

RIDASCREEN® Helicobacter

REF C2302



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDASCREEN® Helicobacter è un test immunoenzimatico per la determinazione qualitativa dell'antigene specifico di *Helicobacter-pylori* in campioni di feci umane.

2. Sintesi e spiegazione del test

Nel 1984 Marshall e Warren riuscirono a rilevare la presenza di un organismo simile al *Campylobacter* nella mucosa dell'antro e del corpo gastrico in pazienti con gastrite e ulcera peptica del duodeno confermate istologicamente. Ora sappiamo che *Helicobacter pylori* ha una relazione causale con lo sviluppo delle malattie gastrointestinali. Le infezioni da *H. pylori* causano infiammazioni che hanno una relazione di causa-effetto con la gastrite cronica, le ulcere gastriche, le ulcere dell'intestino tenue e i tumori dello stomaco. Questa premessa è confermata dalla guarigione della gastrite e delle ulcere che in genere avviene in seguito alla terapia di eradicazione. *H. pylori* ha sviluppato numerosi meccanismi di difesa per sopravvivere nell'ambiente acido e battericida dello stomaco. L'enzima ureasi converte l'urea in ammoniaca e biossido di carbonio e così facendo neutralizza l'acido gastrico. La produzione di catalasi e superossido dismutasi protegge *H. pylori* dagli attacchi da parte dei neutrofili. Molti pazienti positivi a *H. pylori* sviluppano gastrite e circa il 10 % dei pazienti sviluppa ulcere. Tra i pazienti con ulcere del piccolo intestino o dello stomaco, il 90 % sono *H. pylori* positivi, indipendentemente dall'età. Esistono due approcci di base alla diagnosi delle infezioni da *H. pylori*: la rilevazione diretta dell'organismo e l'individuazione indiretta tramite determinazione degli anticorpi prodotti dai pazienti in risposta a *H. pylori*. I metodi di rilevazione diretta dell'infezione, invasivi, includono il test rapido dell'ureasi, l'analisi istologica, la PCR e la coltivazione dell'organismo dal materiale biotico. La coltura di *H. pylori* dal materiale biotico è un processo difficile e noioso. Le difficoltà tecniche possono condurre a risultati falsi negativi e questo significa una sensibilità moderata. Inoltre, *H. pylori* tende a colonizzare la mucosa gastrica secondo un modello a isole ed è per questo che la sensibilità dell'analisi istologica aumenta all'aumentare del numero di campioni biotici prelevati. Un altro metodo di rilevazione diretta di *H. pylori* è l'urea breath test. Questo test rileva la presenza anidride carbonica prodotta dall'ureasi batterica. Il breath test ha un'elevata sensibilità e specificità ma richiede dispositivi speciali e l'ingestione da parte dei pazienti di urea marcata con isotopi. Quando vengono usati questi metodi, tuttavia, l'accuratezza dei test dipendenti dall'ureasi (test rapido dell'ureasi e urea breath test) è fortemente influenzata dalla presenza di fattori interferenti. Uno strumento di rilevazione comunemente utilizzato è la determinazione sierologica degli anticorpi specifici di *H. pylori*. Si tratta di un metodo di determinazione indiretto che rileva gli anticorpi prodotti dal paziente in risposta a *H. pylori*. Il test per monitorare il successo della terapia di eradicazione con metodi sierologici è di per se insufficiente, in quanto il titolo anticorpale si riduce solo lentamente nel corso dei mesi.

RIDASCREEN® *Helicobacter* è un test immunoenzimatico su piastra da microtitolazione per la rilevazione diretta e non invasiva degli antigeni di *H. pylori* in campioni di feci umane. Il test si basa sugli anticorpi monoclonali e previene le fluttuazioni tra i singoli lotti. La rilevazione diretta degli antigeni può essere usata per supportare la formulazione di una diagnosi iniziale e per controllare il successo della terapia quattro - sei settimane dopo la conclusione del trattamento di eradicazione o per rilevare la recidiva di un'infezione.

3. Principio del test

Il test RIDASCREEN® *Helicobacter* impiega anticorpi monoclonali in un metodo a sandwich. La superficie dei pozzetti della piastra da microtitolazione viene rivestita con anticorpi monoclonali contro gli antigeni specifici di *H. pylori*.

