



DyonHpAb®triple (H. pylori Ab IgG, IgM, IgA)

No. Καταλόγου: DNWA101

Ταχεία δοκιμασία ποιοτικής ανίχνευσης αντισωμάτων IgG, IgM, IgA
Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού σε δείγματα ολικού αίματος, τριχοειδικού αίματος, ορού ή πλάσματος

ΣΥΝΩΜΗ

Η **DyonHpAb®triple (H. pylori Ab IgG, IgM, IgA)** είναι μια ταχεία δοκιμασία ανοσοχρωματογραφίας για τη ποιοτική ανίχνευση ανθρώπινων αντισωμάτων IgG, IgM, IgA έναντι του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού σε δείγματα ολικού αίματος, τριχοειδικού αίματος, ορού ή πλάσματος.

Το Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*, γνωστό και ως *Campylobacter pylori*) είναι ένα σπειροειδώς διαμορφωμένο, Gram-αρνητικό βακτήριο με χαρακτηριστικά μαστίγια που προσβάλλει το γαστρικό βλεννογόνο, όπου μπορεί να παρασιτεί για χρόνια χωρίς απαραίτητα να προκαλεί συμπτώματα. Ασαφείς παράγοντες όπως το στρες, το χαμηλό pH ή η κατανάλωση τροφών πλούσιων σε καρυκεύματα δύνανται να ενεργοποιήσουν το μικρόβιο οδηγώντας σε πολλαπλές γαστρεντερικές παθήσεις: γαστρικό και δωδεκαδακτυλικό έλκος, ενεργή γαστρίτιδα, μη-ελκώδη δυσπεψία, καταλήγοντας σε κάποιες περιπτώσεις σε αδενοκαρκίνωμα του στομάχου. Ο Διεθνής Οργανισμός Έρευνας για τον Καρκίνο (International Agency for Research on Cancer- IARC) και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization -WHO) ταξινομούν το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*H. pylori*) ως καρκινογόνο παράγοντα τύπου 1 και αυστηρά προτείνουν – συιστούν τον προσδιορισμό και την θεραπεία του (Atherton and Blaser, 2009; Dorer et al, 2009).

Το Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού παρασιτεί σε όλο τον πλανήτη και ο επιπολασμός του σχετίζεται με ηλικία, γενετικούς, οικονομικούς, κοινωνικούς και άλλους παράγοντες (Atherton and Blaser, 2009). Από 80% έως 100% των ασθενών με γαστρικό έλκος είναι θετικοί για το μικρόβιο. Πέρα από τις προφανείς περιπτώσεις ανάγκης ανίχνευσης των παραπάνω παθήσεων συνιστάται απευθείας έναρξη θεραπείας (test and treat strategy) επί επιβεβαίωσης λοίμωξης με ταχείες δοκιμασίες σε ειδικούς πληθυσμούς (Chey & Wong, 2007). Ενεργή αντιμετώπιση του μικροβίου με αντιβιοτικά φαίνεται να έχει οδηγήσει στη μείωση του επιπολασμού του μικροβίου στις ΗΠΑ, με αποτέλεσμα και την ταυτόχρονη μείωση στη συχνότητα νοσηλείας και ενδονοσοκομειακής παραμονής (Feinstein et al, 2010).

Ανίχνευση λοίμωξης από το Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού επιτυγχάνεται με επεμβατικές και μη επεμβατικές προσεγγίσεις. Η χρήση μεθόδων point of care, οι οποίες ανιχνεύουν αντισώματα έναντι Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού απευθείας σε δείγματα αίματος, χρησιμοποιούνται ευρέως στην κλινική πρακτική. Οι μέθοδοι point of care πλεονεκτούν λόγω ταχύτητας, ευκολίας, ακρίβειας και επαναληψιμότητας στη χρήση, σε αντίθεση με τις λοιπές μη επεμβατικές μεθόδους (π.χ. δοκιμασίες αναπνοής με σεσημασμένα ισότοπα, ELISA και μέθοδοι ανοσοαποτύπωσης) οι οποίες είναι περίπλοκες, χρονοβόρες και με υψηλό κόστος.

