

Test en une étape**Résultats visuels Rapides****Test de diagnostic qualitatif réservé à l'usage in vitro****DOMAINE D'UTILISATION**

Le test Instant-View® *H. pylori* sang total/sérum est un test rapide qualitatif de dosage immunochromatographique. Il est destiné aux laboratoires d'analyses médicales pour détecter la présence d'anticorps IgG spécifiques à *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) dans le sang ou le sérum humain. Il fournit une aide au diagnostic de l'infection par *H. pylori*. Ce test a été évalué pour une utilisation avec des échantillons de sérums d'adultes à partir de 19 ans.

INTRODUCTION

Helicobacter pylori a été associé à une variété de maladies gastro-intestinales telles que la gastrite, l'ulcère duodénal et gastrique, dyspepsie non ulcéreuse, l'adénocarcinome gastrique et le lymphome.¹⁻³ Le rôle exact de *H. pylori* dans les maladies gastro-intestinales doit encore être défini de façon précise et fait toujours l'objet de recherches. Toutefois, le taux de prévalence de l'infection par *H. pylori* comme démontré par des méthodes histologiques et bactériologiques peut approcher 90% chez les patients qui présentent des symptômes cliniques des maladies gastro-intestinales énumérés ci-dessus. *H. pylori* ne semble pas envahir la circulation sanguine, car aucun des isolats testés avec les méthodes commerciales de culture au sang n'a mis en évidence la bactérie. Les infections *H. pylori* se produisent dans toutes les populations à travers le monde. Dans les pays développés, environ 50% de la population peut avoir une infection à *H. pylori* après l'âge de 60 ans, tandis que seulement 10-20% des adultes trentenaires en ont.^{4,5}

Pour les patients qui présentent des symptômes cliniques liés au tractus gastro-intestinal, il existe deux méthodes principales d'enquête: invasive et non invasive. Les méthodes invasives comprennent la culture d'échantillons de biopsie gastrique, l'examen histologique par coloration d'une biopsie, ou la détection directe de l'activité de l'uréase dans la biopsie (test CLO). Ces méthodes nécessitent un échantillon de biopsie obtenue par endoscopie, ce qui est coûteux, et présente généralement une gêne ou un risque pour le patient. Les techniques non invasives comprennent des tests respiratoires à l'urée et des méthodes sérologiques. Les tests respiratoires à l'urée nécessitent l'utilisation d'une faible quantité de radioactivité et d'un spectromètre de masse. Les tests sérologiques sont utilisés pour détecter les anticorps de la réponse immunitaire humaine à *H. pylori*. Deux méthodes semblent être d'un grand intérêt quant à leur utilisation dans la sérologie *H. pylori* de routine, à savoir le test ELISA et le Western immunoblot parce qu'elles offrent le plus de polyvalence en ce qui concerne la spécificité des immunoglobulines et de la facilité relative d'utilisation.⁵

Ce test *H. pylori* sang total/sérum cassette permet la détection des anticorps IgG spécifiques à l'infection à *H. pylori* dans le sang ou le sérum du patient. C'est une méthode non invasive et qui n'utilise pas des isotopes radioactifs. Les procédures de test sont faciles, ne nécessitent pas de formation professionnelle, et elles fournissent un résultat rapide. C'est un test utile sur site dans le diagnostic de l'infection à *H. pylori*.

PRINCIPE DU TEST

Ce test est basé sur un dosage immunochromatographique déterminé par 2 antigènes. La bandelette de test dans la cassette comprend: 1) un conjugué de couleur bourgogne contenant de l'or colloïdal couplé avec des antigènes *H. pylori*, et 2) une membrane de nitrocellulose contenant une ligne de test (ligne T) et une ligne de contrôle (ligne C). La ligne T est recouverte d'antigènes de *H. pylori*, et la ligne C est recouverte d'anticorps de chèvre anti-*H. pylori*. Les antigènes utilisés dans ce dispositif sont des lysats cellulaires *H. pylori*.

Quand les anticorps IgG spécifiques à *H. pylori* sont présents dans l'échantillon, la ligne T deviendra une bande de couleur bourgogne. Si les anticorps anti *H. pylori* ne sont pas présents ou en quantité inférieure au seuil de détection, aucune ligne T ne va apparaître. La ligne C devrait toujours apparaître comme une bande de couleur bourgogne indépendamment de la présence d'anticorps dirigés contre *H. pylori*. La ligne C sert de contrôle qualitatif interne du test pour indiquer qu'un volume adéquat d'échantillon a été appliqué et que la migration s'est bien réalisée.