Una sospensione del campione di feci da esaminare e i controlli vengono introdotti mediante pipetta nel pozzetto della piastra da microtitolazione insieme ad anticorpi anti-*Helicobacter* biotinilati (Coniugato 1) per l'incubazione a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Dopo il lavaggio si aggiunge il poli-coniugato streptavidina-perossidasi (Coniugato 2) e si incuba nuovamente a temperatura ambiente (20 - 25 °C). In presenza degli antigeni specifici di *H. pylori*, si forma un complesso a sandwich di anticorpi immobilizzati, antigeni e anticorpi coniugati. Un ulteriore lavaggio rimuove il poli-coniugato streptavidina-perossidasi non legato. Nei campioni positivi, l'aggiunta di un substrato trasforma l'enzima legato da soluzione incolore in soluzione blu. L'aggiunta di un reagente bloccante causa una variazione cromatica da blu a giallo. L'estinzione è proporzionale alla concentrazione di antigeni di *H. pylori* presenti nel campione.

4. Contenuto della confezione

I reagenti nel kit sono sufficienti per 96 determinazioni.

Plate	96 determinazioni	Piastra da microtitolazione, 12 strisce di micropozzetti (separabili) in telaio di fissaggio, rivestiti di anticorpi monoclonali (murini) diretti contro gli antigeni specifici di <i>H. pylori</i> .
Diluent 1	100 ml	Tampone di diluizione del campione 1, soluzione salina proteica tamponata, pronta per l'uso, colorazione blu
Wash buffer	100 ml	Tampone di lavaggio, soluzione salina tamponata al fosfato (concentrata 10 volte); contiene lo 0,1 % di Thimerosal
Control +	2 ml	Controllo positivo; antigene di <i>H. pylori</i> inattivato; pronto all'uso; colore rosso-rosato
Control -	2 ml	Controllo negativo; controllo negativo (tampone di diluizione dei campioni 1), pronto per l'uso
Conjugate 1	13 ml	Anticorpi (murini) coniugati con biotina diretti contro gli antigeni specifici di <i>H. pylori</i> ; pronti all'uso; colorazione verde
Conjugate 2	13 ml	Poli-coniugato streptavidina-perossidasi in soluzione proteica tamponata; pronto per l'uso; colorazione arancione
Substrate	13 ml	Perossido di idrogeno/TMB; pronto per l'uso
Stop	12 ml	Reagente bloccante; acido solforico 1 N; pronto per l'uso

Le sostanze pericolose sono indicate in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS) su www.r-biopharm.com.

5. Istruzioni di conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a 2 - 8 °C e possono essere utilizzati fino alla data stampata sull'etichetta. Il tampone di lavaggio diluito è utilizzabile per un massimo di quattro settimane se conservato a una temperatura compresa tra 2 - 8 °C. Evitare la contaminazione microbica. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida.

La busta in alluminio deve essere aperta con le forbici, in modo tale da non rimuovere la chiusura a clip. Le strisce da microtitolazione inutilizzate devono essere immediatamente riposte nella busta in alluminio e conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

Evitare l'esposizione diretta alla luce del substrato incolore, per evitare la decomposizione o la colorazione blu per auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

6.1 Reagenti necessari

Per il test RIDASCREEN® Helicobacter occorrono i seguenti reagenti:

Reagenti
Acqua distillata o deionizzata

6.2 Attrezzatura di laboratorio necessaria

Per il test RIDASCREEN® Helicobacter occorre la seguente attrezzatura:

Attrezzatura
Flaconi per campioni
Pipette monouso (codice articolo: Z0001)
Vorticatore (opzionale, vedere punto 9.3.)
Micropipetta da 50 - 100 µl e 1 ml in volume
Cilindro graduato
Cronometro
Dispositivo di lavaggio per piastre da microtitolazione (codice articolo Z50TS8V o Z800TS) o pipette multicanale (300 µl)
Fotometro per piastre da microtitolazione (450 nm, filtro di riferimento 620 - 650 nm)
Carta filtrante (carta da laboratorio)
Tanica per rifiuti con soluzione di ipoclorito allo 0,5 %

7. Avvertenze e misure precauzionali

Esclusivamente per la diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere eseguito esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici.

