

RIDASCREEN® Helicobacter

REF C2302



1. Uso previsto

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. O RIDA[®]QUICK Helicobacter é um ensaio imunoenzimático para a detecção qualitativa do antígeno específico *Helicobacter pylori* em amostras de fezes humanas.

2. Sumário e explicação do teste

Em 1984, Marshall e Warren foram capazes de detectar a presença de um organismo do tipo *Campylobacter* na mucosa do corpo e antro gástrico em pacientes com gastrite confirmada histologicamente e úlceras pépticas do duodeno. Agora reconhecemos que a *Helicobacter pylori* está causalmente envolvida no desenvolvimento de doenças gastrointestinais. Infecções por *H. pylori* resultam em inflamações que têm uma relação casual com gastrite crônica, úlceras gástricas, úlceras do intestino delgado e câncer gástrico. Esta premissa é confirmada pela cura de gastrite e úlceras, que geralmente é bem sucedida após a terapia de erradicação. A *H. pylori* desenvolveu vários mecanismos de defesa para sobreviver no ambiente ácido e bactericida do estômago. A enzima urease converte a ureia em amônia e dióxido de carbono, neutralizando assim o ácido gástrico. A produção de catalase e superóxido dismutase protege a *H. pylori* de ser atacada por neutrófilos. Muitos pacientes positivos para *H. pylori* desenvolvem gastrite, e cerca de 10 % dos pacientes desenvolvem úlceras. Dos pacientes com úlceras do intestino delgado ou do estômago, 90 % são positivos para *H. pylori*, independentemente da idade. Existem duas abordagens básicas para diagnosticar infecções por *H. pylori*: detecção direta do organismo e determinação indireta através da detecção dos anticorpos que os pacientes produzem em resposta à *H. pylori*. Os métodos de detecção direta de uma infecção, embora invasivos, incluem o teste rápido de urease, histologia, PCR e o cultivo do organismo a partir de material de biópsia. Cultivar *H. pylori* a partir de material de biópsia é um processo difícil e tedioso. Dificuldades técnicas podem levar a resultados falso-negativos, o que significa baixa sensibilidade. Além disso, a *H. pylori* tende a colonizar a mucosa gástrica em um padrão de ilha, razão pela qual a sensibilidade da histologia aumenta com um número crescente de biópsias obtidas. Outro método de detecção direta de *H. pylori* é o teste de respiração da ureia. Este teste detecta o dióxido de carbono produzido pela urease bacteriana. O teste de respiração tem alta sensibilidade e especificidade, mas requer dispositivos de teste especiais e a ingestão de ureia marcada com isótopos pelos pacientes. Quando esses métodos são usados, no entanto, a precisão do teste dos testes dependentes da urease (teste rápido da urease e teste respiratório da ureia) é fortemente influenciada pela presença de fatores interferentes. Uma ferramenta de detecção comumente usada é a determinação sorológica de anticorpos específicos para *H. pylori*. Este é um método de detecção indireta que detecta os anticorpos produzidos pelo paciente em resposta à *H. pylori*. O teste para monitorar o sucesso da terapia de erradicação

usando métodos sorológicos é simplesmente insuficiente, uma vez que o título de anticorpos diminui lentamente apenas ao longo de vários meses.

O RIDASCREEN® *Helicobacter* é um ensaio imunoenzimático em placas de microtitulação para a detecção direta e não invasiva de antígenos de *H. pylori* em fezes humanas. O teste é baseado em anticorpos monoclonais, evitando flutuações entre os lotes individuais. A detecção direta de antígenos pode ser usada para apoiar a formulação de um diagnóstico inicial, bem como para verificar o sucesso da terapia quatro a seis semanas após o término da terapia de erradicação ou detectar a recorrência de uma infecção.

3. Princípio do teste

O RIDASCREEN® *Helicobacter* Test utiliza anticorpos monoclonais em um método tipo sanduíche. A superfície de cavidades da placa de microtitulação é revestida com anticorpos monoclonais contra antígenos específicos *H. pylori*.

