

RIDASCREEN[®] Helicobacter

REF C2302



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® Helicobacter es un inmunoensayo enzimático para la detección cualitativa del antígeno específico de *Helicobacter pylori* en muestras de heces humanas.

2. Resumen y descripción del ensayo

En 1984, Marshall y Warren pudieron detectar la presencia de un microorganismo similar a *Campylobacter* en la mucosa del antro y cuerpo gástricos en pacientes con gastritis confirmada por histología y úlceras pépticas en el duodeno. En la actualidad se sabe que *Helicobacter pylori* está implicado causalmente en la aparición de enfermedades gastrointestinales. Las infecciones por *H. pylori* dan lugar a inflamaciones que tienen una relación causal con la gastritis crónica, las úlceras gástricas, las úlceras del intestino delgado y los cánceres gástricos. Esta premisa se confirma por la curación de la gastritis y las úlceras, que suele ser exitosa tras un tratamiento de erradicación. *H. pylori* ha desarrollado varios mecanismos de defensa para sobrevivir en el ambiente ácido y bactericida del estómago. La enzima ureasa convierte la urea en amoníaco y dióxido de carbono, y de esa manera neutraliza los ácidos gástricos. La producción de catalasa y superóxido dismutasa protege a *H. pylori* del ataque de los neutrófilos. Muchos pacientes positivos para *H. pylori* desarrollan gastritis y alrededor del 10 % de los pacientes desarrolla úlceras. De los pacientes con úlceras del intestino delgado o del estómago, el 90 % son positivos para *H. pylori*, independientemente de la edad. Existen dos métodos básicos para diagnosticar las infecciones por *H. pylori*: la detección directa del microorganismo y la determinación indirecta mediante la detección de los anticuerpos que producen los pacientes en respuesta a *H. pylori*. Entre los métodos directos, aunque invasivos, para detectar una infección, se incluyen la prueba rápida de ureasa, histología, PCR y el cultivo del microorganismo a partir de material de biopsia. El cultivo de *H. pylori* a partir de material de biopsia es un proceso difícil y tedioso. Las dificultades técnicas pueden dar lugar a resultados negativos falsos, lo que significa que la sensibilidad es baja. Además, *H. pylori* tiende a colonizar la mucosa gástrica en un patrón de islas, motivo por el cual la sensibilidad de histología aumenta al incrementar la cantidad de biopsias obtenidas. Otro método de detección directa de *H. pylori* es la prueba del aliento con urea. Esta prueba detecta el dióxido de carbón producido por la ureasa bacteriana. La prueba del aliento tiene alta sensibilidad y especificidad, pero se requieren dispositivos de prueba especiales y que los pacientes ingieran urea marcada con isótopos. No obstante, cuando se usan estos métodos, la presencia de factores de interferencia ejerce una gran influencia en la exactitud de las pruebas dependientes de la ureasa (prueba rápida de ureasa y prueba del aliento con urea). Una herramienta de detección usada con frecuencia es la determinación serológica de anticuerpos específicos contra *H. pylori*. Este es un método de detección indirecta que detecta anticuerpos producidos por el paciente en respuesta a *H. pylori*. La prueba para monitorear el éxito del tratamiento de

erradicación por métodos serológicos es sencillamente insuficiente, ya que el título de anticuerpos disminuye lentamente a lo largo de varios meses.

RIDASCREEN® *Helicobacter* es un inmunoensayo enzimático en formato de placa de microtitulación para la detección directa y no invasiva de antígenos de *H. pylori* en heces humanas. La prueba se basa en anticuerpos monoclonales, lo que evita las fluctuaciones entre lotes individuales. La detección directa de antígenos se puede usar para respaldar la formulación de un diagnóstico inicial, así como para verificar el éxito terapéutico cuatro a seis semanas después de que termine el tratamiento de erradicación o detectar la reincidencia de una infección.

3. Principio del ensayo

La prueba de RIDASCREEN® *Helicobacter* utiliza anticuerpos monoclonales con el método tipo sandwich. La superficie de los pocillos de la placa de microtitulación está recubierta de anticuerpos monoclonales contra antígenos específicos de *H. pylori*.

