ImmunoCard STAT! HpSA®

REF **Katalogové číslo 750720**

IVD **Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *In Vitro***

Rychlá imunoesej pro detekci antigenů *Helicobacter pylori* ve vzorcích stolice

KATEGORIZACE CLIA: TEST NEPODLÉHAJÍCÍ POŽADAVKŮM NA VERIFIKACI (Všechny typy stolice)
STŘEDNĚ KOMPLEXNÍ (Všechny typy stolice*)*

Laboratoře používající testy nepodléhající požadavkům na verifikaci, popsané předpisy CLIA: Pokud uživatelská laboratoř provede úpravy podle instrukcí zkušebního systému, lze test hodnotit jako vysoce komplexní a podléhá pak všem příslušným požadavků CLIA.

POUŽITÍ

Imunoesej Immuno*Card* STAT! HpSA je rychlý *in vitro* test určený pro kvalitativní stanovení antigenů *Helicobacter pylori* v lidské stolici. Detekce antigenů ve stolici se používá jako pomocný prostředek při stanovení diagnózy infekce *H. pylori* a k prokázaní vymizení antigenů *H. pylori* ve stolici po léčbě. Konvenční lékařská praxe doporučuje, aby jakékoliv testování vymizení antigenů bylo provedeno nejméně čtyři týdny po skončení léčby.

SOUHRN A PRINCIP TESTU

Již od doby svého objevu Marshallem and Warrenem[2] v roce 1984 je *Helicobacter pylori* označován za jednoho z celosvětově nejčastějších a lékařsky nejvýznamnějších patogenů.[1] *Helicobacter pylori* byl bezpečně určen jako etiologické agens chronické gastritidy a peptického vředu žaludku a je spojován s MALT lymfomem (lymfom slizniční lymfatické tkáně) a adenokarcinomem žaludku.[1,3-7]

CLIA je zkratkou pro Dodatky pro zkvalitnění klinické laboratorní techniky (Clinical Laboratory Improvements Amendments), které stanovují standardy kvality pro laboratorní testy v USA. Testy, které podle kategorizace CLIA nepodléhají požadavkům na verifikaci, zahrnují jednoduché laboratorní zkoučky a postupy, které jsou povoleny Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv USA (US Food and Drug Administration) a které používají jednoduché a přesné metody, při nichž je pravděpodobnost chybného výsledku zanedbatelná nebo špatné provedení testu neznamená pro pacienta riziko poškození.

Ekologická nika *Helicobacter pylori* je v prostředí lidského organismu pravděpodobně omezena na žaludek a dvanácterník. Pacienti, které tento organismus osídlil, se dají rozdělit na dvě základní skupiny. První skupina nevykazuje žádné příznaky nebo symptomy gastrointestinální nemoci a je označována za "kolonizované". Druhá skupina vykazuje gastrointestinální příznaky a symptomy a je označována jako "infikovaná". Proces, kdy se jedinec stane kolonizovaným nebo infikovaným je stále předmětem výzkumu.[3,4,8-10] Je navrhováno mnoho možných způsobů přenosu *Helicobacter pylori* na člověka, např. ze zvířat, kontaminovanou vodou či ložisky v ústech.[11]

Diagnostické testy na přítomnost *H. pylori* mohou být invazivní (endoskopie, biopsie) nebo neinvazivní (sérologie, dechový test s močovinou, test antigenů ve stolici). Při invazivním testování je provedena biopsie z horní části gastrointestinálního traktu a získaný materiál je pak zkoumán pod mikroskopem. Tkáň je také na přítomnost *H. pylori* kultivována nebo hodnocena pomocí rychlého ureázového testu. Výhody této strategie spočívají v možnosti detekce aktivní infekce, vysoké specifitě a vysoké pozitivní prediktivní hodnotě. Nevýhody invazivního testování zahrnují riziko a diskomfort pro pacienta a kolonizace malých ploch, které mohou být při biopsii opomenuty. Kultivování materiálu získaného při biopsii je časově náročné a může vlivem technických potíží přinést falešně negativní výsledky.[3,12-15]

Dechový test s močovinou (UBT) je neinvazivní test, který detekuje vysoce aktivní ureázu *H. pylori.* Přestože je UBT vysoce citlivý a specifický test, má značný počet nevýhod. UBT je časově náročný, vyžaduje speciální testovací vybavení a podání izotopově znařené močoviny pacientovi.[3,16,17] Sérologické testy, které jsou rovněž neinvazivní a jsou založeny na detekci IgG protilátek proti *H. pylori,* jsou užitečné pro primární screening pacientů s nekomplikovanými infekcemi, třebaže nejsou schopné rozlišit, mezi prodělanou a aktivní infekcí.[6,11,18] Test na přítomnost antigenu ve stolici byl rozsáhle ověřován a je akceptován jako přesný neinvazivní test pro období před i po léčbě.[19-21] Poslední konsensuální zpráva 2 z Maastrichtu doporučuje použití testů na antigen ve stolici a UBT testu jako pomoci při diagnostice nemoci způsobené *H. pylori* během primární péče.[22]

Immuno*Card* STAT! HpSA je určena pro detekci antigenu *H. pylori* v lidské stolici.