Uma pipeta é usada para colocar uma suspensão da amostra de fezes a ser examinada, assim como os controles, na cavidade da placa de microtitulação, juntamente com anticorpos biotinizados anti-*Helicobacter* (Conjugado 1) para incubação em temperatura ambiente (20 - 25 °C). Após um estágio de lavagem, o conjugado de estreptavidina poliperoxidase (Conjugado 2) é adicionado e incubado novamente em temperatura ambiente (20 - 25 °C). Na presença de antígenos específicos *H. pylori* na amostra, forma-se um complexo sanduíche de anticorpos imobilizados, antígenos e anticorpos conjugados. Um estágio de lavagem adicional remove o conjugado de estreptavidina poliperoxidase não ligado. Em amostras positivas, a adição de um substrato muda a enzima ligada de uma solução incolor para uma solução azul. A adição de um reagente de parada muda a cor, de azul para amarelo. A extinção é proporcional à concentração de antígenos específicos *H. pylori* na amostra.

4. Reagentes fornecidos

Os reagentes no kit são suficientes para 96 determinações.

Plate	96 determinações	Placa de microtitulação, 12 tiras de micropoços (quebráveis) no suporte de tira, revestido com anticorpos monoclonais (rato) contra antígenos específicos <i>H. pylori</i> .
Diluent 1	100 ml	Tampão de diluição de amostra 1, solução tampão proteica de NaCl, pronta para uso, coloração azul
Wash buffer	100 ml	Tampão de lavagem, solução tampão fosfato de NaCl (concentração 10x); contém 0,1 % de timerosal
Control +	2 ml	Controle positivo; antígeno <i>H. pylori</i> inativado; pronto para uso; coloração rosa avermelhada
Control -	2 ml	Controle negativo; controle negativo (tampão de diluição de amostra 1); pronto para uso
Conjugate 1	13 ml	Anticorpos conjugados com biotina (rato) contra antígenos específicos <i>H. pylori</i> ; pronto para uso; coloração verde
Conjugate 2	13 ml	Conjugado de estreptavidina poliperoxidase em solução de proteína estabilizada; pronto para uso; coloração laranja
Substrate	13 ml	Peróxido de hidrogênio/TMB; pronto para uso
Stop	12 ml	Reagente de parada; ácido sulfúrico 1 N; pronto para uso

As substâncias perigosas são indicadas de acordo com as obrigatoriedades de marcação. Para mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDS) em www.r-biopharm.com.

5. Instruções de armazenamento

Todos os reagentes devem ser armazenados entre 2 e 8 °C e podem ser usados até a data impressa no rótulo. Se o tampão de lavagem diluído for armazenado entre 2 e 8 °C, ele pode ser usado por, no máximo, 4 semanas. A contaminação microbiana deve ser evitada. A garantia de qualidade expirará após o término do prazo de validade.

A embalagem de alumínio deve ser aberta com tesoura, de modo que o fecho de encaixe não seja separado. As tiras de microtitulação que não forem necessárias devem ser devolvidas imediatamente à embalagem de alumínio e armazenadas à temperatura entre 2 e 8 °C.

O substrato incolor deve também ser protegido da luz direta, para evitar que se decomponha ou fique azul devido à auto-oxidação. Se o substrato ficar azul, ele não deve ser utilizado.

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

6.1 Reagentes necessários

Os seguintes reagentes são necessários para realizar o RIDASCREEN® Helicobacter Test:

Reagentes
Água destilada ou deionizada

6.2 Equipamento laboratorial necessário

O seguinte equipamento é necessário para realizar o RIDASCREEN® Helicobacter Test:

Equipamentos
Frascos de amostra
Pipetas descartáveis (n.º do art.: Z0001)
Misturador vórtice (opcional, veja 9.3)
Micropipeta para volumes de 50 - 100 µl e 1 ml
Cilindro graduado
Cronômetro
Dispositivo de lavagem para placas de microtitulação (n.º do art. Z50TS8V ou Z800TS) ou pipeta de canal múltiplo (300 µl).
Fotômetro para placas de microtitulação (450 nm, filtro de referência de 620 - 650 nm)
Papel filtro (toalhas de laboratório)
Recipiente de descarte contendo solução de hipoclorito a 0,5 %

7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

Apenas para uso em diagnóstico *in-vitro*.