Se utiliza una pipeta para colocar una suspensión de la muestras de heces que se desea examinar, así como los controles, en el pocillo de la placa de microtitulación junto con anticuerpos biotinilados anti-*Helicobacter* (Conjugado 1) para su incubación a temperatura ambiente (20 °C - 25 °C). Después de una fase de lavado, se agrega conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina (Conjugado 2) y se incuba nuevamente a una temperatura ambiente (20 °C - 25 °C). En presencia de los antígenos específicos de *H. pylori* en la muestra, se forma un complejo sándwich de anticuerpos inmobilizados, antígenos y anticuerpos conjugados. En otro paso de lavado se elimina el conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina no unido. En las muestras positivas, la adición de un sustrato hace que la enzima unida cambie de color, y la solución pasa de incolora a azul. La adición de un reactivo de parada hace que la coloración cambie de azul a amarillo. La extinción es proporcional a la concentración de antígenos específicos de *H. pylori* presentes en la muestra.

4. Reactivos suministrados

Los reactivos del kit son suficientes para 96 determinaciones.

Plate	96 determinaciones	Placa de microtitulación, 12 tiras de micropocillos (desprendibles) en el portatiras; recubiertos con los anticuerpos monoclonales (de ratón) contra antígenos específicos de <i>H. pylori</i> .
Diluent 1	100 ml	Solución amortiguadora 1 para dilución de la muestra, solución salina amortiguada con proteína, lista para usar, color azul
Wash buffer	100 ml	Solución amortiguadora de lavado, solución salina amortiguada con fosfato (concentración 10x); contiene timerosal 0.1 %
Control +	2 ml	Control positivo; antígeno de <i>H. pylori</i> inactivado; listo para usar; color rojo-rosa
Control -	2 ml	Control negativo; control negativo (solución amortiguadora 1 para dilución de la muestra); listo para usar.
Conjugate 1	13 ml	Anticuerpos conjugados con biotina (ratón), contra antígenos específicos de <i>H. pylori</i> ; listo para usar; color verde.
Conjugate 2	13 ml	Conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina en solución proteica estabilizada, listo para usar; color naranja
Substrate	13 ml	Peróxido de hidrógeno/TMB; listo para usar
Stop	12 ml	Reactivo de parada, ácido sulfúrico 1 N; listo para usar

Las sustancias peligrosas se indican de acuerdo a las obligaciones de etiquetado. Para obtener más información, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

5. Instrucciones de almacenamiento

Todos los reactivos deben almacenarse a 2 °C - 8 °C y pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Si se almacena a 2 °C - 8 °C, la solución

amortiguadora para lavado diluida puede utilizarse como máximo durante 4 semanas. Evite la contaminación microbiana. Una vez alcanzada la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida.

Abra la bolsa de aluminio con tijeras sin que se separe el precinto de seguridad. Regrese las tiras de microtitulación que no se necesiten a la bolsa de aluminio y almacénelas inmediatamente a 2 °C - 8 °C.

El sustrato incoloro debe protegerse de la luz directa para evitar la descomposición o el viraje a color azul por efecto de la autooxidación. No utilice el sustrato si ha virado a color azul.

6. Reactivos necesarios no suministrados

6.1 Reactivos necesarios

Los reactivos a continuación son necesarios para realizar la prueba RIDASCREEN® Helicobacter:

Reactivos
Agua destilada o desionizada

6.2 Equipo de laboratorio necesario

Los siguientes reactivos son necesarios para realizar la prueba RIDASCREEN® Helicobacter.

Equipo
Viales de muestras
Pipetas desechables (ref. Z0001)
Mezclador vórtex (opcional, consulte 9.3.)
Micropipetas de 50 - 100 µl y de 1 ml
Probeta graduada
Cronómetro
Dispositivo de lavado de placas de microtitulación (Ref. Z50TS8V o Z800TS) o pipeta multicanal (300 µl).
Fotómetro para placas de microtitulación (450 nm, filtro de referencia de 620 - 650 nm)
Papel filtro (toallas desechables)
Recipiente para residuos de laboratorio con solución de hipoclorito al 0.5 %

7. Advertencias y precauciones para los usuarios

Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.

Esta prueba solo debe llevarla a cabo personal de laboratorio capacitado. Deben respetarse las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Siga siempre al pie de la letra las instrucciones de uso al llevar a cabo esta prueba. No pipetee muestras ni reactivos con la boca. Evite el contacto con heridas de la piel y membranas mucosas. Use equipo de protección personal (guantes adecuados, bata, gafas de protección) al manipular las muestras y lávese las manos después de finalizar la prueba. No fume, coma ni beba en las zonas donde se procesen las muestras.