BIOLOGICKÉ PRINCIPY

Immuno*Card* STAT! HpSA je rychlá laterální průtoková imunoesej, která využívá monoklonální protilátky proti *H. pylori* jako zachycovací a detekční protilátky. Naředěné vzorky pacientovy stolice jsou napipetovány do otvoru pro vzorek na testovací kazetě. Pokud se po pěti minutách inkubace při

pokojové teplotě v hodnotícím políčku v blízkosti písmena T objeví růžovo-červená linie, je výsledek testu pozitivní.

REAGENCIE

1. **Tester Immuno*Card* STAT!:** Chromatografický proužek umístěný v plastové kazetě a zabalený v sáčku s desikantem. Proužek na sobě nese monoklonální zachycovací protilátky proti *H. pylori* pro vlastní test a zvířecí protein jako kontrolu. Proužek také obsahuje červeným latexem značenou anti-*H. pylori* a modrým latexem značenou anti-protein detekční protilátku pro test, respektive pro kontrolu. Pokud tester nepoužíváte, skladujte jej při teplotě 2-8°C. Nezamrazujte.
2. **Ředící roztok:** Pufrovaný solný roztok obsahující azid sodný (0,095%) jako konzervační prostředek. Roztok je dodáván v lahvičce s červeným uzávěrem a aplikátorem. Pokud rozotok nepoužíváte, skladujte jej při teplotě 2-8°C.
3. **Pozitivní kontrola**: Suspenze inaktivovaného *H. pylori* v solném roztoku s vyváženým pH obsahující azid sodný (0,095%) jako konzervační prostředek. Reagencie je připravena k použití v lahvičce s kapátkem. Pokud roztok nepoužíváte, skladujte jej při teplotě 2-8°C.

DODÁVANÝ MATERIÁL

1. Testery Immuno*Card* STAT! HpSA, jednotlivé sáčky s desikantem
2. Ředící roztok v plastových lahvičkách s kapátkem. Připraveno k použití.
3. Pozitivní kontrola v plastových lahvičkách s kapátkem. Připraveno k použití.
4. 100 µL pipety pro přenos vzorku

Na vnější straně krabice kitu je uveden maximální počet testů, které lze z dané sady provést.

NEDODÁVANÝ MATERIÁL

1. Jednorázové latexové rukavice, které by měly být použity při manipulaci se vzorky stolice vzhledem k tomu, že se jedná o potenciálně nebezpečný materiál.
2. Vortex pro resuspendování vzorku stolice v ředícím roztoku (volitelné)
3. Minutky
4. VOLITELNÉ: Meridian Bioscience Simple Sample (kód produktu 751720), zástupná ředící lahvička na vzorky stolice. Obsahuje ředící roztok, pufrovaný solný roztok s obsahem azidu sodného (0,095%) jako konzervačního prostředku. Skladujte při teplotách 2-25°C. Prodává se samostatně.

UPOZORNĚNÍ

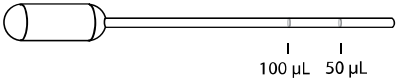
1. **Všechny reagencie jsou určeny pouze pro použití *in vitro*.**
2. **Pacientova stolice může obsahovat infekční agens, a proto je nutné s ní nakládat jako s potenciálně biologicky nebezpečnou.**