Διεθνείς οδηγίες προτείνουν ανίχνευση IgG αντισωμάτων για την επιβεβαίωση λοίμωξης από Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (Chey & Wong, 2007; Malfertheiner et al, 2007). Στις σπάνιες όμως περιπτώσεις οξείας λοίμωξης, η ανίχνευση IgM αντισωμάτων είναι δυνατό να φανεί χρήσιμη και υποβοηθητική (She et al, 2009). Επιπλέον, μελέτες έδειξαν ότι η παρουσία IgA αντισωμάτων ανιχνεύει περιπτώσεις λοίμωξης με Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού όπου τα IgG είναι αρνητικά (Urita et al, 2004). Συνεπώς η προσθήκη του ισότυπου IgA κρίνεται σκόπιμο να συμπεριληφθεί στις ταχείες δοκιμασίες ανίχνευσης Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού, για να χρησιμοποιηθεί από τον ειδικό γιατρό σε περιπτώσεις που χρήζουν αυξημένης διερεύνησης.

Η **DyonHpAb®triple (H. pylori Ab IgG, IgM, IgA)** είναι μια ταχεία, μη επεμβατική, εξαιρετικά ακριβής και εύκολη στην εκτέλεση ποιοτική δοκιμασία που επιτρέπει στον επαγγελματία υγείας να ανιχνεύσει ανθρώπινα αντισώματα IgG, IgM, IgA έναντι του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού σε δείγματα ολικού αίματος, τριχοειδικού αίματος, ορού ή πλάσματος.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η **DyonHpAb®triple** είναι μια ποιοτική ανοσοδοκιμασία του τύπου sandwich κολλοειδούς χρυσού για την ανίχνευση αντισωμάτων IgG, IgM, IgA έναντι του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού. Η μέθοδος χρησιμοποιεί μια μεμβράνη επικαλυμμένη με αντισώματα προκειμένου να ανιχνεύσει αντισώματα έναντι του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού στα κόρηνα επιλεκτικά και με μεγάλο βαθμό ευαισθησίας. Κατά την εκκίνηση της εξέτασης το δείγμα αναμειγνύεται με το σύμπλοκο του χρωμοφόρου και αρχίζει να μετακινείται διαμέσου της μεμβράνης. Αν το δείγμα περιέχει αντίσωμα, αυτό θα αλληλεπιδράσει με το προ-κεκαλυμμένο σύμπλοκο του χρωμοφόρου, οπότε θα εμφανιστεί μια έγχρωμη (μωβ) γραμμή στη Ζώνη Εξέτασης (T). Τόσο τα αρνητικά όσο

και τα θετικά δείγματα θα πρέπει να δημιουργήσουν μια έγχρωμη γραμμή (μωβ) στη Ζώνη Ελέγχου (C), γεγονός που ενδεικνύει σωστή εκτέλεση της τεχνικής, όγκο δείγματος, και λειτουργία της εξέτασης.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύστε το kit σε θερμοκρασία 2-30°C. Αν το kit ήταν αποθηκευμένο στο ψυγείο, θα πρέπει να μεταφερθεί σε θερμοκρασία δωματίου πριν διεξαχθεί η εξέταση. Υπό αυτές τις συνθήκες το kit είναι σταθερό ως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

Κάθε kit περιέχει 1 ατομική συσκευασία (ή πολλαπλάσιά της), ως εξής:

- Ακίδα Σκαριφισμού
- Φιαλίδιο με Διάλυμα Αραίωσης
- σφραγισμένη πλαστική συσκευασία με την κασέτα εξέτασης
- 1 εσώκλειστο