Las sustancias peligrosas se indican de acuerdo a las obligaciones de etiquetado. Para obtener más información, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

El kit incluye un control positivo que contiene el antígeno específico de *H. pylori* recombinante. Debe tratarse como material potencialmente infeccioso y manejarse de acuerdo con lo establecido en las normativas de seguridad nacionales, igual que las muestras de los pacientes.

La solución amortiguadora de lavado contiene 0.1 % de timerosal como conservante. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel ni con las membranas mucosas.

Todos los reactivos y materiales que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas deben tratarse con desinfectantes adecuados (por ejemplo, hipoclorito de sodio) o esterilizarse a 121 °C en autoclave durante una hora por lo menos.

Los reactivos y el material usados deben desecharse de forma correcta y responsable. Respete la normativa nacional en materia de eliminación de residuos.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

Conserve el material para la prueba a 2 °C - 8 °C hasta el momento de usarlo. Si no se utiliza para una prueba dentro de un plazo de tres días, recomendamos almacenarlo a una temperatura igual o inferior a 20 °C. No congele y descongele la muestra repetidamente. Después de diluir una muestra de heces en solución amortiguadora para dilución de la muestra 1:11, puede almacenarse a 4 °C y utilizarse en un plazo de tres días (tabla 1).

Las muestras de heces y los frotis rectales no deben recolectarse en contenedores de transporte que contengan medios de transporte con conservantes, sueros animales, iones metálicos, agentes oxidantes o detergentes, ya que pueden interferir con la prueba RIDASCREEN® Helicobacter. En caso de utilizar frotis rectales, compruebe si el volumen de material fecal es suficiente (aprox. 100 mg) para la prueba.

Tabla 1: Almacenamiento de muestras

Muestras de heces sin diluir		Muestras de heces sin diluir
2 °C - 8 °C	≤ - 20 °C	4 °C
≤ 3 días	> 3 días	≤ 3 días

9. Ejecución de la prueba

9.1. General

Todos reactivos y la placa de microtitulación [Plate] deben equilibrarse a la temperatura ambiente (20 °C - 25 °C) antes de su uso. No saque las tiras de micropocillos de la bolsa de aluminio hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente. Los reactivos deben mezclarse bien inmediatamente antes de su uso. Después de usarlas, vuelva a almacenar las tiras de micropocillos (en bolsas selladas) y los reactivos a 2 °C - 8 °C.

Las tiras de micropocillos usadas no deben volver a usarse. No utilice los reactivos ni las tiras de micropocillos si el envase está dañado o los viales tienen pérdidas. Para evitar la contaminación cruzada, las muestras no deben entrar en contacto directo con los componentes del kit.

No realice la prueba bajo la luz solar directa.

Recomendamos cubrir la placa de microtitulación o sellarla con un envoltorio plástico para evitar pérdidas por evaporación.

9.2. Preparación de la solución amortiguadora de lavado

Mezcle 1 parte de solución amortiguadora de lavado [Wash buffer] concentrada con 9 partes de agua destilada. Caliente previamente el concentrado al baño maría a 37 °C para disolver los posibles cristales presentes.

9.3 Preparación de las muestras

Llene un tubo de ensayo etiquetado con 1 ml de solución amortiguadora para dilución de la muestra RIDASCREEN® [Diluent | 1]. Con una espátula o un asa de inoculación desechable, retire aproximadamente 50 - 100 mg de la muestra de heces y suspéndala en el diluyente.

Si la muestra de heces es líquida, utilice una pipeta desechable (Ref. Z0001) para aspirar aproximadamente 100 µl hasta justo por encima de la segunda marca y suspéndala en la solución amortiguadora.

Homogenice la suspensión de heces por aspiración y expulsión con una pipeta desechable, o mediante agitación en un mezclador vórtex. Deje reposar brevemente (10 min.) la suspensión para que sedimenten las partículas de heces gruesas; el sobrenadante clarificado de la suspensión puede usarse directamente en la prueba. Si la ejecución de la prueba se realiza en un sistema automatizado de ELISA, el

sobrenadante **no** debe contener partículas. En este caso, se recomienda centrifugar la muestra a 2500 x g durante 5 minutos.