3. **Nezaměňujte reagencie s reagenciemi z kitů s jiným číslem šarže. Nepoužívejte součásti kitu po uplynutí doby expirace.**
4. **Nechte součásti kitu a vzorek před vlastním testem dosáhnout pokojové teploty (20-26°C), protože chladné reagencie a/nebo vzorky mohou snížit citlivost eseje. Reagencie doporučujeme po vyjmutí z lednice nechat temperovat 20-30 minut.**
5. **Vzorky stolice (bez ohledu na konzistenci) musí být před odebráním vzorku k testování důkladně promíchány, aby byla zajištěna reprezentativnost vzorku.**
6. **Před vyjmutím ze sáčku tester důkladně prozkoumejte. Tester nepoužívejte v případě, že v sáčku byla díra nebo nebyl zcela uzavřen. Díky nesprávnému skladování testeru může dojít k falešně negativní reakci.**
7. **Nepoužívejte ředící roztok nebo pozitivní kontrolu, pokud jsou zakalené. Zakalení může být známkou mikrobiální kontaminace.**
8. **S pozitivní kontrolou je třeba zacházet jako s potenciálně infekčním materiálem, přestože obsahuje *H. pylori* v inaktivované formě.**
9. **Při odkapávání držte lahvičky s reagenciemi svisle, aby měly kapky jednotnou velikost a dopadly na místo určení.**
10. **Neodchylujte se od předepsaného postupu, neboť pak můžete dospět k falešně pozitivním či falešně negativním výsledkům.**
11. **Před vlastním provedením testu je nutné si důkladně přečíst instrukce.**
12. **Nepoužívejte tester, pokud byl sáček s ním před použitím proděravěný.**
13. **V některých případech mohou průtoku vzorku bránit pevné částice. Pokud tester snadno neabsorbuje naředěný vzorek, jemně se tyčinkou dotkněte spodní části otvoru pro vzorek a pohněte s pevnými částicemi stolice, které mohou absorbci bránit. Případně můžete odebrat z ředícího roztoku novou část vzorku a znovu jej otestovat.**

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

POZNÁMKA: Pro testování nepodléhající požadavkům na verifikaci podle CLIA jsou schváleny jako vzorky tuhé nebo formované, polotuhé i tekuté stolice. **NEPOUŽÍVEJTE stolici v transportních médiích, na tamponech nebo s přidanými konzervačními prostředky.** Vzorek by měl být transportován ve vzduchotěsné nádobě a až do provedení testu uchováván při teplotě 2-8 °C. Testování by mělo být provedeno co nejdříve, vzorek ale lze uchovat až 72 hodin při teplotě 2-8 °C. Pokud nemůže být test do této doby proveden, je třeba vzorek ihned po přijetí zmrazit (≤ -20 °C) a skladovat jej zmrazený (≤ -20 °C) až do doby, kde bude otestován. Vzorek může být zamražen a rozmražen dvakrát. Před testováním vzorek (bez ohledu na konzistenci) důkladně promíchejte.

1. **Tekutá nebo polotekutá stolice** – Odšroubujte uzávěr z lahvičky s ředícím roztokem (červený uzávěr). Pomocí čisté kalibrované pipety (dodávaná v kitu) naberte promíchaný vzorek k druhé rysce na špičce pipety (100 µl). Přeneste vzorek do lahvičky s ředícím roztokem. Stejnou pipetou naředěný vzorek důkladně, ale jemně promíchejte nasátím a vypuštěním vzorku do lahvičky třikrát po sobě. Uzavřete lahvičku a jemně, ale důkladně krouživým pohybem promíchejte její obsah po dobu 15 sekund. Případně k promíchání použijte vortex (15 sekund). **POZNÁMKA: Při pipetování polotuhé stolice postupujte zvláště opatrně. Pokud přidáte méně než 100 µl stolice, může být výsledek testu falešně negativní. Pokud přidáte více než 100 µl stolice, může být výsledek vlivem omezeného průtoku vzorku neplatný.**



100 µL pipeta

2. **Formovaná/pevná stolice** – Odšroubujte uzávěr z lahvičky s ředícím roztokem (červený uzávěr). Použijte bílý plastový aplikátor z červeného uzávěru lahvičky a naberte malou část stolice (průměr 5-6 mm). Přeneste vzorek do lahvičky s ředícím roztokem. Uzavřete lahvičku a jemně, ale důkladně krouživým pohybem promíchejte její obsah po dobu 15 sekund. Případně k promíchání použijte vortex (15 sekund). K přenesení pevné stolice do ředícího roztoku lze použít také dřevěné špachtle či špejle. **POZNÁMKA: Pokud je přidán příliš malý vzorek stolice, není dobře promíchán či důkladně rozmělněn v ředícím roztoku, může být výsledek testu falešně negativní. Dbejte na to, aby jste odebrali uvedené množství stolice, ne více a ne méně. Pokud přidáte více než 100 µl stolice, může být výsledek vlivem omezeného průtoku vzorku neplatný.**

POZNÁMKA: Pokud používáte k ředění vzorku zástupnou lahvičku Simple Sample, přečtěte si příbalovou informaci k tomuto produktu.