Esse teste deve ser realizado apenas por pessoal de laboratório treinado. As diretrizes para trabalho em laboratórios médicos devem ser seguidas. Sempre cumpra estritamente as instruções de usuário para a realização desse teste. Não pipete amostras ou reagentes com a boca. Evite o contato com membranas

mucosas e pele lesionada. Utilize equipamentos de segurança pessoal (luvas adequadas, jaleco, óculos de segurança) ao manusear os espécimes e lave as mãos após concluir o teste. Não fume, coma ou beba em áreas onde as amostras estiverem sendo processadas.

As substâncias perigosas são indicadas de acordo com as obrigatoriedades de marcação. Para mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDS) em www.r-biopharm.com.

O kit inclui um controle positivo que contém um antígeno específico *H. pylori* recombinante. Como as amostras dos pacientes, deve ser tratado como um material potencialmente infeccioso e manuseado de acordo com as normas de segurança nacionais.

O tampão de lavagem contém 0,1 % de timerosal, como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou com membranas mucosas.

Todos os reagentes e materiais que entram em contato com espécimes potencialmente infecciosas devem ser tratados com os desinfetantes adequados (por exemplo, hipoclorito de sódio) ou submetidos à autoclavagem a uma temperatura de 121 °C por pelo menos uma (1) hora.

Certifique-se de descartar de modo adequado e responsável todos os reagentes e materiais após sua utilização. Para o descarte, cumpra com os regulamentos nacionais.

8. Coleta e armazenamento de espécimes

Até ser utilizado, armazene o material de teste a 2 - 8 °C. Se o material não puder ser usado para teste em três dias, recomendamos o armazenamento a 20 °C ou mais frio. Evite congelar e descongelar a amostra repetidamente. Após a diluição da amostra de fezes no tampão de diluição de amostra 1:11, ela pode ser armazenada a 4 °C para uso dentro de três dias (Tabela 1).

As amostras de fezes e esfregaços retais não devem ser coletados em recipientes de transporte que contenham meios de transporte com conservantes, soros animais, íons metálicos, agentes oxidantes ou detergentes, uma vez que esses materiais podem interferir no RIDASCREEN® Helicobacter test. Se forem utilizados esfregaços fecais, certifique-se de que o volume do material fecal seja suficiente (aproximadamente 100 mg) para o teste.

Tabela 1: Armazenagem de espécimes

Amostra de fezes não diluídas		Amostra de fezes diluídas
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	4 °C
≤ 3 dias	> 3 dias	≤ 3 dias

9. Realização do teste

9.1. Geral

Todos os reagentes e **Plate** de microtitulação devem estar em temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes do uso. As tiras de micropoços não devem ser removidas da embalagem de alumínio até que tenham chegado à temperatura ambiente. Os reagentes devem ser completamente misturados imediatamente antes do uso. Depois do uso, as faixas do micropoço (em embalagens seladas) e os reagentes devem ser armazenados novamente em 2 - 8 °C.

Uma vez utilizadas, as faixas do micropoço não devem ser reutilizadas. Os reagentes e as tiras de micropoços não devem ser usados se a embalagem estiver danificada ou se os frascos estiverem vazando.

Para evitar a contaminação cruzada, deve-se evitar que as amostras entrem em contato direto com os componentes do kit.

O teste não deve ser realizado sob luz solar direta.

Recomendamos cobrir a placa de microtitulação ou selá-la com uma embalagem plástica para evitar perdas ocasionadas pela evaporação.

9.2. Preparação do tampão de lavagem

Misture 1 parte do concentrado de tampão de lavagem **Wash buffer** com 9 partes de água destilada. Todos os cristais presentes no concentrado devem ser dissolvidos com antecedência, aquecendo-os em banho de água a 37 °C.

9.3 Preparando as amostras

Encha um tubo de teste rotulado com 1 ml do tampão de diluição de amostra RIDASCREEN® **Diluent 1**. Usando uma espátula ou rede de inoculação descartável, remova aprox. 50 a 100 mg da amostra de fezes e suspenda no diluente.

Se a amostra de fezes for líquida, use uma pipeta descartável (artigo nº Z0001) para aspirar aprox. 100 µl da amostra bem em cima da segunda marcação e suspenda no tampão.