Nota:

Las muestras de heces diluidas en **Diluent | 1** pueden usarse en cualquier otra prueba RIDASCREEN® ELISA, siempre que también utilice **Diluent | 1**.

9.4. Primera incubación

Después de insertar un número suficiente de pocillos en el portatiras, agregue 100 µl del control positivo **Control | +**, el control negativo **Control | -** y la suspensión de muestras de heces a los pocillos. Agregue 100 µl del anticuerpo conjugado con biotina **Conjugate | 1**, mezcle (golpeando ligeramente en el borde de la placa) e incube durante 60 minutos a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.5. Lavado

Es fundamental lavar con cuidado para obtener resultados correctos y, en consecuencia, deben respetarse rigurosamente los pasos de lavado especificados en las instrucciones. Vacíe la sustancia incubada en los pocillos en un recipiente de residuos para eliminarla de acuerdo con la normativa oficial. Acto seguido, golpee la placa sobre papel absorbente para eliminar la humedad restante. A continuación, lave la placa cinco veces con 300 µl de solución amortiguadora de lavado cada vez. Después de cada paso de lavado, golpee los pocillos sobre un pedazo de papel absorbente seco y limpio para verificar que estén completamente vacíos.

Si se utiliza un equipo de lavado de microplacas o un equipo automático de ELISA, compruebe que esté ajustado correctamente; solicite la configuración al fabricante, si es necesario. Los equipos suministrados por R-Biopharm están programados con configuraciones y protocolos de trabajo validados. A fin de no bloquear las boquillas de lavado, utilice solamente suspensiones de heces libres de partículas (consulte el punto 9.3., Preparación de las muestras). Verifique asimismo que se haya aspirado completamente el líquido en cada fase de lavado.

9.6. Segunda incubación

Use una pipeta para agregar 100 µl de conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina **Conjugate | 2** a los pocillos. Incube durante 30 minutos a temperatura ambiente (20 °C - 25 °C).

9.7. Lavado

Lave según se indica en el punto 9.5.

9.8. Tercera incubación

Añada a todos los pocillos 100 µl de sustrato **Substrate**. Luego incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 15 minutos en la cámara oscura.

Posteriormente agregue a todos los pocillos 50 µl de solución de parada **Stop** para detener la reacción. Luego de mezclar cuidadosamente golpeando ligeramente el lateral de la placa, mida la extinción a 450 nm (opcional: 450/620 nm). El ajuste del blanco deberá hacerse en aire, es decir, sin la placa de microtitulación.

Nota:

En las muestras de pacientes con positivo alto pueden formarse precipitados de sustrato de color negro.

10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos

A efectos de control de calidad, deben utilizarse controles positivos y negativos cada vez que se realice la prueba, a fin de garantizar que los reactivos sean estables y que la prueba se realice correctamente. La prueba se realizó correctamente si la tasa de extinción (O.D.) del control negativo es inferior a 0.200 a 450 nm (menor que 0.160 a 450/620 nm) y el valor medido para el control positivo es superior a 0.800 a 450 nm o a 450/620 nm. Un valor del control negativo superior a 0.200 (0.160) puede indicar un lavado insuficiente. La desviación de los valores requeridos, como turbidez o coloración azul del sustrato incoloro antes de agregarlo en los pocillos, pueden indicar que los reactivos están vencidos.

Si no se cumplen los valores especificados, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir la prueba:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados
 - Funcionamiento de los equipos utilizados (p. ej., calibración)
 - Ejecución correcta de la prueba
 - Control visual de los componentes del kit para detectar contaminación o pérdidas.
- No utilice soluciones de sustrato que hayan virado a color azul.

Si los requisitos siguen sin cumplirse después de repetir la prueba, consulte con el fabricante o el distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

11.1. Cálculo del corte

Con objeto de establecer el corte, se añaden 0.150 unidades de extinción a la extinción medida para el control negativo.

$$\text{Corte} = \text{extinción del control negativo} + 0.150$$

11.2. Resultados de la prueba

La evaluación de la muestra es **positiva** si la tasa de extinción supera en más del 10 % el valor de corte calculado.

