



CERTEST *H. pylori*
Rapid One step *Helicobacter pylori* Card test

INTENDED USE

The CerTest *H. pylori* is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Helicobacter pylori* in faeces.

INTRODUCTION

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is a spiral-shaped bacterium that is found in the gastric mucous layer or adherent to the epithelial lining of the stomach. *H. pylori* causes more than 90% of duodenal ulcers and up to 80% of gastric ulcers.

The importance of *Helicobacter pylori* testing has increased greatly since the strong correlation between the presence of bacteria and confirmed gastrointestinal diseases (stomach and duodenum) like gastritis, peptic ulcer disease and gastric carcinoma.

PRINCIPLE OF THE TEST

The CerTest *H. pylori* is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Helicobacter pylori* in faeces samples. The membrane is pre-coated with monoclonal antibodies, on the test band region, against *H. pylori* antigens.

During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-*H. pylori* monoclonal antibodies-red polystyrene micro spheres) which was pre-dried on the test strip. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured conjugate. The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a green coloured band always appears. The presence of this green band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

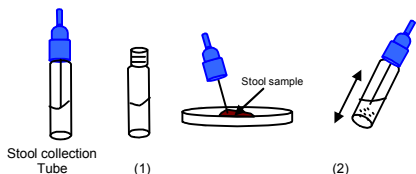
- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

Specimen preparation (see illustration):

- (1) Take out the top of the stool collection tube and use the stick to pick up enough quantity of sample, introduce the stick 4 times and collect approx. 250 mg. Add the sample into the stool collection tube.
- (2) Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



Note: if the stool sample was liquid take 250 µL using a pipette.

MATERIALS PROVIDED

- Device tests (CerTest *H. pylori* card test)
- Instructions for use
- Stool collection tubes with sample diluent

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

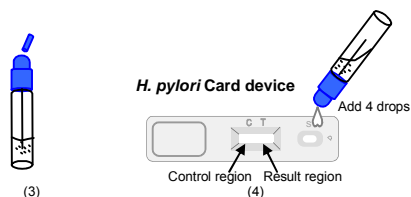
TEST PROCEDURE

Allow the tests, stool samples and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

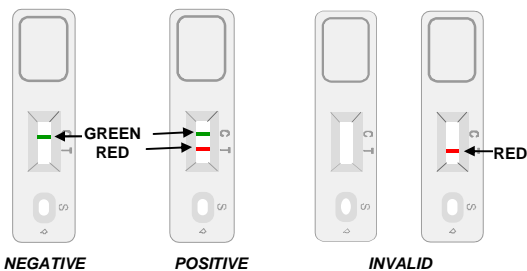
1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion. Cut the end of the top (3).
2. Remove the CerTest *H. pylori* device from its sealed bag just before using.
3. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Dispense exactly 4 drops or 100 µL into the circular window marked with an arrow, avoiding to add solid particles with the liquid (4).

In case the tests did not run due to solid particles fallen into the round window, stir the sample added or dispense a drop of extraction buffer until seeing the liquid running through the reaction zone.

- 4.- Read the result at **10 minutes** (the coloured bands appear).



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



NEGATIVE: Only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control band, a RED band (test line) also appears in the site marked with the letter T (result line).

INVALID: A total absence of the control coloured band regardless the appearance or not of the result line. Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigens in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. A green line appearing in the control region (C) is the internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique. A clear background is an internal negative background control. If the test is working properly, the background in the result area should be clear and not interfere with the ability to read the result.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
3. Some stool samples can decrease the intensity of the control line.
4. This test provides a presumptive diagnosis of *Helicobacter pylori* infections. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated must be based in the correlation of the results with further clinical observations.

PERFORMANCE

Sensitivity and specificity

It was studied some patients with the same as *H. pylori* infection symptoms. For all patient, it was performed an evaluation using CerTest *H. pylori* and a commercial available ELISA *H. pylori* assay to detect *H. pylori* infection. The results are showed:

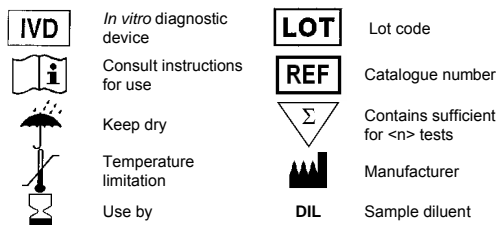
	EIA Test	
	Sensitivity	Specificity
CerTest <i>H. pylori</i>	> 94%	> 99%

The use of a mouse monoclonal antibody in CerTest *H. pylori* assures high degree of specificity for the detection of this bacteria. The antibodies used to elaborate the *H. pylori* Test recognise epitopes present in the antigen found in stool of patients, as well as in preparations from the bacteria cultures *in vitro*. Sonicated *Helicobacter pylori* extract from different commercial samples reacts with CerTest *H. pylori*.