POSTUP (POSTUP NEPODLÉHAJÍCÍ POŽADAVKŮM NA VERIFIKACI PODLE CLIA)

A. Test

1. Před vlastním testováním nechte všechny testery, reagencie a vzorky dosáhnout pokojové teploty (20-26 °C).
2. Pro vzorek jednoho pacienta použijte jeden tester Immuno*Card* STAT!.
3. Vyjměte tester Immuno*Card* STAT! ze sáčku. Na testeru je vyznačeno, kde se objeví kontrolní a testovací linie. Kruhové okénko označené šipkou je testovací políčko, kam je třeba přidat vzorek.

4. Označte tester jménem pacienta. Připravte vzorek podle instrukcí uvedených v kapitole ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU.
5. Lahvičku se vzorkem držte svisle a před dalším postupem jemně klepněte dnem o desku stolu.
6. Zakryjte horní část lahvičky se vzorkem filtračním papírem jako prevenci proti vystříknutí.
7. Odlomte červenou špičku na vnější straně červeného uzávěru. (Neodlamujte bílou tyčinku na vnitřní straně uzávěru).
8. Držte lahvičku dnem vzhůru a nakapejte 4 kapky naředěného vzorku do kruhového okénka (s šipkou) na testeru. Vrcholem lahvičky se nedotýkejte testeru.
9. Nastavte si časomíru a inkubujte test 5 minut při 20-26 °C.
10. Po uplynutí 5 minut odečtěte v průběhu 1 minuty výsledek testu. V kapitole INTERPRETACE VÝSLEDKŮ jsou popsány pozitivní i negativní výsledky.

B. Alternativní postup s použitím Simple Sample

1. Před testováním nechte testery a lahvičky roztoku Simple Sample dosáhnout pokojové teploty (20-26 °C).
2. Pro vzorek jednoho pacienta použijte jeden tester ImmunoCard STAT!.
3. Vyjměte tester ImmunoCard STAT! ze sáčku. Na testeru je vyznačeno, kde se objeví testovací a kontrolní linie. Kruhové okénko označené šipkou je testovací políčko, kam je třeba přidat vzorek.
4. Označte tester jménem pacienta. Připravte vzorek podle instrukcí uvedených v příbalové informaci Simple Sample.
5. Vzorek promíchejte několikerým převrácením lahvičky Simple Sample. Odstraňte průhledný šroubovací uzávěr z vrcholu Simple Sample.
6. Držte lahvičku Simple Sample dnem vzhůru a nakapejte 4 kapky naředěného vzorku do kruhového okénka (s šipkou) na testeru. Vrcholem lahvičky se nedotýkejte testeru.
7. Nastavte si časomíru a inkubujte test 5 minut při 20-26 °C.
8. Po uplynutí 5 minut odečtěte v průběhu 1 minuty výsledek testu. V kapitole INTERPRETACE VÝSLEDKŮ jsou popsány pozitivní i negativní výsledky.

C. Kontroly

Pozitivní a negativní kontrola je určena k potvrzení, že jsou všechny reagencie reaktivní, specifické a schopné produkovat očekávané výsledky.

1. Před testováním nechte všechny reagencie dosáhnout pokojové teploty (20-26 °C).
2. Pro pozitivní a negativní kontrolu použijte pro každou jeden tester ImmunoCard STAT! Označte oba testery názvem příslušné kontroly.
3. Lahvičky reagencií převraťte dnem vzhůru.
4. Nakapejte 4 kapky z lahvičky pozitivní kontroly do kruhového okénka (s šipkou) na prvním testeru. Vrcholek lahvičky se nesmí dotknout otvoru pro vzorek.

5. Odlomte červenou špičku na vnější straně červeného uzávěru nepoužitého ředícího roztoku.
6. Nakapejte 4 kapky z lahvičky ředícího roztoku do kruhového okénka (s šipkou) na druhém testeru.
7. Nastavte si časomíru a inkubujte testy 5 minut při 20-26 °C.
8. Po uplynutí 5 minut odečtěte v průběhu 1 minuty výsledek testu.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Negativní výsledek testu: Na testeru se objeví pouze MODRÝ proužek (kontrola) napříč okénkem ve střední části testeru u písmene "C". (Antigeny *H. pylori* nejsou ve vzorku přítomny nebo jsou přítomny v nedetekovatelné koncentraci. Žádné další proužky nejsou vidět. Pozadí by nemělo narušovat čitelnost testu.