La evaluación de la muestra es **marginal** y deberá repetirse la prueba si la tasa de extinción está dentro de un rango de entre 10 % menor a 10 % mayor que el valor de corte. Si la repetición de la prueba con una muestra de heces frescas cae nuevamente dentro de la zona gris, la muestra deberá considerarse negativa.

Las muestras con extinciones inferiores en más del 10 % al valor de corte calculado deberán considerarse **negativas**.

Pueden aparecer valores OD negativos si se utilizan métodos de medición bicromática (450/620).

12. Limitaciones del método

La prueba RIDASCREEN[®] Helicobacter detecta antígenos específicos del *H. pylori* en muestras de heces humanas. El nivel de extinción determinado no puede asociarse a la presencia o gravedad de los síntomas clínicos.

Los resultados obtenidos deben interpretarse siempre en combinación con el cuadro y los síntomas clínicos.

Un resultado **positivo** no descarta la presencia de otros patógenos infecciosos.

Un resultado **negativo** no descarta una posible infección por *H. pylori*. Tal resultado puede deberse a la secreción intermitente del antígeno patógeno o a la cantidad insuficiente de antígeno en la muestra. Si el historial del paciente apoya la sospecha de una infección por *H. pylori*, se debe analizar otra muestra de heces.

Un resultado marginal puede deberse a la distribución no homogénea de los antígenos en la muestra de heces. En este caso, deberá repetirse la prueba con una segunda suspensión de la misma muestra o solicitarse una nueva muestra de heces al paciente.

13. Características de rendimiento

13.1. Calidad de las pruebas

El rendimiento diagnóstico de RIDASCREEN[®] Helicobacter se evaluó con 266 muestras de heces en un laboratorio de rutina. Las muestras procedían de pacientes con sospecha de infección por *H. pylori*. Como referencia, se realizó el ensayo diagnóstico de rutina empleado en el laboratorio (CLIA). Cinco muestras tuvieron resultados marginales en la prueba diagnóstico de rutina y se excluyeron. Los resultados de este estudio se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Comparación de RIDASCREEN® Helicobacter ELISA con EIA (CLIA) de la prueba de diagnóstico de rutina en el centro de estudio.

		EIA de la competencia (CLIA)	
		pos.	neg.
RIDASCREEN® Helicobacter	pos.	43	3
	neg.	6	209

Concordancia positiva: 90.5 %

Coincidencia negativa: 97.9 %

13.2. Reactividad cruzada

Se analizaron diferentes microorganismos patógenos del tracto intestinal con el RIDA® Helicobacter ELISA sin que pudiera observarse reactividad cruzada. Estos estudios se condujeron con suspensiones bacterianas que mostraron tener concentraciones de 10^6 a 10^9 organismos por ml. Los sobrenadantes de los cultivos víricos y las muestras de heces se resumen en la lista correspondiente. Los resultados del estudio se resumen en la tabla 3.

Tabla 3: Reactividad cruzada con microorganismos patógenos

Microorganismo	Origen	MV [DO 450/620]
<i>Adenovirus</i>	Sobrenadante de cultivo celular	-0.005
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cultivo	0.005
<i>Arcobacter butzleri</i>	Cultivo	0.002
<i>Astrovirus</i>	Sobrenadante de cultivo celular	0.004
<i>Bacillus cereus</i>	Cultivo	0.000
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cultivo	0.000
<i>Campylobacter coli</i>	Cultivo	0.004
<i>Campylobacter fetus</i>	Cultivo	0.028
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultivo	-0.003
<i>Campylobacter lari</i>	Cultivo	-0.001
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Cultivo	-0.005
<i>Candida albicans</i>	Cultivo	-0.002
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultivo	-0.007

<i>Clostridium difficile</i>	Cultivo	-0.003
<i>Clostridium sordellii</i>	Cultivo	-0.005
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultivo	-0.004
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	Cultivo	-0.010
<i>Escherichia coli</i> (O26:H-)	Cultivo	-0.007
<i>Escherichia coli</i> (O6)	Cultivo	-0.007
<i>Escherichia coli</i>	Cultivo	-0.002
<i>Entamoeba histolytica</i>	Heces	-0.009
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultivo	-0.001
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultivo	-0.004
<i>Giardia lamblia</i>	Heces	0.003
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Cultivo	-0.008
<i>Helicobacter heilmannii</i>	Cultivo	-0.008
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Cultivo	-0.004
<i>Norovirus</i>	Posko	-0.006
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultivo	0.001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultivo	-0.003
<i>Rotavirus</i>	Sobrenadante de cultivo celular	-0.011
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultivo	-0.006
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultivo	-0.011
<i>Shigella flexneri</i>	Cultivo	-0.004
<i>Shigella sonnei</i>	Cultivo	-0.009
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultivo	-0.004
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultivo	-0.006
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Cultivo	-0.005
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cultivo	-0.010

