

1. Uso previsto

El test NADAL® H. pylori Ag es un ensayo inmunocromatográfico para detectar el antígeno *Helicobacter pylori* en muestras fecales. Este kit está diseñado para ayudar al diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

2. Introducción y significado clínico

El *Helicobacter pylori* (también conocido como *Campylobacter pylori*) es una bacteria Gram negativa de forma espiral con flagelo que infecta la mucosa gástrica. Causa muchas enfermedades gastrointestinales como la dispepsia no-ulcerosa, úlcera gástrica y duodenal, gastritis activa, y puede incluso incrementar el riesgo de adenocarcinoma estomacal. Por eso está clasificada como un agente carcinógeno de tipo I.

Se han aislado muchas variedades de *H. pylori*: entre ellas, la variedad que expresa el antígeno Cag A, altamente inmunogénica, y, por lo tanto, de gran importancia clínica ya que está asociada al factor citotóxico. Tal como se puede leer en muchos artículos, en los casos de pacientes infectados con anticuerpos contra el gen Cag A, el riesgo de cáncer gástrico es hasta 5 veces mayor que en el grupo de referencia infectado con una variedad de bacteria negativa Cag A.

La sola presencia de este gen determina la persistencia de la infección, la ulceración y la proteína asociada. La toxina Vac A es en muchos casos la causa principal de infiltraciones en la mucosa gástrica.

Este antígeno, asociado a otros, como el CAPII y el Cag C, parece actuar como agente iniciador de una respuesta inflamatoria repentina que puede provocar ulceración (úlcera péptica), episodios alérgicos, y una disminución de la eficacia de la terapia.

Actualmente hay disponibles muchos métodos invasivos y no invasivos para detectar este estado de la infección.

Las metodologías invasivas requieren una endoscopia de la mucosa gástrica con una investigación histológica, bacteriológica y de ureasa, lo cual supone un elevado coste y requiere demasiado tiempo hasta alcanzar un diagnóstico correcto final.

Alternativamente existen los métodos no invasivos, como el Test de Respiración, que es extremadamente complicado y no muy selectivo, o el ELISA clásico y los ensayos inmunogenéticos.

3. Principio del test

El test NADAL® H. pylori Ag es un ensayo de flujo lateral, rápido, preciso y de fácil utilización.

Esta prueba rápida (en heces) ha sido diseñada para detectar *Helicobacter pylori* mediante la interpretación visual del desarrollo de color en la tira interna.

Este test contiene anticuerpos específicos contra el antígeno *H. pylori*, que están inmovilizados en la membrana reactiva. Si el *H. pylori* está presente en la muestra fecal, el antígeno reacciona con el anticuerpo conjugado con partículas de oro coloidal. La mezcla se desplazará a lo largo de la membrana por acción capilar, reaccionando con los reactivos presentes en la misma. Si los antígenos de *H. pylori* son suficientes, aparecerá una línea coloreada (T) en la región de test de la membrana, indicando un resultado positivo. La ausencia de esta línea (T) indicará un resultado negativo. En ambos casos,

positivo y negativo, debe aparecer una línea coloreada en la región de control (C), indicando que el volumen de muestra ha sido suficiente y que se ha producido la reacción de la membrana.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 test casetes envasados individualmente
- 20 tubos de disolución amortiguadora (búfer)
- 1 manual de instrucciones

5. Otros materiales necesarios

- Cronómetro
- Fichas de los pacientes
- Centrifugadora
- Micropipeta

6. Almacenamiento y conservación

Conserve el kit a 2-30°C hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

No lo congele

Mantenga el dispositivo en la bolsa sellada hasta su uso.

Asegúrese de proteger los componentes del kit de la contaminación.

No utilice el test si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del equipo dispensado, recipientes o reactivos puede producir resultados falsos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- No utilice el dispositivo después de la fecha de caducidad indicada en el envase. Tampoco lo utilice si la bolsa está dañada. No lo reutilice en ningún caso.
- El kit contiene productos de origen animal. Se tiene un conocimiento certificado del origen y/o el estado sanitario de los animales pero no se puede garantizar completamente la ausencia de agentes patógenos transmisibles. Por lo tanto, se recomienda que estos productos sean tratados como potencialmente infecciosos y manejados mediante la observación de las precauciones normales de seguridad (por ejemplo, no ingerir o inhalar).
- Evite la contaminación cruzada de las muestras mediante el uso de un recipiente de recogida nuevo para cada muestra obtenida.
- Lea todo el procedimiento con cuidado antes de realizar la prueba.
- No coma, beba o fume en el área de trabajo mientras se esté realizando el análisis. Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Tenga en cuenta las instrucciones establecidas contra peligros microbiológicos y siga las pautas relativas a la eliminación de muestras.
- Utilice ropa protectora como bata, guantes desechables y gafas de protección cuando las muestras estén siendo analizadas.
- Las altas temperaturas o la humedad pueden afectar adversamente a los resultados del test.
- Los materiales usados en los ensayos deben ser desechados de acuerdo a las normas locales.

8. Toma de muestras y preparación

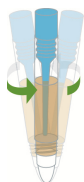
- El test NADAL® H. pylori Ag está indicado solo para utilizarse con muestras fecales humanas.
- Realice la prueba inmediatamente después de la recogida de las muestras.
- No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos prolongados. Las muestras pueden almacenarse de 2 a 8° C durante un máximo de 72 horas.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba.
- Empaque las muestras bajo las normas aplicables para el transporte de agentes etiológicos, en caso de que las muestras tengan que ser transportadas.