Pozitivní výsledek testu: Na testeru se napříč okénkem ve střední části kromě MODRÉHO proužku (kontrola) objeví i dobře rozeznatelný RŮŽOVOČERVENÝ proužek u písmene "T" (test). Intenzita proužku se liší podle koncentrace antigenu ve vzorku. Jakoukoli intenzitu růžovočerveného proužku, dokonce i velmi slabou, je nutno považovat za pozitivní výsledek. (Pozitivní test signalizuje přítomnost antigenů *H. pylori* ve vzorku.) Pozadí by nemělo narušovat čitelnost testu.

Neplatný test:

1. MODRÝ proužek (kontrola) chybí, RŮŽOVOČERVENÝ proužek (test) může a nemusí být přítomen.
2. RŮŽOVOČERVENÝ se v okénku u písmene "T" objeví po 6 minutách nebo je v této pozici proužek jiné barvy než růžovočervené.
3. U písmene "C" se neobjeví žádný proužek. (Test je neplatný, protože posun nebo nepřítomnost kontrolní linie naznačuje, že bylo testování provedeno nesprávně nebo že došlo k degradaci reagencií). **Pokud je obtížně test interpretovat, měl by být opakován se stejným vzorkem, aby se eliminovala možnost pochybení. V případě, že výsledky původního vzorku jsou opakovaně nečitelné, je třeba získat nový vzorek a znovu jej otestovat.**

KONTROLA KVALITY

Reaktivita testerů Immuno*Card* STAT! By měla být ověřena ihned po dodání pomocí reagencií pro externí pozitivní a negativní kontrolu, které jsou obsaženy v kitu. Počet dalších testů prováděných s externími kontrolami má být určen podle požadavků místních a státních předpisů nebo akreditačních agentur.

Internmí kontroly: Interní kontroly jsou obsaženy uvnitř testeru a jsou vyhodnocovány při každém testu.

1. Jako pozitivní kontrola slouží barevný proužek v kontrolní linii, který signalizuje, že test byl proveden správně, že byl přidán vzorek, že jeho průtok byl v pořádku a při testování byly reagencie reaktivní.

2. Jako negativní kontrola slouží čisté pozadí kolem kontrolní a testovací linie. Pozadí, které znesnadňuje čtení výsledku, činí test neplatným a je známkou degradace chemikálií, použití nevhodného vzorku nebo špatného provedení testu.

Externní kontroly: Pro laboratoře, které provádějí testy nepodléhající požadavkům na verifikaci podle CLIA, musí být reaktivita testerů Immuno*Card* STAT! HpSA ověřena vždy při otevření nového kitu pomocí reagencií pro externí pozitivní a negativní kontroly, které jsou dodávány v kitu. Každý uživatel musí testovat pozitivní a negativní kontrolu nejméně jednou u každého kitu s 20 testy.

Počet přídavných testů externích kontrol pro laboratoře provádějící testy podléhající požadavkům na verifikaci podle CLIA je určen požadavky místních a státních předpisů nebo akreditačních agentur. Očekávané výsledky kontrol jsou popsány v kapitole INTERPRETACE VÝSLEDKŮ. Testery by neměly být používány, pokud kontrolní testy neposkytují správné výsledky. Pokud nejsou dosaženy očekávané výsledky, znamená to, že jsou testery vadné nebo že test nebyl proveden správně. Při hledání příčiny nejprve opakujte kontrolní test. Pozitivní a negativní kontrolní reagencie jsou vyráběny v prostředí vodného roztoku. Přestože vliv prostředí vzorku nebyl v případě této eseje zaznamenán, vodné prostředí kontrol nemusí mít náležitou kontrolu nad účinky prostředí vzorků. Směrnice Národní komise pro klinické laboratorní normy (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) doporučuje, že by měly být užívány materiály prostředí kontrol, pokud jsou dostupné.[27] Pokud chce uživatel směrnici vyhovět, musí poskytnout materiály pro prostředí kontrol.

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Epidemiologické studie *H. pylori* ukazují, že tento patogen je celosvětově rozšířen.[18,23,24] Gastritida způsobená *H. pylori* vykazuje úzkou korelaci s věkem, etnickou příslušností, velikostí rodiny a socioekonomickou třídou.[25,26] Prevalence infekce *H. pylori* v dané populaci se pohybuje od 20 do 90%. U pacientů s duodenálními vředy se však u všech věkových skupin pohybuje kolem 80%.[18] V současné době doporučovaná eradikační léčba je úspěšná ze 75 až 90%.