13.3. Precisión

La reproducibilidad de RIDASCREEN® Helicobacter ELISA se analizó con seis referencias representativas del rango de medida completo, desde negativo a positivo alto. Para determinar la reproducibilidad intraensayo se ensayaron 40 réplicas de estas referencias. Se determinaron las medias y los coeficientes de variación (CV) para tres lotes. Para la reproducibilidad interensayo se analizaron referencias en forma de duplicados de 10 días de trabajo diferentes, con 2 ensayos por día. Las medidas fueron realizadas sobre 3 lotes por 4 técnicos. La reproducibilidad interlote se determinó para los 3 lotes. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Resultados para la reproducibilidad/precisión de RIDASCREEN® Helicobacter ELISA

Referencia	Valor medio/CV	Intraensayo			Interensayo			Interlote
		Lote kit 1	Lote kit 2	Lote kit 3	Lote kit 1	Lote kit 2	Lote kit 3	Lotes kit 1–3
1	MV	3.193	3.225	3.034	3.327	3.206	3.109	3.214
	CV (%)	3.57 %	1.85 %	3.76 %	2.14 %	4.71 %	5.40 %	5.37 %
2	MV	2.530	2.443	2.123	2.884	2.646	2.590	2.707
	CV (%)	5.36 %	3.04 %	4.37 %	5.66 %	8.18 %	10.19 %	9.78 %
3	MV	1.452	1.430	1.337	1.776	1.570	1.567	1.638
	CV (%)	9.68 %	5.19 %	8.76 %	7.48 %	11.93 %	12.96 %	12.86 %
4	MV	0.826	0.712	0.722	0.971	0.853	0.833	0.886
	CV (%)	12.30 %	4.30 %	8.55 %	8.67 %	11.44 %	13.15 %	13.70 %
5	MV	0.423	0.443	0.398	0.616	0.516	0.527	0.553
	CV (%)	12.00 %	4.47 %	11.22 %	9.73 %	11.02 %	13.82 %	15.02 %
6	MV	-0.005	-0.008	-0.007	0.014	-0.003	-0.004	0.002
	CV (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d

13.4 Sensibilidad analítica

A fin de analizar la sensibilidad analítica de RIDASCREEN® Helicobacter ELISA, se determinó el límite de blanco (LB) con 90 ensayos de muestras negativas. Se determinó el límite de detección (LD) con 30 ensayos de una preparación de antígeno de *Helicobacter* recombinante. Los resultados de las mediciones se muestran en la tabla 5.

Tabla 5: Resultados de sensibilidad analítica de RIDASCREEN® Helicobacter ELISA

	MV [DO 450/620]	ng/ml
LB	0.077	-
LD	-	0.4

13.5 Sustancias interferentes

Las sustancias que se enumeran a continuación no demostraron tener efectos en los resultados de la prueba al mezclarlas con muestras de heces positivas y negativas a *Helicobacter* en las concentraciones descritas:

Mucina	5.0 % p/p	Diclofenaco	0.1 % v/p
Sangre humana	5.0 % v/p	Mezcla de ciclamato/sacarina	1.3 % v/p
Sulfato de bario	18.5 % p/p	Iberogast	0.09 % v/p
Loperamida	0.02 % p/p	Terapia cuádruple de claritromicina + metronidazol + amoxicilina + lansoprazol	1.50 % p/p + 1.20 % p/p + 3.00 % p/p + 0.09 % p/p
Pepto-Bismol	6.3 % v/p		
Ácido esteárico/ ácido palmítico	40 % p/v (1:1)		

Solo las muestras de heces extremadamente grasosas pueden producir valores de OD ligeramente elevados.