RÉACTIFS FOURNIS

- 25 cassettes, chacune scellée dans une pochette avec une pipette compte-gouttes.
- 1 bouteille de tampon de lavage-7 ml de diluant PBS avec 0,02% d'azide de sodium comme conservateur.
- 1 notice (instruction d'emploi).

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Lancettes ou tout autre dispositif de collecte du sang
- Minuteur

CONSERVATION

Conserver à +15/+30°C. Le contenu du kit est stable pendant 2 ans ou jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Des températures de plus de +30°C peuvent réduire la durée de conservation ou endommager les cassettes. La congélation à -70°C ne causera pas de dommages.

Ne pas congeler et/ou exposer le kit à des températures de plus de +30°C**PRÉLEVEMENT ET STOCKAGE****1. Sérum**

- Suivre les procédures de laboratoire standard pour recueillir des échantillons de sérum.

- Les échantillons de sérum peuvent être conservés à +9/+30°C pendant 8 heures, à 2°-8°C pendant une semaine, et à ≤ -20°C pour le stockage à long terme. Les spécimens congelés/décongelés plusieurs fois ne sont pas recommandés pour ce test.

- Les sédiments dans les échantillons de sérum doivent être éliminés par centrifugation. Éviter d'utiliser des spécimens troubles, qui peuvent être contaminés par des microorganismes.

2. Sang total

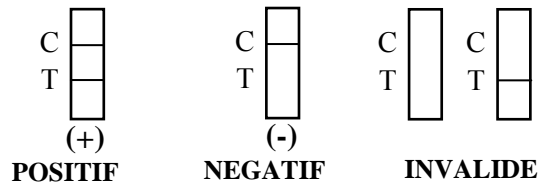
- Le prélèvement par lancette sur le doigt est recommandée pour ce test
- Les sites de ponction recommandés sont le majeur ou l'annulaire.
- Nettoyer le doigt du patient avec un coton imbibé d'alcool. Attendez jusqu'à ce qu'il soit sec.
- Percer le bout du doigt avec la lancette. Essuyer la première gouttelette de sang.
- Frotter doucement la main en palpant le doigt pour aider à former une goutte de sang sur le site perforé.
- Utiliser la pipette pour prélever le sang, et déposer une goutte de sang dans le puits échantillon de la cassette. Ensuite, suivre la procédure.

PRÉCAUTIONS

1. Les instructions doivent être respectées pour obtenir des résultats précis.
2. Les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux et manipulés comme du matériel biologique dangereux.
3. Pour chaque spécimen, utiliser une pipette jetable, et un dispositif de test unique. Ne pas réutiliser la pipette et la cassette.
4. Ne pas utiliser le kit après la date de péremption qui figure sur l'étiquette.

PROCÉDURE

1. Les échantillons réfrigérés et les autres fournitures, dont les cassettes, **doivent être amenés à température ambiante avant le test.**
2. Retirer le dispositif de son sachet avant de réaliser le dosage. Identifier la cassette.
3. Ajouter une goutte de sang frais ou de sérum au puits échantillon marqué "S". **Prévoir environ 30 secondes pour que tout soit absorbé.** Jeter les trois premières gouttes de tampon de lavage de la bouteille compte-goutte. Ensuite, ajouter trois gouttes de tampon de lavage dans le puits échantillon.
4. Les résultats fortement positifs peuvent être observés dans les 2-3 minutes. Des résultats faiblement positifs peuvent être plus long à apparaître, jusqu'à 7 minutes. **NE PAS INTERPRÉTER LES RESULTATS APRES 7 minutes.** Pour le test sur sang total, une hémolyse légère pourrait être observée, mais elle n'interfère pas avec les résultats.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**Positif:**

Si les deux lignes, la ligne C et la ligne T apparaissent, le résultat indique que les anticorps IgG spécifiques à *H. pylori* sont détectés et le résultat est positif.

Une ligne floue dans la région de test T indique un spécimen équivoque, qui devrait être re-testé en utilisant une méthode alternative pour la confirmation.

Négatif:

Si seule la ligne C apparaît dans la zone de contrôle, le test indique qu'aucun anticorps anti-*H. pylori* n'est détecté et le résultat est négatif.

Invalide:

Si aucune ligne de contrôle n'apparaît dans les 5 minutes, répéter le test avec un nouveau dispositif.

PROCÉDURE DE CONTRÔLE DE QUALITÉ**• Contrôle qualité du test**

Ce test contient un contrôle de la qualité interne, la ligne C. L'apparition de la ligne de couleur bourgogne sur la ligne C indique qu'un volume adéquat d'échantillon et de tampon de lavage a été distribué et que la migration a eu lieu.