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

A. Συλλογή Ολικού Αίματος, Ορού ή Πλάσματος: Ολικό φλεβικό αίμα που συλλέχθηκε με κλασσικές μεθόδους αιμοληψίας παρουσία αντιπηκτικού θα πρέπει να ελεγχθεί μέσα σε 24 ώρες από τη συλλογή. Ενδιάμεσα το δείγμα μπορεί να φυλαχθεί στο ψυγείο. Ο ορός ή το πλάσμα θα πρέπει να διαχωρίζονται άμεσα προκειμένου να αποφευχθεί αιμόλυση, τα δε προκύπτοντα δείγματα θα πρέπει να εξετάζονται άμεσα μετά το διαχωρισμό. Ορός και το πλάσμα μπορούν να αποθηκευτούν στο ψυγείο έως 3 ημέρες, ενώ μακροπρόθεσμα θα πρέπει να αποθηκεύονται στην κατάψυξη (-20°C).

B. Συλλογή Τριχοειδικού Αίματος.

1. Αφαιρέστε το κίτρινο στέλεχος από την ακίδα σκαριφισμού ώστε να την απασφαλίσετε.
2. Απολυμάνετε το άκρο του δακτύλου του ασθενή με λίγο οινόπνευμα. Μαλλάξτε το άκρο του δακτύλου ώστε να αυξηθεί η κυκλοφορία του αίματος.
3. Εφαρμόστε την απασφαλισμένη ακίδα στο δάκτυλο. Στη θέση αυτή δεν υπάρχει επαφή της ακίδας με το δάκτυλο.
4. Πιέστε αποφασιστικά το κίτρινο κουμπί της κορυφής της ακίδας
5. Μετά το σκαριφισμό μαλλάξτε το τρυπημένο σημείο ώστε να εμφανιστεί 1 μεγάλη σταγόνα αίματος. Το τριχοειδικό αίμα πρέπει να χρησιμοποιηθεί άμεσα.

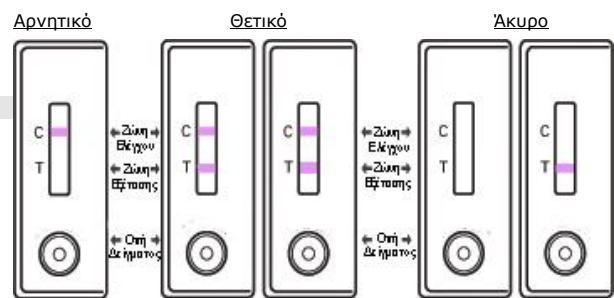
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ-ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Πριν την εξέταση, βεβαιωθείτε ότι η πλαστική συσκευασία με την κασέτα εξέτασης έχει έλθει σε θερμοκρασία δωματίου. Η κασέτα εξέτασης θα πρέπει να απασφραγίζεται μόνο λίγο πριν την εξέταση.

6. Γυρίστε ανάποδα το τρυπημένο δάκτυλο του ασθενή και πιέστε το ώστε 1 σταγόνα (25μl) ορού ή πλάσματος ή 1 πίπτουσα σταγόνα τριχοειδικού (ή ολικού) αίματος να πέσει μέσα στην ειδική στρόγγυλη οπή της κασέτας εξέτασης.
7. Αμέσως ανοίξτε το Φιαλίδιο Αραίωσης και ρίξτε 3 σταγόνες Διαλύματος Αραίωσης στην ειδική στρόγγυλη οπή της κασέτας.
8. Ξεκινήστε το χρονόμετρο (δεν περιέχεται στη συσκευασία).
9. Παρατηρήστε το διαλυτοποιημένο δείγμα σαν ένα κόκκινο-μωβ μέτωπο που μετακινείται προς τις ζώνες (T) και (C). Ερμηνεύστε τα αποτελέσματα στα 10 λεπτά. Μην ερμηνεύετε μετά από 15 λεπτά.

Θετικά Αποτελέσματα = 2 έγχρωμες γραμμές.