Nell'esecuzione del test, attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso. Non pipettare campioni o reagenti con la bocca. Evitare il contatto con lesioni cutanee e mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare gli appositi dispositivi di

protezione individuale (guanti, camice e occhiali di sicurezza adatti) e lavare le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni.

Le sostanze pericolose sono indicate in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS) su www.r-biopharm.com.

Il kit include un controllo positivo che contiene l'antigene ricombinante specifico di *H. pylori*. Deve essere trattato come materiale potenzialmente infettivo, analogamente al campione del paziente, e maneggiato in conformità delle disposizioni di sicurezza nazionali vigenti.

Il tampone di lavaggio contiene lo 0,1 % di Thimerosal come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose.

Tutti i reagenti e i materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi devono essere trattati con adeguati disinfettanti (ad es. ipoclorito di sodio) o sottoposti a sterilizzazione a vapore per almeno un'ora a 121 °C.

Garantire uno smaltimento idoneo e responsabile di tutti i reagenti e i materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

Fino all'uso, conservare il materiale di test a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Se il materiale non può essere utilizzato entro tre giorni, si raccomanda di conservarlo a una temperatura di - 20 °C o inferiore. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento del campione. Dopo la diluizione in tampone 1:11, il campione può essere conservato a 4 °C e dovrà essere utilizzato entro tre giorni (Tabella 1). I campioni di feci e gli strisci rettali non devono essere riposti in contenitori di trasporto contenenti conservanti, sieri animali, ioni metallici, agenti ossidanti e detergenti, in quanto potrebbero crearsi interferenze con il test RIDASCREEN® Helicobacter. Se vengono usati strisci rettali, assicurarsi che il volume del materiale fecale sia sufficiente (circa 100 mg) per il test.

Tabella 1: Conservazione del campione

Campione fecale non diluito		Campione fecale diluito
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	4 °C
≤ 3 giorni	> 3 giorni	≤ 3 giorni

9. Esecuzione del test

9,1. Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra da microtitolazione Plate devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25 °C) prima dell'uso. Le strisce di microtitolazione

devono essere rimosse dalla busta in alluminio solo dopo il raggiungimento della temperatura ambiente. Mescolare con cura i reagenti immediatamente prima dell'utilizzo. Dopo l'uso, conservare le strisce di microtitolazione (in buste sigillate) e i reagenti a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

Una volta usate, le strisce per microtitolazione non devono essere riutilizzate. I reagenti e le strisce per microtitolazione non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o se i flaconcini non sono ermetici.

Evitare il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione incrociata.

Il test non deve essere eseguito in presenza di luce solare diretta.

Si raccomanda di coprire o sigillare con una pellicola in plastica la piastra da microtitolazione per evitare la perdita per evaporazione.

9.2. Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare 1 parte di concentrato per tampone di lavaggio **Wash buffer** con 9 parti di acqua distillata. Eventuali cristalli presenti nel concentrato devono essere precedentemente riscaldati in un bagnomaria a 37 °C per scioglierli.

9.3 Preparazione dei campioni

Introdurre in una provetta etichettata 1 ml di tampone per diluizione RIDASCREEN® **Diluent 1**. Con una spatola o un'ansa per inoculo monouso prelevare circa 50-100 mg di feci e sospenderle nel diluente.

Se le feci sono liquide, usare una pipetta monouso (codice articolo Z0001) per aspirare circa 100 µl di campione, subito sopra la seconda tacca, e sospenderli nel tampone.

Omogeneizzare la sospensione fecale mediante aspirazione ed espulsione tramite pipetta monouso oppure, in alternativa, miscelare in un vorticatore. Lasciar riposare la sospensione per un breve periodo (10 minuti) affinché le particelle fecali più grandi possano depositarsi, quindi usare il sunatante chiarificato direttamente nel test. Se l'esecuzione del test avviene in un sistema ELISA automatico, il sunatante **non deve** contenere particelle. In questo caso, è consigliabile centrifugare il campione a 2500 x g per 5 minuti.