REFERENCES

- 1- Bruce E. Dunn, Hartley Cohen & Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori*. Clin. Microbiol. Rev. **10** (4), 720-741, Oct. (1997)
- 2- Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori and gastric diseases*. BMJ; **316**: 1507-1510 (1998).
- 3- John L. Telford, Antonello Covacci, Rino Rappuoli & Paolo Ghiara. *Immunology of Helicobacter pylori infections*. Current Opinion in Immunology, **9**: 498-503 (1997).

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS



USO PREVISTO

CerTest *H. pylori* es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de *Helicobacter pylori* en heces.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una bacteria con forma espiral que se encuentra en la mucosa gástrica o adherida a la capa epitelial del estómago. Se estima que esta bacteria es el causante de más del 90% de las úlceras duodenales y por encima del 80% de los cánceres gástricos.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *H. pylori* es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Helicobacter pylori* en muestras de heces. Durante la prueba, la muestra diluida de heces reacciona con el conjugado coloreado (anticuerpos monoclonales anti-antígeno-partículas de látex coloreadas) secado previamente en la membrana de la tira de reacción. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana. Para dar el resultado como positivo, una línea de color rojo aparecerá en la zona de resultado de la membrana. La ausencia de esta línea roja sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de antígenos de *Helicobacter pylori*, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color verde (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras (no utilizar muestras acuosas o diarreas) deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4 °C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- (1) Abrir el tubo para dilución de muestra y con ayuda del palito se toma suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito en la muestra unas 4 veces tomando aprox. 250 mg de heces. Se introduce la muestra en el tubo para dilución.
- (2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



Nota: si la muestra fuera líquida tomar 250 µL con ayuda de una pipeta.

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Dispositivos de reacción (CerTest *H. pylori* card test)
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con tampón de extracción

MATERIALES NECESARIOS-NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de muestra de heces
- Guantes desechables
- Cronómetro

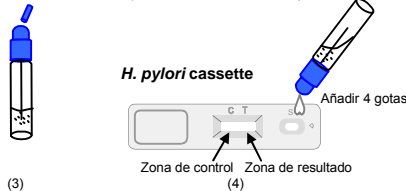
PROCEDIMIENTO

Previamente el dispositivo, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

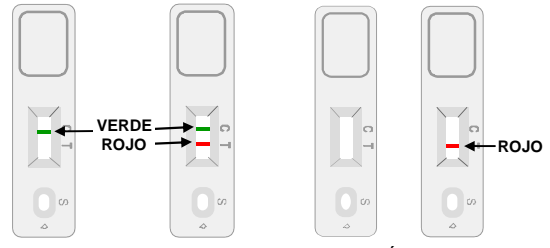
1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (3).
2. Sacar el dispositivo de reacción CerTest *H. pylori* de su envase para utilizarlo inmediatamente.
3. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Tomar 4 gotas o 100 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el dispositivo, evitando añadir partículas sólidas con el líquido (4).

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas en la ventana circular, retirarlas y añadir una gota de tampón hasta que se vea avanzar al líquido (zona de reacción y de control).

4. Leer el resultado a los **10 minutos** (las líneas coloreadas aparecen).



RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de resultado) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

INVÁLIDO: Cuando la línea de control no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado. Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea roja en la zona de resultado puede variar dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado. La claridad del fondo de la ventana es también un control interno. Si el test funciona correctamente, este fondo estará claro y no interferirá con la lectura del resultado.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.
3. Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control.
4. Esta prueba diagnóstica una posible úlcera gástrica o presencia de carcinoma gástrico causado por *Helicobacter pylori*, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad

Se estudió un cierto número de pacientes con los mismos síntomas de infección por *H. pylori*. Para todos los pacientes, se llevó a cabo una evaluación utilizando CerTest *H. pylori* test y un test ELISA para detectar la presencia de *H. pylori*. Los resultados se muestran a continuación:

	ELISA Test	
	Sensibilidad	Especificidad
CerTest <i>H. pylori</i>	>94%	>99%

El uso de anticuerpos monoclonales en la elaboración de CerTest *H. pylori* Test asegura un alto grado de especificidad para los antígenos de *H. pylori*. Los anticuerpos utilizados para elaborar esta prueba reconocen epítomos presentes en los antígenos encontrados en las muestras de heces de los pacientes, tanto como en las preparaciones provenientes de cultivos de bacterias *in vitro*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bruce E. Dunn, Hartley Cohen & Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori*. Clin. Microbiol. Rev. 10 (4), 720-741, Oct. (1997)
2. Martin J. Blaser. *Helicobacter pylori and gastric diseases*. BMJ; 316: 1507-1510 (1998).
3. John L. Telford, Antonello Covacci, Rino Rappuoli & Paolo Ghiara. *Immunobiology of Helicobacter pylori infections*. Current Opinion in Immunology, 9; 498-503 (1997).

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Número de lote
	Consultar las instrucciones de uso		Número de referencia
	Almacenar en lugar seco		Contiene <n> test
	Limitación de temperatura		Fabricante
	Fecha de caducidad		Diluyente de muestra