Η εξέταση είναι θετική για αντισώματα Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού εφόσον εμφανίζονται 2 έγχρωμες γραμμές. Μία έγχρωμη μωβ γραμμή θα εμφανιστεί στη Ζώνη Εξέτασης (T) και μία μωβ στη Ζώνη Ελέγχου (C). Αυτό ενδεικνύει την παρουσία αντισωμάτων του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού στο αίμα του ασθενή. Οποιασδήποτε έγχρωμη γραμμή στη Ζώνη (T) αντιστοιχεί σε θετικό αποτέλεσμα. Η ένταση του χρώματος στη Ζώνη (T) μπορεί να είναι εντονότερη ή αχνότερη από την ένταση του χρώματος στη Ζώνη (C).



Αρνητικά Αποτελέσματα = 1 έγχρωμη γραμμή

Η εξέταση είναι αρνητική εφόσον (1) έγχρωμη γραμμή εμφανίζεται



στη Ζώνη Ελέγχου (C). Η ερμηνεία αρνητικού αποτελέσματος διασφαλίζεται στα 15 λεπτά.

Άκυρο = Απουσία έγχρωμης γραμμής στη Ζώνη Ελέγχου (C)

Το τεστ είναι άκυρο εφόσον μετά από 15 λεπτά δεν εμφανιστεί καμία γραμμή στη Ζώνη Ελέγχου (C), ακόμα και αν μια έγχρωμη γραμμή έχει εμφανιστεί στη Ζώνη Εξέτασης (T). Αν συμβεί αυτό ξαναδιαβάστε τις οδηγίες και επαναλάβετε το τεστ χρησιμοποιώντας μια νέα συσκευή. Στην περίπτωση που το πρόβλημα επιμένει επικοινωνήστε με την Dyonmed S.A.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Λάβετε προφυλάξεις αναφορικά με τη συλλογή, διαχείριση, αποθήκευση και απόρριψη των δειγμάτων και χρησιμοποιημένων συστατικών του kit. Χειριστείτε όλα τα δείγματα σαν να περιέχουν μολυσματικούς παράγοντες. Λάβετε προφυλάξεις ενάντια στους μικροβιολογικούς κινδύνους σε όλη τη διαδικασία. Εφαρμόστε τυποποιημένες διαδικασίες για την κατάλληλη απόρριψη των δειγμάτων. Η λειτουργία της συσκευής δεν επηρεάζεται από γνωστούς περιβαλλοντικούς παράγοντες πλην της θερμοκρασίας.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Τα αποτελέσματα της εξέτασης **DyonHrAb[®]triple** θα πρέπει να συνεκτιμώνται με άλλα συμπτώματα, κλινικά ευρήματα ή διαγνωστικά αποτελέσματα προκειμένου να τεθεί διάγνωση.
2. Καμία ταχεία δοκιμασία δεν μπορεί να αποκλείσει την παρουσία του μικροβίου, ειδικά στην αρχή της λοίμωξης.
3. Η δοκιμασία δεν διαφοροποιεί μεταξύ IgG, IgM ή IgA. Συνεπώς, τουλάχιστον μία από τις παραπάνω κλάσεις αντισωμάτων είναι παρούσα επί θετικών αποτελεσμάτων.
4. Αρνητικά αποτελέσματα που δεν συνάδουν με συμπτωματολογία πεπτικών νοσημάτων θα πρέπει να οδηγούν σε επανέλεγχο ή περαιτέρω έλεγχο.
5. Θετικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε ενεργή μόλυνση ή λανθάνον μικρόβιο, οπότε δεν ενδεικνύουν υποχρεωτικά γαστρεντερικές παθήσεις.
6. Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας ισχύουν μόνο εφόσον τα περιεχόμενα της συσκευασίας είναι σε καλή κατάσταση.
7. Η συσκευή **DyonHrAb[®]triple** είναι για μια μόνο χρήση. Στην περίπτωση που ένα διαλυτοποιημένο δείγμα πρέπει να επανελεγχθεί χρησιμοποιήστε μια άλλη συσκευή.
8. Η δοκιμασία **DyonHrAb[®]triple** απευθύνεται αποκλειστικά σε επαγγελματίες υγείας.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Εσωτερικός Ποιοτικός Έλεγχος: Η έγχρωμη γραμμή που εμφανίζεται στη Ζώνη (C) είναι ένα εσωτερικό control της διαδικασίας. Βεβαιώνει σωστό όγκο δείγματος και σωστή τεχνική διαδικασίας. Ένα καθαρό υπόβαθρο (φόντο) είναι το εσωτερικό αρνητικό control. Αν η εξέταση δουλεύει σωστά το φόντο στη Ζώνη Ελέγχου θα πρέπει να είναι άσπρο έως ελαφρά ροζέ και δεν θα πρέπει να δυσκολεύει την ερμηνεία του αποτελέσματος.