Homogeneíze a suspensão de fezes por meio de sucção e ejeção de uma pipeta descartável ou por meio de mistura em um misturador vórtice. Deixe a suspensão descansar por um curto período de tempo (10 minutos) para as partículas de fezes grossas assentarem e use este sobrenadante clarificado da suspensão de fezes diretamente no teste. Se o procedimento de teste for realizado em um sistema ELISA automatizado, o sobrenadante **deve** ser livre de partículas. Nesse caso, é aconselhável centrifugar a amostra a 2500 x g por 5 minutos.

Obs.:

As amostras de fezes diluídas no **Diluent 1** podem ser usadas em outro RIDASCREEN® ELISA, desde que também use o **Diluent 1**.

9.4. Primeira incubação

Depois de inserir um número suficiente de cavidades no suporte de tiras, adicione 100 µl do controle positivo **Control | +**, o controle negativo **Control | -**, e a suspensão da amostra de fezes aos poços. Depois, adicione 100 µl do anticorpo conjugado com biotina **Conjugate | 1**, misture (batendo levemente na lateral da placa) e incube por 60 minutos em temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.5. Lavagem

A lavagem cuidadosa é importante para obter resultados corretos e deve, portanto, ser realizada estritamente de acordo com as instruções. A substância incubada nos poços deve ser esvaziada em um recipiente de dejetos para descarte, de acordo com as normas oficiais. Depois disso, bata a placa em papel absorvente para remover a umidade residual. Lave então a placa cinco vezes, usando 300 µl de tampão de lavagem a cada vez. Certifique-se que os poços estejam completamente vazias, batendo nelas após cada lavagem em uma parte do papel absorvente que ainda esteja seca e não utilizada.

Se uma lavadora de microplacas ou ELISA completamente automatizada for utilizada, certifique-se que a máquina esteja ajustada corretamente, ou solicite as configurações ao fabricante, se necessário. As ferramentas fornecidas pela R-Biopharm já são programadas com configurações e protocolos de trabalho validados. Para evitar o bloqueio das agulhas de lavagem, apenas devem ser usadas suspensões de fezes livres de partículas (ver 9.3, Preparação das amostras). Certifique-se também de que todo o líquido seja aspirado durante cada estágio da lavagem.

9.6. Segunda incubação

Utilize uma pipeta para encher 100 µl de conjugado de estreptavidina poliperoxidase **Conjugate | 2** nas cavidades, depois incube por 30 minutos em temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.7. Lavagem

Lave do modo descrito em 9.5.

9.8. Terceira incubação

Encha todas as cavidades com 100 µl de substrato **Substrate**. Então incube a placa por 15 minutos no escuro, em temperatura ambiente (entre 20 e 25 °C). Depois, encha todos os poços com 50 µl de solução bloqueadora **Stop** para parar a reação. Após misturar cuidadosamente, batendo levemente na lateral da placa, meça a extinção em 450 nm (opcional: 450/620 nm). O ajuste do valor em branco deve ser feito ao ar, ou seja, sem a placa de microtitulação.

Obs.:

Amostras de paciente alto-positivo podem criar precipitados de coloração negra do substrato.

10. Controle de qualidade - indicação de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Para propósito de controle de qualidade, os controles positivo e negativo devem ser usados todas as vezes que o teste for realizado, para garantir que os reagentes estejam estáveis e que o teste seja realizado corretamente. O teste foi realizado corretamente se a taxa de extinção (O.D), para o controle negativo for menor que 0.200 a 450 nm (menor que 0.160 a 450/620 nm) e o valor medido para o controle positivo for maior que 0.800 a 450 nm ou a 450/620 nm. Um valor de controle negativo maior que 0.200 (0.160) pode indicar lavagem insuficiente. O desvio dos valores necessários, assim como uma coloração turva ou azulada do substrato incolor antes que seja colocado nos poços, pode indicar que os reagentes estão fora do prazo de validade.

Se os valores estipulados não forem obtidos, os seguintes pontos devem ser verificados antes de repetir o teste:

- Data de validade dos reagentes utilizados
- Funcionalidade do equipamento utilizado (por ex., calibração)
- Execução correta do teste
- Inspeção visual dos componentes do kit, à procura de contaminação ou vazamentos – uma solução de substrato que ficou azul não deve ser usada.