Testy Immuno*Card* STAT! HpSA zjišťují přítomnost antigenů *H. pylori* v lidské stolici. Každá laboratoř by si měla určit předpokládané hodnoty pro danou populaci. Míra pozitivity se může lišit v závislosti na geografické pozici, způsobu odběru vzorku, zacházení a transportu, použitém testu a celkovém zdravotním prostředí populace studovaných pacientů.

LIMITATICE TESTU

1. Test je pouze kvalitativní a při jeho hodnocení nemá docházet k žádným kvantitativním výkladům intenzity pozitivní linie.
2. Výsledek testu by měl být posuzován ve spojení s dalšími informacemi o pacientově klinickém obrazu a dalších diagnostických procedurách.
3. O antimikrobiálních látkách, inhibitorech protonové pumpy a přípravcích obsahující bismut je známo, že potlačují *H. pylori*. Proto jejich požití před vyšetřením (kultivací, histologií, rychlým ureázovým testem, UBT, stanovením antigenu) může vést k falešné negativnímu výsledku. Jestliže pacient užíval tyto preparáty během 2 týdnů před vyšetřením ImmunoCard STAT!, může být výsledek falešně negativní.
   V takovém případě by měl být test opakován s novým vzorkem odebraným za 2 týdny po skončení léčby. Pozitivní výsledek u pacienta, který tyto látky užíval během dvou týdnů předcházejících testování testem Immuno*Card* STAT! HpSA, je možno považovat za správný.
4. Pokud do ředícího roztoku nepřidáte dostatečné množství stolice, může být test falešně negativní. Přidáním příliš velkého mnořství stolice může naopak vzhledem ke snížení průtoku vzorku na testu vést k neplatnému výsledku.
5. Překročení inkubační doby může vést k falešně pozitivnímu výsledku. Inkubace testu při nižší než doporučené teplotě a kratší dobu může vést k falešně negativnímu výsledku.
6. Test není uzpůsoben pro vodnatou průjmovou stolici. Vodnatá stolice, složená převážně z tekutiny s malým množstvím nebo žádnými pevnými částicemi, může poskytovat falešně negativní výsledky.
7. **Pokud uživatelská laboratoř provede úpravy podle instrukcí zkušebního systému, lze test hodnotit jako vysoce komplexní a podléhá pak všem příslušným požadavků CLIA.**

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI

Srovnávací studie: Čtyři nezávislé laboratoře paralelně testovaly vzorky pomocí Immuno*Card* STAT! HpSA a referenční in vitro diagnostické metody ELISA, Premier Platinum HpSA (Meridian Bioscience, Inc, Cincinnati, USA). Vzorky, jejichž výsledky z obou esejí byly v rozporu, byly odeslány do referenční laboratoře. Výsledky paralelních testů jsou uvedeny níže. Opravené výsledky jsou vypočteny podle hodnocení sporných vzorků referenční laboratoří.

	Prvotní výsledky	Opravené výsledky
Celkový počet vzorků	457	457
Souhlasné výsledky testu	433	436
Pozitivní vzorky	102	105
Negativní vzorky	331	331
Sporné výsledky testu	21	20
Premier +, ImmunoCard -	6	6
Premier -, ImmunoCard +	15	14
Neurčité výsledky testu	3	1
Premier neprůkazný, ImmunoCard +	2	1
Premier neprůkazný, ImmunoCard -	1	0
% korelace	95%	-

Klinické studie: Byly odebrány vzorky stolice od 227 pacientů s dlouhodobými zažívacími potížemi, kteří neužívali kyselinosupresivní terapii nebo antibiotika a kteří podstoupili endoskopii, a otestovány Immuno*Card* STAT! HpSA. Vzorky biopsie byly zkoumány histologicky, rychlým ureázový testem a kultivovány. Pacienti, jejichž histologie a ureázové testy vyšly pozitivně nebo jejichž kultivace byla pozitivní, byli označeni jako infikovaní *H. pylori*. Osmdesát pět z 227 pacientů bylo shledáno *H. pylori* pozitivních. Výsledky jsou shrnuty v tabulce níže.

Diagnostická přesnost Immuno*Card* STAT! HpSA.