14. Historial de versiones

Número de versión	Capítulo y designación
2018-06-07	Versión de lanzamiento

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos de prueba

Plate	Placa de microtitulación
Diluent 1	Solución amortiguadora 1 para dilución de la muestra
Wash buffer	Solución amortiguadora de lavado
Control +	Positive control
Control -	Control negativo
Conjugate 1	Anticuerpos conjugados con biotina
Conjugate 2	Conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina
Sustrato	Sustrato
Stop	Solución de paro

16. Bibliografía

1. Marshall, B.J., Warren, J.R.. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1(8390): 1311-1314.
2. Dunn, B.E., Cohen, H., Blaser, M.J. 1997. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 10: 720-741.
3. D'Elíos, M.M., Andersen, L.P., Del Prete, G. 1998. Inflammation and host response. *Curr Opin in Gastroenterology*, 14 (suppl. 1): 15-19.
4. Delchier, J.-C., Ebert, M., Malfertheiner, P. 1998. *Helicobacter pylori* in gastric lymphoma and carcinoma. *Curr Opin in Gastroenterology*, 14 (suppl. 1): 41-45
5. Feldman, R.A., Eccersley, A.J.P., Hardie, J.M. 1997. Transmission of *Helicobacter pylori*. *Curr Op in Gastroenterology* 8: 8-12.
6. Graham, D.Y., Klein, P.D., Evans, Jr., D.J., Evans, D.G., Alpert, L.C., Opekun, A.R., Boutton, T.W. 1987. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1(8543): 1174-1177.
7. Graham, D.Y., Klein, P.D., Opekun, A.R., Boutton, T.W. 1988. Effect of age on the frequency of active *Campylobacter pylori* infection diagnosed by the [13C] Urea breath test in normal subjects and patients with peptic ulcer disease. *J Infect Dis* 157: 777-780.
8. Barthel, J.S., Everett, E.D. 1990. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: the "Gold Standard" and the alternatives. *Rev Infect Dis* 12 (suppl.1): S107-S114.
9. Kokkola A., Rautelin H., Puolakkainen P., Sipponen P., Farkkila M., Haapiainen R., Kosunen T.U. 2000. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: comparison of histology, ¹³C-urea breath test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 35(2): 138-141
10. Vaira, D., Holton, J., Menegatti, M., Ricci, C., Landi, F., Ali, A., Gatta, L., Acciardi, C., Farinelli, S., Crosatti, M., Berardi, S., Miglioli, M. 1999. New immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 45 (suppl. 1): I23-I27.
11. Vaira D., Miglioli M., Mule P., Holton J., Menegatti M., Vergura M., Biasco G., Conte R., Logan R.P., Barbara L. 1994. Prevalence of peptic ulcer in *Helicobacter pylori* positive blood donors. *Gut* 35: 309-312.
12. Graham D.Y., Malaty H.M., Evans D.G., Evans D.J. Jr., Klein P.D., Adam E. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 100: 1495-1501.

13. Makristathis A., Barousch W., Pasching E., Binder C., Kuderna C., Apfalter P., Rotter M.L., Hirschl A.M. 2000. Two enzyme immunoassays and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. *J Clin Microbiol* 38(10): 3710-3714
14. W. Fischbach, P. Malfertheiner, P. Lynen Jansen, W. Bolten, J. Bornschein, S. Buderus, E. Glocker, J. C. Hoffmann, S. Koletzko, J. Labenz, J. Mayerle, S. Miehke, J. Mössner, U. Peitz, C. Prinz, M. Selgrad, S. Suerbaum, M. Venerito, M. Vieth, 2016. S2k-Leitlinie *Helicobacter pylori* und gastroduodenale Ulkuskrankheit. DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-102967> *Z Gastroenterol* 2016; 54:327–363 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, New York ISSN 0044-2771.
15. Diaconu S, Predescu A, Moldoveanu A, Pop CS, Fierbințeanu-Braticevici C, 2017. *Helicobacter pylori* infection: old and new. *Journal of Medicine and Life* Vol. 10, Issue 2, April-June 2017, pp.112-117
16. Ozbey G and Hanafiah A, 2017. Epidemiology, Diagnosis and Risk Factors of *Helicobacter pylori* Infection in Children. *Euroasian J Hepatogastroenterol*. 2017 Jan-Jun;7(1):34-39.