• Contrôle de qualité externe

Les contrôles externes positifs et négatifs sont recommandés, afin de surveiller les performances du dosage.

LIMITATIONS

Ce test est un test qualitatif destiné aux professionnels du diagnostic uniquement. Un résultat positif ne permet pas de faire la distinction entre une infection active et la colonisation de *H. pylori*. Par conséquent, les résultats positifs doivent toujours être confirmés par d'autres méthodes à la disposition du médecin. Ce test n'a pas été évalué pour les patients de moins de 19 ans.

Les références bibliographiques ont suggéré des réactivités croisées d'anticorps IgG avec d'autres organismes étroitement liés tels que *Borrelia burgdorferi* et les espèces de *Pseudomonas*. Toutefois, ce test n'a pas été évalué pour ces organismes et par conséquent, la spécificité de ce dispositif vis-à-vis de ces organismes n'est pas connue.

VALEURS ATTENDUES

Les infections *H. pylori* se produisent dans toutes les populations à travers le monde, mais la prévalence de l'infection dans la population varie avec l'âge, les normes d'hygiène, de régions géographiques, et le statut socio-économique. Dans les pays développés, environ 50% de la population peut avoir une infection à *H. pylori* après l'âge de 60 ans, tandis que seulement 10-20% des adultes trentenaires en ont. Les populations des pays en développement ont tendance à avoir une meilleure prévalence⁵.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

A. Sensibilité et Spécificité

Ce dispositif a été évalué sur 296 échantillons de sérum, confirmés cliniquement : 144 positifs et 152 négatifs. Tous les spécimens ont été identifiés en aveugle. Les évaluations ont été menées en interne.

		Résultats cliniques confirmés		Total
		Positif	Négatif	
Instant-View®	Positif	137	9	146
	Négatif	7	143	150
Total		144	152	296

La sensibilité de ce test est de 95,1% (137/144) et la spécificité est de 94,1% (143/152).

B. Comparaison avec un dispositif commercial.

Une étude comparative entre Instant-View® *H. Pylori* Sang/sérum et un dispositif commercial a été menée. Deux cent quatre-vingt-seize (296) sérums cliniques ont été évalués avec l'Instant-View® *H. pylori* sang total/sérum test et le dispositif commercial. Les résultats ont été résumés dans le tableau ci-dessous.

		Test <i>H. pylori</i> commercial		Total
		Positif	Négatif	
Instant-View®	Positif	142	4	146
	Négatif	3	147	150
Total		145	151	296

La concordance entre ces deux tests est de 97,9% (142/145) pour les échantillons positifs, et 97,4% (147/151) pour les échantillons négatifs. Cette étude a démontré que Instant-View® *H. pylori* Rapide Test Sang/sérum est substantiellement équivalent au dispositif commercial.

C. Comparaison avec Instant-View® *H. pylori* Sérums cassette test

Deux cent quatre-vingt-seize (296) sérums cliniques, composés de cent quarante-quatre (144) positifs et de cent cinquante-deux (152) négatifs, ont été étiquetés en aveugle et testés avec le kit Sérums et le kit Sang/Sérums. Les résultats ont été résumés dans le tableau ci-dessous.

		Test Sang total/Sérums		Total
		Positif	Négatif	
Test Sérums	Positif	146	1	147
	Négatif	0	149	149
Total		146	150	296

La cassette Sang total/Sérums et la cassette Sérums ont montré une concordance de 99,3% (146/147) pour des spécimens positifs et 100% (149/149) pour des spécimens négatifs. Ces résultats indiquent que les deux formats sont équivalents.

D. Réactivité croisée et Interférences

- D'autres micro-organismes étroitement liés ont été évalués pour une possible réactivité croisée avec le test. Les protéines de ces micro-organismes ont été ajoutées dans des échantillons de *H. pylori* positif et négatif à une concentration élevée et testés séparément. Aucuns des micro-organismes concernés n'ont modifié les résultats des tests, positifs ou négatifs.

Analytes	Conc. (mg/ml)	Spécimens	
		Positif	Négatif
E. coli	10	+	-
C. coli	10	+	-
C. jejuni	10	+	-
C. fetus	10	+	-
Proteus	10	+	-
N. gonorrhoea	10	+	-
Streptococcus	10	+	-
Staphylococcus	10	+	-

- Des substances endogènes, notamment des composants du sérum, comme les lipides, l'hémoglobine, la bilirubine, ont été ajoutés à des concentrations élevées dans des échantillons de *H. pylori* positifs et négatifs et ont été testés séparément pour évaluer une potentielle réaction croisée. Aucune réactivité croisée ou interférence n'a été observée avec le test.