Se as condições ainda não tiverem sido cumpridas após a repetição do teste, consulte o fabricante ou o distribuidor R-Biopharm local.

11. Avaliação e interpretação

11.1. Cálculo do limite

Para estabelecer o limite, unidades de extinção de 0,150 são adicionadas à extinção medida para o controle negativo.

$$\text{Limite} = \text{extinção para o controle negativo} + 0,150$$

11.2. Resultados do teste

A avaliação da amostra é **positiva** se a taxa de extinção for mais que 10 % maior que o valor limite calculado.

A avaliação da amostras é **marginal** e o teste precisa ser repetido se a taxa de extinção variar entre 10 % menos a 10 % mais do que o valor limite. Se o exame repetido com uma amostra de fezes frescas ficar novamente na zona cinzenta, a amostra deve ser considerada negativa.

As amostras que estiverem mais do que 10 % abaixo do limite calculado devem ser consideradas **negativas**.

Valores OD negativos podem ocorrer se forem usados métodos de medição bicromática (450/620 nm).

12. Limitações do método

O RIDASCREEN® Helicobacter test detecta os antígenos específicos *H. pylori* nas amostras de fezes humanas. Não é possível associar o nível de extinção determinado com a ocorrência ou severidade dos sintomas clínicos.

Os resultados obtidos sempre devem ser interpretados em combinação com os sinais clínicos e com os sintomas.

Um resultado **positivo** não descarta a presença de outros patógenos infecciosos.

Um resultado **negativo** não exclui uma possível infecção por *H. pylori*. Tal resultado pode ser devido à excreção intermitente do antígeno patógeno ou devido a uma quantidade insuficiente de antígeno na amostra. Se o histórico do paciente sustentar a suspeita de infecção por *H. pylori*, outra amostra de fezes deve ser testada.

Um resultado **marginal** pode ser devido à distribuição não-homogênea dos antígenos na amostra de fezes. Nesse caso, o exame deve ser repetido com uma segunda suspensão da mesma amostra ou outra amostra de fezes deve ser solicitada ao paciente.

13. Características de desempenho

13.1. Qualidade do teste

O desempenho de diagnóstico do RIDASCREEN® Helicobacter foi testado com 266 amostras de fezes em um laboratório de rotina. As amostras vieram de pacientes com suspeita de infecção por *Helicobacter pylori*. O ensaio de diagnóstico de rotina utilizado no laboratório (CLIA) foi realizado como referência. Cinco amostras foram marginais nos testes de diagnóstico de rotina e foram excluídas. Os resultados desse estudo estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Comparação do RIDASCREEN® Helicobacter ELISA com EIA (CLIA) de testes de diagnóstico de rotina no centro de estudos

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

Correspondência positiva: 90,5 %

Correspondência negativa: 97,9 %

13.2. Reatividade cruzada

Uma variedade de microrganismos patogênicos do trato intestinal foi examinada usando o teste RIDASCREEN® Helicobacter ELISA e não demonstrou reatividade cruzada. Esses estudos foram realizados com suspensões bacterianas que mostraram ter concentrações de 10^6 ta 10^9 organismos por ml. Sobrenadantes de cultura de vírus e amostras de vírus estão adequadamente listados. Os resultados desse estudo estão listados na Tabela 3.

Tabela 3: Reatividade cruzada com microrganismos patogênicos

Organismo	Origem	VM [OD 450/620]
<i>Adenovírus</i>	Sobrenadante de cultura celular	-0,005
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cultura	0,005
<i>Arcobacter butzlerii</i>	Cultura	0,002
<i>Astrovírus</i>	Sobrenadante de cultura celular	0,004
<i>Bacillus cereus</i>	Cultura	0,000
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cultura	0,000
<i>Campylobacter coli</i>	Cultura	0,004
<i>Campylobacter fetus</i>	Cultura	0,028
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultura	-0,003
<i>Campylobacter lari</i>	Cultura	-0,001
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Cultura	-0,005
<i>Candida albicans</i>	Cultura	-0,002
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultura	-0,007
<i>Clostridium difficile</i>	Cultura	-0,003
<i>Clostridium sordellii</i>	Cultura	-0,005
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultura	-0,004
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	Cultura	-0,010
<i>Escherichia coli</i> (O26:H-)	Cultura	-0,007
<i>Escherichia coli</i> (O6)	Cultura	-0,007
<i>Escherichia coli</i>	Cultura	-0,002
<i>Entamoeba histolytica</i>	Fezes	-0,009
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultura	-0,001
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultura	-0,004
<i>Giardia lamblia</i>	Fezes	0,003
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Cultura	-0,008
<i>Helicobacter heilmannii</i>	Cultura	-0,008