9. Procedimiento del test

Lleve los test, las muestras, tampones y/o controles a temperatura ambiente (15-30° C) antes de su uso.

Recogida y tratamiento previo

1. Use los tubos de disolución proporcionados con el kit de prueba para la obtención de la muestra. Los mejores resultados se obtendrán si el ensayo se realiza dentro de 6 horas después de la recogida.
2. Desenrosque y retire el aplicador del tubo de disolución. Tenga cuidado de no derramar o salpicar solución del tubo. Recoja las muestras insertando el aplicador en al menos 3 sitios diferentes de las heces para recoger aproximadamente 50 mg de muestra (equivalente a 1/4 de un guisante).
3. Coloque el aplicador en el tubo y cierre girando la tapa. Tenga cuidado de no romper la punta del tubo de disolución.
4. Agite el tubo de recogida de la muestra enérgicamente para mezclar la muestra y el tampón de extracción.



Procedimiento

1. Retire el test de su bolsa sellada y colóquelo sobre una superficie limpia y plana. Etiquételo con el nombre del paciente o su identificación de control. Para obtener un mejor resultado, el test debe realizarse antes de una hora desde la recogida de la muestra.
2. Utilizando un pañuelo de papel, rompa la punta del tubo de disolución. Mantenga el tubo vertical y dispense 2 gotas de la solución en la ventana para la muestra (S) del dispositivo de test. Evite que queden atrapadas burbujas de aire en la ventana (S) y asegúrese de que no caiga parte de la muestra en la ventana de resultados. A medida que la muestra se desplace, podrá observar que el color de la membrana cambia.
3. Espere a que aparezca la(s) línea(s) coloreada(s). Debe leer el resultado a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.



Nota: si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue la muestra extraída en el tubo. Recoja 80 µl de sobrenadante, dépositelo en la ventana para la muestra (S) de un

nuevo dispositivo de test y empiece el procedimiento de nuevo siguiendo las instrucciones mencionadas anteriormente.

10. Interpretación de resultados

Positivo:

Aparecen 2 líneas coloreadas. Una línea aparece en la región de control (C) y otra en la región del test (T).



Negativo:

En la ventana de lectura solo aparece 1 línea en la región de control (C). No aparecerá ninguna línea en la región del test (T).



No válido:

La línea de control no aparece. Los resultados de cualquier prueba donde no aparezca una línea en la región de control (C) deben ser desechados. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo. Si el problema persiste, deje de utilizar ese kit inmediatamente y contacte a su distribuidor local.



Nota: la intensidad del color en la región de test (T) puede variar dependiendo de la concentración de los analitos presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de test debe ser considerado resultado positivo. Tenga en cuenta que este ensayo solamente es cualitativo, y no puede determinar la concentración de analitos en la muestra.

Las razones más frecuentes por las que no aparece la línea de control del test pueden ser un volumen insuficiente de muestra, un procedimiento incorrecto o la utilización de test caducados.

11. Control de calidad

El test NADAL® H. pylori Ag incluye un control interno del procedimiento. En la región de control (C) aparece una línea coloreada que actúa como un procedimiento de control interno positivo, confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento es correcto.

No se suministran controles externos con este kit. En el marco de las *Buenas Prácticas de Laboratorio*, se recomienda realizar controles positivos y negativos para confirmar el correcto procedimiento y verificar el rendimiento de la prueba.

12. Limitaciones

- El test NADAL® H. pylori Ag está indicado para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*, y se debe utilizar únicamente para la detección cualitativa de *Helicobacter pylori*.
- Después de ciertos tratamientos con antibióticos, la concentración de antígenos de *H. pylori* puede verse disminuida hasta estar por debajo del punto de corte del test. Por lo tanto, el diagnóstico debe hacerse con precaución durante el tratamiento con antibióticos.

- Como con todas las pruebas de diagnóstico, nunca debe basarse un diagnóstico clínico definitivo en los resultados de un único ensayo, sino que debe ser establecido por el médico después de evaluar todos los datos clínicos y de laboratorio.

13. Características de rendimiento

Tabla: el test NADAL® H. pylori Ag vs. Biopsia/Histología/RUT

Biopsia/ Histología/ RUT	Test NADAL® H. pylori Ag		
	+	-	Total
	+	132	0
-	0	154	154
Total	132	154	286

Sensibilidad relativa: >99.9% (97.3% - 100.0%)*

Especificidad relativa: >99.9% (97.6% - 100.0%)*

Acuerdo general: >99.9% (98.7% - 98.8%)*

*95% Intervalo de confianza

Especificidad:

Las reacciones cruzadas de los siguientes patógenos se probaron en concentraciones de 10^9 organismos/ml. Los siguientes organismos resultaron negativos cuando se analizaron con el test NADAL® H. pylori Ag (Heces):

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
Grupo C <i>Streptococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Branhamella catarrhalis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Acinetobacter spp</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
Grupo B <i>Streptococcus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Hemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Rotavirus</i>

14. Referencias

1. Marshall, BJ, McGeachie, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med. J. Australia. (1985), 149: 439-44.
2. Soll, AH. Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. New England J. Med. (1990), 322: 909-16.
3. Hazell, SL, et al. Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Amer. J. Gastroenterology. (1987), 82(4): 292-96.
4. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. Am j. Med. 1996; 100:355-415.
5. Anand BS, Raed AK, Malaty HM, et al. Loe point prevalence of peptic ulcer in normal individual with Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 1996;91:1112-1115.

Rev. 1, 2014-08-05 MP