Analytes	Conc.	Spécimens	
		Positif (+)	Négatif (-)
Albumine	20 mg/ml	+	-
Bilirubine	10 □g/ml	+	-
Hémoglobine	15 mg/ml	+	-
Glucose	20 mg/ml	+	-
Acide Urique	200 □g/ml	+	-
Lipides	20 mg/ml	+	-

- Certains autres analytes biologiques communs ont été ajoutés dans des échantillons de *H. pylori* positifs et négatifs et ont été testés séparément. Aucune interférence significative n'a été observée aux niveaux indiqués dans le tableau ci-dessous.

Analytes	Conc. (µg/ml)	Spécimens	
		Positif (+)	Négatif (-)
Paracetamol	200	+	-
Acide Acetoacétique	200	+	-
Acide Acétylsalicylique	200	+	-
Benzoylécgonine	100	+	-
Caféine	200	+	-
DMSO	5 %	+	-
EDTA	800	+	-
Ethanol	1.0 %	+	-
Acide Gentsique	200	+	-
β - Hydroxybutyrate	20,000	+	-
Méthanol	10.0 %	+	-
Phenothiazine	200	+	-
Phenylpropanolamine	200	+	-
Acide Salicylique	200	+	-












E. Reproductibilité


Des études de reproductibilité ont été effectuées sur Instant-View® *H. pylori* Sérums test par trois laboratoires médicaux (POL). Soixante (60) échantillons de sérums cliniques, 20 négatifs, 20 positifs borderline et 20 positifs, ont été utilisées dans cette étude. Chaque spécimen a été testé en trois exemplaires, sur trois jours à chaque laboratoire. Les concordances intra-essais ont été de 100% sur deux sites, et 99,4% sur un site. Les concordances inter-essais ont été de 100% sur deux sites et de 99,8% sur un site. La concordance inter-sites a été de 99,9%.

En outre, l'Instant-View® *H. pylori* sang total/sérum test a été évalué avec un panel de soixante (60) échantillons de sérums cliniques et un panel de soixante (60) échantillons de sang total dopés avec différents niveaux d'anticorps IgG spécifiques à *H. pylori*. Dans chaque groupe, il y avait vingt (20) négatifs, vingt (20) équivoques ou positifs, et vingt (20) positifs. Les échantillons ont été identifiés en aveugle et testés par trois laboratoires (POL). En résumé, les résultats obtenus sont les mêmes que prévu pour tous les spécimens et sur tous les sites d'évaluation, sauf un échantillon équivoque positif qui a été manqué sur un seul site. La concordance pour les prélèvements de sérum clinique est de 100% sur les trois sites d'évaluation. La concordance pour les prélèvements de sang total a été de 100% sur deux sites et 98,3% sur un site.

REFERENCE

- O'Connor, JH., Helicobacter pylori and gastric cancer: a review and hypothesis. Eur. J. Gastro. Hepa. 1992; 6: 103-109.
- McGuigan JE., Peptic ulcer and gastritis. In Harrison's Principles of Internal Medicine, 12th Edition, 1988, Chapter 238, 1229-1248.
- Cover TL. and Blaser MJ., Helicobacter pylori: A Bacterial Cause of Gastritis, Peptic Ulcer Disease, and Gastric Cancer. ASM News, 1995; 61: 21-26.
- Podolsky I, Lee E, Cohen R, Peterson WL. Prevalence of C. pylori in healthy subjects and patients with peptic diseases. Gastroenterology 1989; 96: Suppl: A394. abstract.
- Kist M., Immunology of Helicobacter pylori. In Helicobacter pylori in peptic ulceration and gastritis, edited by Marshall BJ., McCallum RW., and Guerrant RL., 1991, Chapter 8, 92-110.

 18°C - 30°C	Températures limites de conservation		Date d'expiration
	Numéro de lot		Pour le diagnostic <i>in vitro</i> uniquement
	Fabricant		Référence produit
	Contient suffisamment pour < n > tests		Lire les instructions d'utilisation
	A usage unique		Déclaration de conformité CE
	Attention, consulter les documents accompagnants		

ALFA SCIENTIFIC DESIGNS INC.
 POWAY, CA 92064 - USA
 MADE IN USA
 **9494**

 **EC REP**

Obelis s.a
 Avenue de Tervueren,
 34, Bte 44
 B-1040 Brussels
 Tel.: +32.2.732.59.54
 Fax: +32.2.732.60.03
 Email: mail@obelis.net