Nota:

i campioni di feci diluiti in **Diluent 1** possono essere utilizzati in qualsiasi altro test ELISA RIDASCREEN®, a condizione che anche questo usi il diluente **Diluent 1**.

9.4. Prima incubazione

Dopo aver inserito un numero sufficiente di pozzetti nel telaio di fissaggio, introdurre 100 µl di controllo positivo **Control +**, il controllo negativo **Control -** e la sospensione del campione fecale nei pozzetti. Quindi aggiungere 100 µl di anticorpo biotina-coniugato **Conjugate 1**, miscelare (dando dei leggeri colpi sul bordo della piastra) e incubare per 60 minuti a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.5. Lavaggio

Un accurato lavaggio è importante per ottenere risultati corretti e deve pertanto essere effettuato in stretta conformità con le istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti per poi essere smaltito nel rispetto delle disposizioni ufficiali. Quindi, tamponare la piastra su carta assorbente per eliminare l'umidità residua. Lavare la piastra cinque volte utilizzando 300 µl di tampone di lavaggio ogni volta. Assicurarsi che i pozzetti vengano completamente svuotati picchiettandoli dopo ciascun lavaggio su un foglio di carta assorbente asciutto e pulito.

Se si utilizza una lavatrice per micropiastre o un sistema ELISA completamente automatico, assicurarsi che la macchina sia correttamente regolata o, se necessario, chiedere le impostazioni al produttore. I dispositivi forniti da R-Biopharm sono già programmati con le impostazioni e i protocolli di lavoro convalidati. Per evitare di bloccare gli aghi di lavaggio, introdurre solo sospensioni di feci prive di particelle (vedere Punto 9.3., Preparazione dei campioni). Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase di lavaggio.

9.6. Seconda incubazione

Utilizzare una pipetta per introdurre 100 µl di poli-coniugato streptavidina-perossidasi **Conjugate | 2** nei pozzetti, quindi incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.7. Lavaggio

Lavare come descritto al Punto 9.5.

9.8. Terza incubazione

Iniettare nei pozzetti 100 µl di substrato **Substrate**. Quindi incubare la piastra per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Successivamente inserire in tutti i pozzetti 50 µl di reagente bloccante **Stop** per arrestare la reazione. Dopo aver accuratamente miscelato picchiettando leggermente sul lato della piastra, misurare l'estinzione a 450 nm (opzionale: 450/620 nm). La regolazione del bianco deve avvenire in aria, ovvero senza piastra da microtitolazione.

Nota:

i campioni altamente positivi possono causare precipitati nerastri del substrato.

10. Controllo qualità: indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

Per il controllo della qualità eseguire il controllo positivo e negativo a ogni test al fine di garantire la stabilità dei reagenti e la corretta esecuzione. I test sono stati eseguiti correttamente se il tasso di estinzione (D.O.) per il controllo negativo è inferiore a 0,200 a 450 nm (meno di 0,160 a 450/620 nm) e se il valore misurato per il controllo positivo è maggiore di 0,800 a 450 nm o a 450/620 nm. Se il valore del controllo negativo è maggiore di 0,200 (0,160) il lavaggio potrebbe essere insufficiente. La deviazione dai valori richiesti, proprio come un'opacizzazione o una colorazione blu del substrato incolore prima dell'inserimento nei pozzetti, può indicare che i reagenti sono scaduti.

Se i valori fissati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (ad es. calibrazione)
- Correttezza della procedura di esecuzione del test
- Controllo visivo dei componenti del kit per verificare che non presentino contaminazione o perdite; una soluzione di substrato che sia diventata blu non deve essere utilizzata.

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, rivolgersi al produttore o al proprio distributore R-Biopharm locale.

11. Valutazione e interpretazione

11.1. Calcolo del valore limite

Per stabilire il valore limite, introdurre 0,150 unità di estinzione all'estinzione misurata per il controllo negativo.

$$\text{Valore limite} = \text{estinzione per il controllo negativo} + 0,150$$

11.2. Risultati del test

Il campione è considerato **positivo** se il tasso di estinzione supera il valore limite calcolato di più del 10 %.