	Přítomnost *H. pylori* zjištěná endoskopicky/biopsií/zlatým standardem		
	Skutečně pozitivní	Skutečně negativní	Celkem
IC STAT! HpSA +	77	12	89
IC STAT! HpSA -	8	130	138
Celkem	85	142	227
Předpokládaná klinická citlivost (95% IS)	90.6% (84.9 až 97.1%)		
Předpokládaná klinická specifita (95% IS)	91.5% (87.5 až 96.5%)		
Předpokládaná hodnota, pozitivní test (95% IS)	86.5% (79.9 až 94.1%)		
Předpokládaná hodnota, negativní test (95% IS)	94.2% (90.1 až 97.9%)		
Korelace (IS 95%)	91.2% (87.3 až 94.7%)		

Korelace výsledků testu Immuno*Card* STAT! HpSA s eradikační léčbou

	Přítomnost *H. pylori* zjištěná endoskopicky/biopsií/zlatým standardem		
	Skutečně pozitivní	Skutečně negativní	Celkem
IC STAT! HpSA +	21	0	21
IC STAT! HpSA -	1	63	64
Celkem	22	63	85
Předpokládaná klinická citlivost (95% IS)	95.4% (86.0 až 100%)		
Předpokládaná klinická specifita (95% IS)	100%		
Předpokládaná hodnota, pozitivní test (95% IS)	100%		
Předpokládaná hodnota, negativní test (95% IS)	98.4% (94.5 až 100%)		
Korelace (IS 95%)	98.8% (96.8 až 100%)		

ANALYTICKÁ CITLIVOST

Spodní hranice detece této eseje činí 64 ng/mL u testů se sonikovaným antigenem připravenými z kmenu TV1970 *H. pylori*. Tato hranice je stejná při formované (tuhé) stolici i polotuhé stolici.

REPRODUKOVATELNOST

Reprodukovatelnost Immuno*Card* STAT! HpSA byla hodnocena se známým počtem negativních (n=5) a pozitivních (n=5) vzorků, které byly označeny kódem a náhodně roztříděny, aby nedošlo k prozrazení jejich identity. Dva z pěti pozitivních vzorků byly blízko hraniční hodnotě pro detekci. Reprodukovatelnost eseje byla testována ve třech po sobě jdoucích dnech třemi nezávislými místy. Vzorky dávaly předpokládaný výsledek ve 100 %.

SPECIFITA ESEJE

Specifita Immuno*Card* STAT! HpSA byla testována s použitím následujících bakteriálních, virových a kvasinkových kmenů. K pozitivním a negativním vzorkům stolice bylo přidáno ≥ 1 x 10^8 bakterií nebo kvasinek. Přítomnost žádného z těchto mikroorganismů nevedla k pozitivnímu výsledku u negativní stolice nebo neinterferovala při detekci pozitivní stolice. Negativní i pozitivní stolice byla po přidání *Helicobacter pylori* kmene 43504 vyhodnocena jako pozitivní.

Adenovirus Typ 2, Adenovirus Typ 40, Coxsackie Typ B1, Coxsackie Typ B6, Echovirus Typ 22, Feline calicivirus, Rotavirus, *Borrelia burgdorferi, Aeromonas hydrophila, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Clostridium perfringens, Clostridium difficile* (2), *Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis* (2), *E. coli* (2), *E. coli* O157:H7 (2), *E. fergusonii, Helicobacter felis, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella dublin, Salmonella* (Skupina B), *Salmonella hilversum, Salmonella minnesota, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowan I), *Staphylococcus*

epidermidis, Serratia liquefaciens, Shigella boydii, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Yersinia enterocolitica

TEST INTERFERUJÍCÍCH LÁTEK

Bylo zjištěno, že následující látky nemají vliv na výsledky, pokud jsou ve stolici přítomny v uvedených koncentracích:

Tums® Antacid (5 mg/mL), Tagamet® (5 mg/mL), Prilosec® (5 mg/mL), Mylanta® Antacid (1:20), Pepto-Bismol® (1:20), síran barnatý (5%), plná krev (50%), leukocyty (50%), mucin (3.4%), kyselina stearová/kyselina palmitová (fekální tuk) (4%), hemoglobin (dehtovitá stolice) (12,5%)

STUDIE UŽIVATELSKÉ PŘESNOSTI

V roce 2003 společnost Meridian provedla testování uživatelské přesnosti při hodnocení Immuno*Card* STAT! HpSA podle doporučené metody pro kvalitativní testy popsané v FDA *Draft Guidance for Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Criteria for Waiver*, 2001. Celkový počet 302 nezkušených uživatelů se zúčastnil testování na čtyřech zkušebních místech. Účastníci hodnotili panely složené ze silně negativních, slabě negativních, silně pozitivních a slabě pozitivních vzorků. U slabě pozitivních a slabě negativních vzorků se předpokládal podíl nesprávných výsledků 15-20%. Zkušený laboratorní personál produkoval očekávané výsledky pro všechny typy vzorků. V případě neškolených uživatelů byly testy hodnoceny jako neplatné u 4% slabě negativních, 2% silně negativních a 3% slabě pozitivních. Žádný silně pozitivní test nebyl nezkušenými uživateli hodnocen jako neplatný. U zkušených uživatelů nebyl žádný z testů vyhodnocen jako neplatný. Tabulka níže zobrazuje data získaná nezkušenými a zkušenými uživateli a spočítané intervaly spolehlivosti pro všechny typy vzorku.

