.com</p> <p><u>Contacts:</u> Main Telephone (+1) 513.271.3700 Customer Service/Orders 800.543.1980 Technical Support Center 800.343.3858 Information Fax: 513.272.5432 Ordering Fax: 513.271.0124 E-mail: info@meridianbioscience.com</p>
	<p>Meridian Bioscience Europe, SRL Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese (Milano) ITALY www.meridianbioscience.com</p> <p><u>Contacts:</u> Main Telephone (+39) 0331.433636 E-mail: info@meridianbioscience.eu Technical Support: MBE-TechService@meridianbioscience.eu Customer Service/Orders:</p> <ul style="list-style-type: none"> • For Italian Customers: ordini@meridianbioscience.com • For Distributors / International Customers: Export.CustomerService@meridianbioscience.eu
<p>AUSTRALIAN SPONSOR</p>	<p>Emergo Australia Level 20, Tower II Darling Park 201 Sussex Street Sydney, NSW 2000 Australia</p>

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/package of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guia de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
CE	Meridian products carrying the European Conformity (CE) mark fulfill the requirements of Directive 98/79/EC or the Regulation 2017/746 on in-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recanti il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfanno i requisiti della Direttiva 98/79/CE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portant la marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 98/79/CE ou du Règlement 2017/746 relatifs aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian que llevan la marca de conformidad europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 98/79/CE o del Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Kennzeichnung erfüllen die Anforderungen der EU-Richtlinie 98/79/EG bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
			CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligro / WARNUNG: Risikogefahr
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Numero de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Eingrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisante per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" test / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
R_x Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No use si el paquete esta dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	TUBE	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	CH REP	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at (800) 343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at (800) 543-1980.