<i>Klebsiella oxytoca</i>	Cultura	-0,004
<i>Norovírus</i>	Posko	-0,006
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultura	0,001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultura	-0,003
<i>Rotavírus</i>	Sobrenadante de cultura celular	-0,011
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultura	-0,006
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultura	-0,011
<i>Shigella flexneri</i>	Cultura	-0,004
<i>Shigella sonnei</i>	Cultura	-0,009
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultura	-0,004
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultura	-0,006
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Cultura	-0,005
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cultura	-0,010

13.3. Precisão

A reprodutibilidade do RIDASCREEN® Helicobacter ELISA foi testada com seis referências, representando a faixa de medição completa, de fraco a alto positivo. Para determinar a reprodutibilidade entre ensaios, 40 réplicas dessas referências foram testadas. Os valores médios e os coeficientes de variação (CV) foram determinados para três lotes. Para a reprodutibilidade entre ensaios, as referências de 10 diferentes dias de trabalho foram examinadas em duplicatas, com 2 execuções por dia. As medições foram determinadas em 3 lotes por 4 técnicos. A reprodutibilidade entre lotes foi determinada para todos os 3 lotes. Os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados da reprodutibilidade/precisão do RIDASCREEN® Helicobacter ELISA

Referências	Valor médio / CV	Intraensaio			Entre-ensaio			Entre-lote
		Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lote 1 do kit	Lote 2 do kit	Lote 3 do kit	Lotes 1–3 do kit
1	VM	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	VM	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	VM	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	VM	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	VM	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	VM	-0,005	-0,008	-0,007	0,014	-0,003	-0,004	0,002
	CV (%)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

13.4. Sensibilidade analítica

Para determinar a sensibilidade analítica do RIDASCREEN® Helicobacter ELISA, o limite de branco (LoB) foi determinado com 90 ensaios de amostras negativas. O limite de detecção (LoD) foi determinado então com 30 ensaios de uma preparação do antígeno *Helicobacter* recombinante. Os resultados dessas medições são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5: Resultados para a sensibilidade analítica do RIDASCREEN® Helicobacter ELISA

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

13.5 Substâncias interferentes

As substâncias listadas abaixo não mostraram efeitos nos resultados dos testes quando misturadas com espécimes de fezes negativos e positivos para *Helicobacter* nas concentrações descritas:

Mucina	5,0 % w/w	Diclofenaco	0,1 % v/w
Sangue humano	5,0 % v/w	Mistura de ciclamato/sacarina	1,3 % v/w
Sulfato de bário	18,5 % w/w	Iberogast	0,09 % v/w
Loperamida	0,02 % w/w	Terapia quádrupla claritromicina + metronidazol + amoxicilina + lansoprazol	1,50 % w/w + 1,20 % w/w + 3,00 % w/w + 0,09 % w/w
Pepto-Bismol	6,3 % v/w		
Ácido esteárico/ ácido palmítico	40 % w/w (1:1)		










Apenas amostras de fezes extremamente gordurosas podem produzir valores OD ligeiramente elevados.

14. Histórico de versões

Número da versão	Capítulo e designação
2018-06-07	Versão da edição

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

	Para utilização em diagnóstico in vitro
	Respeitar as instruções de utilização
	Número do lote:
	Validade
	Armazenar em
	Número do artigo
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

Símbolos específicos de teste

Plate	Placa de microtitulação
Diluent 1	Tampão de diluição de amostra 1
Wash buffer	Tampão de lavagem
Control +	Controle positivo
Control -	Controle negativo
Conjugate 1	Anticorpos conjugados com biotina
Conjugate 2	Conjugado de estreptavidina poliperoxidase
Substrate	Substrato
Stop	Solução bloqueadora

16. Referências

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. Miehlke, 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.