Il campione viene considerato **borderline** e il test deve essere ripetuto se il tasso di estinzione è compreso tra il 10 % in meno e il 10 % in più rispetto al valore limite. Se l'esame ripetuto con un campione di feci fresco rientra ancora nella zona grigia, il campione deve essere considerato negativo.

I campioni che sono inferiori di oltre il 10 % rispetto al valore limite calcolato devono essere considerati **negativi**.

È possibile riscontrare valori di D.O. negativi se si impiegano metodi di misurazione bicromatici (450/620 nm)

12. Limiti del metodo

Il test RIDASCREEN® Helicobacter rileva gli antigeni specifici di *H. pylori* in campioni di feci umane. Non è possibile stabilire una relazione tra il livello di estinzione rilevato e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica.

I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati tenendo conto dei segni e dei sintomi clinici.

Un risultato **positivo** non esclude la presenza di altri patogeni infettivi.

Una risultato **negativo** non esclude una possibile infezione da *H. pylori*. Un risultato di questo tipo può essere dovuto a escrezione intermittente dell'antigene del patogeno o a una quantità insufficiente di antigene nel campione. Se l'anamnesi del paziente supporta un sospetto di infezione da *H. pylori* si consiglia di testare un altro campione fecale.

Un risultato **borderline** può essere dovuto a distribuzione non omogenea degli antigeni nel campione di feci. In questo caso l'esame deve essere ripetuto con una seconda sospensione dallo stesso campione; in alternativa, dovrà essere richiesto un altro campione di feci.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1. Qualità del test

Le prestazioni diagnostiche del test RIDASCREEN® Helicobacter sono state verificate su 266 campioni di feci in un laboratorio di routine. I campioni sono stati ottenuti da pazienti con sospetta infezione da *Helicobacter pylori*. Come riferimento è stato condotto il test diagnostico di routine usato in laboratorio (CLIA). Nel test diagnostico di routine, cinque campioni sono risultati borderline e sono stati esclusi. I risultati di questo studio sono presentati nella Tabella 2.

Tabella 2: Confronto tra il test ELISA RIDASCREEN® Helicobacter e il test EIA (CLIA) di diagnostica di routine presso il centro di studio

		EIA (CLIA) concorrente	
		pos.	neg.
RIDASCREEN® Helicobacter	pos.	43	3
	neg.	6	209

Concordanza positiva: 90,5 %

Concordanza negativa: 97,9 %

13.2. Reattività incrociata

Diversi microrganismi patogeni del tratto intestinale sono stati esaminati con il test RIDASCREEN® Helicobacter ELISA e non hanno evidenziato alcuna reattività incrociata. Questi studi sono stati condotti con sospensioni batteriche che presentavano una concentrazione di organismi da 10^6 a 10^9 per ml. I surnatanti della coltura virale e i campioni fecali sono indicati di conseguenza. I risultati di questo studio sono elencati nella Tabella 3.

Tabella 3: Reattività incrociata con microrganismi patogeni

Organismo	Origine	MV [OD 450/620]
<i>Adenovirus</i>	Surnatante di coltura cellulare	-0,005
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Coltura	0,005
<i>Arcobacter butzlerii</i>	Coltura	0,002
<i>Astrovirus</i>	Surnatante di coltura cellulare	0,004
<i>Bacillus cereus</i>	Coltura	0,000
<i>Bacteroides fragilis</i>	Coltura	0,000
<i>Campylobacter coli</i>	Coltura	0,004
<i>Campylobacter fetus</i>	Coltura	0,028
<i>Campylobacter jejuni</i>	Coltura	-0,003
<i>Campylobacter lari</i>	Coltura	-0,001
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Coltura	-0,005
<i>Candida albicans</i>	Coltura	-0,002
<i>Citrobacter freundii</i>	Coltura	-0,007
<i>Clostridium difficile</i>	Coltura	-0,003
<i>Clostridium sordellii</i>	Coltura	-0,005
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Coltura	-0,004
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	Coltura	-0,010
<i>Escherichia coli</i> (O26:H-)	Coltura	-0,007
<i>Escherichia coli</i> (O6)	Coltura	-0,007
<i>Escherichia coli</i>	Coltura	-0,002
<i>Entamoeba histolytica</i>	Feci	-0,009
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coltura	-0,001
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coltura	-0,004
<i>Giardia lamblia</i>	Feci	0,003