Typ vzorku	Účastník	Silně negativní -- % negativních (95% IS)	Slabě negativní -- % negativních (95% IS)	Slabě pozitivní -- % pozitivních (95% IS)	Silně pozitivní -- % pozitivních (95% IS)	% Neplatný
Negativní	Nezkušený uživatel	51/51 (100%) IS =93.0-100%	95/96 (99%) IS =94.3-100%	-	-	3.3% (5/152)
	Zkušený uživatel	52/52 (100%) IS = 93.2-100%	100/100 (100%) IS =96.4-100%	-	-	0% (0/152)
Pozitivní	Nezkušený uživatel	-	-	83/94 (88.3%) IS = 80.0-94.0%	44/51 (86.3%) IS = 73.7-94.3%	2.0% (3/149)
	Zkušený uživatel	-	-	97/97 (100%) IS = 96.3-100%	52/52 (100%) IS = 93.2-100%	0% (0/149)

Použitá literatura

1. Versalovic J. *Helicobacter pylori*. Pathology and diagnostic strategies. Am J Clin Pathol 2003;119:403-12.
2. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984;i: 1311-1314.
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, McGechie 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 Gastrenterol 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. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection – The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther 2002; 16:167-80.
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 DL et al. Factors influencing the epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in children. Pediatrics 1991; 88: 578-582.
27. National Committee on Clinical Laboratory Standards. C24-A. Internal quality control. Principles and definitions. Approved Guideline. Villanova PA: NCCLS, 1991.

CE

Rev. 02/08

Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
USA/Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244
Telephone: (513) 271-3700
Orders/Customer Service:
(800) 543-1980
Technical Support Center:
(800) 343-3858
Information Fax:(513) 272-5432
Ordering Fax:(513) 271-0124

EC REP

Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe
Via dell' Industria, 7
20020 Villa Cortese (MI)
Italy
Tel.: +39 0331 433636
Fax: +39 0331 433616
e-mail: info@mdeur.com

Meridian Bioscience Europe France
Le Quadra
455, Promenade des Anglais
06299 Nice Cedex-3
France
Tel: +33 (4) 93 18 72 10
Fax: +33 (4) 93 18 72 11
e-mail: info@meridianbioscience.fr

Meridian Bioscience Europe s.a. / n.v.
Rue de l'Industrie 7
1400 Nivelles
Belgium
Tel.: +32 (0) 67 89 59 59
Fax: +32 (0) 67 89 59 58
e-mail: info@mdeur.be

Meridian Bioscience Europe b.v.
Halderheiweg 6
5282 SN Boxtel
The Netherlands
Tel.: +31 (411) 621166
Fax: +31 (411) 624841
e-mail: meridian.info@planet.nl

POUŽITÍ MEZINÁRODNÉCH SYMBOLŮ

Na označení/obal výrobku se můžete setkat s některými z následujících symbolů:

Klíč k symbolům

	Použijte do
LOT	Číslo šarže
IVD	Zdravotnický prostředek pro in vitro diagnostiku
CE	Tento produkt splňuje požadavky směrnice 98/79/EC na zdravotnické prostředky pro in vitro diagnostiku
REF	Katalogové číslo
	Čtěte návod k použití
	Výrobce
Σ	Obsah postačí na 'n' testů
	Teplotní omezení
BUF	Pufr

SUBS	Substrát
SOLN STOP	Roztok k zastavení reakce
CONJ ENZ	Konjugační enzym
BUF WASH 20X	Promývací pufr 20x koncentrovaný
CONTROL +	Pozitivní kontrola
CONTROL -	Negativní kontrola
DIL SPE	Rozpouštědlo pro vzorek
EC REP	Autorizovaný zástupce pro Evropské společenství
	Nezamrazovat
REAG	Reagencie
BUF WASH	Promývací pufr

Pro technickou podporu volejte mezi 8:00-18:00 EST Oddělení technické podpory, telefonní číslo (800) 343-3858. Pro zadání objednávky kontaktujte Oddělení zákaznického servisu na telefonním čísle (800) 543-1980.