<i>Helicobacter cinaedi</i>	Coltura	-0,008
<i>Helicobacter heilmannii</i>	Coltura	-0,008
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Coltura	-0,004
<i>Norovirus</i>	Posko	-0,006
<i>Proteus vulgaris</i>	Coltura	0,001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coltura	-0,003
<i>Rotavirus</i>	Sunatante di coltura cellulare	-0,011
<i>Salmonella enteritidis</i>	Coltura	-0,006
<i>Salmonella typhimurium</i>	Coltura	-0,011
<i>Shigella flexneri</i>	Coltura	-0,004
<i>Shigella sonnei</i>	Coltura	-0,009
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coltura	-0,004
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Coltura	-0,006
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Coltura	-0,005
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Coltura	-0,010

13.3. Precisione

La riproducibilità del test ELISA RIDASCREEN® *Helicobacter* è stata verificata su sei riferimenti che rappresentano l'intero range di misurazione da debolmente ad altamente positivo. Per la determinazione della riproducibilità intra-analisi sono stati esaminati 40 replicati di questi riferimenti. Sono stati determinati i valori medi e i coefficienti di variazione (CV) per tre lotti. Per la riproducibilità inter-analisi, le misurazioni dei riferimenti sono state eseguite in 10 giorni lavorativi diversi con 2 serie al giorno con test doppi. Le misurazioni sono state determinate in 3 lotti da 4 tecnici. La riproducibilità inter-lotto è stata determinata per tutti e 3 i lotti. I risultati sono riportati nella Tabella 4.

Tabella 4: Risultati dalla riproducibilità/precisione del test ELISA RIDASCREEN® Helicobacter

Riferimento	Valore medio / CV	Intra-analisi			Inter-analisi			Inter-lotto
		Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotti kit 1-3
1	MV	3,193	3,225	3,034	3,327	3,206	3,109	3,214
	VC (%)	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
	VC (%)	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
	VC (%)	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
	VC (%)	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
	VC (%)	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
	VC (%)	non disponibile						

13.4 Sensibilità analitica

Per determinare la sensibilità analitica del test ELISA RIDASCREEN® Helicobacter, il limite del bianco (LoB) è stato determinato con 90 test di campioni negativi. Il limite di rilevamento (LoD) è stato quindi determinato con 30 test di un preparato di antigene ricombinante di *Helicobacter*. I risultati di queste misurazioni sono presentati nella Tabella 5.

Tabella 5: Risultati della sensibilità analitica del test ELISA RIDASCREEN® Helicobacter

	MV [OD 450/620]	ng/ml
LoB	0,077	-
LoD	-	0,4

13.5 Sostanze interferenti

Le sostanze incluse nell'elenco seguente non hanno mostrato effetti sui risultati dei test quando miscelate in campioni di feci positivi e negativi a *Helicobacter* nelle concentrazioni descritte:

Mucina	5,0 % w/w	Diclofenac	0,1 % v/w
Sangue umano	5,0 % v/w	Miscela di ciclamato/saccarina	1,3 % v/w
Solfato di bario	18,5 % w/w	Iberogast	0,09 % v/w
Loperamide	0,02 % w/w	Terapia quadrupla claritromicina + metronidazolo + amoxicillina + lansoprazolo	1,50 % w/w + 1,20 % w/w + 3,00 % w/w + 0,09 % w/w
Peptobismol	6,3 % v/w		
Acido stearico/ acido palmitico	40 % w/w (1:1)		

Solo campioni fecali estremamente steatosici possono produrre valori di O.D leggermente elevati

14. Cronologia delle versioni

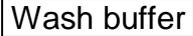
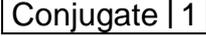
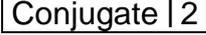
Numero della versione	Capitolo e designazione
07/06/2018	Versione di rilascio

15. Descrizione simboli

Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici del test

	Piastra da microtitolazione
	Tampone di diluizione 1
	Tampone di lavaggio
	Positive Control
	Controllo negativo
	Anticorpi coniugati con biotina
	Poli-coniugato streptavidina-perossidasi
	Substrato
	Reagente bloccante

16. Bibliografia

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'Ellos, 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.