Εξωτερικός Ποιοτικός Έλεγχος: Κάθε εργαστήριο που χρησιμοποιεί το τεστ θα πρέπει να εξελίξει τις δικές του οδηγίες ελέγχου και πιστοποίησης της διαδικασίας του τεστ.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

1. **Επιδόσεις.** Η δοκιμασία **DyonHrAb[®]triple** ελέγχθηκε για ανίχνευση μόλυνσης με *H. pylori* σε κλινική μελέτη 310 ασθενών ηλικίας 17-77 ετών, εκ των οποίων 62% ήταν άνδρες και 38% γυναίκες. Η **DyonHrAb[®]triple** συγκρίθηκε με βιοψία και ιστολογική εξέταση (golden standard). Αρχικά όλα τα δείγματα ταυτοποιήθηκαν ως θετικά ή αρνητικά με ιστολογική εξέταση. Στη συνέχεια τα ίδια δείγματα υποβλήθηκαν στη δοκιμασία **DyonHrAb[®]triple** κατά τυφλό τρόπο (ο πειραματιστής δεν γνώριζε ποια δείγματα ήταν αρνητικά ή θετικά όταν εκτελούσε τις δοκιμασίες). Στις συνθήκες αυτές η απόδοση της συσκευής **DyonHrAb[®]triple** ήταν:

-**Ειδικότητα & Ευαισθησία** της συσκευής **DyonHrAb[®]triple** σε σχέση με βιοψία και ιστολογική εξέταση: 93.3% και 93.8% αντίστοιχα*

-**Θετική Προγνωστική Αξία** της συσκευής **DyonHrAb[®]triple** σε σχέση με βιοψία και ιστολογική εξέταση: 93.3%*

-**Αρνητική Προγνωστική Αξία** της συσκευής **DyonHrAb[®]triple** σε σχέση με βιοψία και ιστολογική εξέταση: 93.8%*

-**Ακρίβεια** της συσκευής **DyonHrAb[®]triple** σε σχέση με βιοψία και ιστολογική εξέταση: 93.6%*

* αφορά διάστημα εμπιστοσύνης CI=95%

2. **Ειδικότητα.** Δείγματα αίματος από θετικούς ή αρνητικούς ασθενείς σε *H. pylori* επιμολύνθηκαν με *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni* ή *E. coli* και αναλύθηκαν με τη συσκευή **DyonHrAb[®]triple** σε 10 επαναλήψεις τη φορά. Όλα ανεξαιρέτως τα δείγματα έδωσαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα, δηλ. ήταν θετικά ή αρνητικά

ανεξαρτήτως του επιπέδου λοίμωξήνου μικροβίου.

3. **Διασταυρούμενη Αντίδραση.** Δείγματα αίματος από αρνητικούς ασθενείς σε *H. pylori* οι οποίοι είχαν ταυτοποιηθεί με ιστολογική εξέταση επιμολύνθηκαν με τους παρακάτω λοιμωγόνους παράγοντες και αναλύθηκαν με τη συσκευή **DyonHrAb[®]triple** σε 5 επαναλήψεις τη φορά. Όλα ανεξαιρέτως τα δείγματα έδωσαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα, δηλ. ήταν αρνητικά ανεξαρτήτως του παρεμβάλλοντος παράγοντα.

Ακεταμινοφαίνη, 20 mg/dl	Γλυκόζη, 2000 mg/dl
Ασπιρίνη, 20 mg/dl	Αιμοσφαιρίνη 500 mg/dl
Ασκορβικό οξύ, 20 mg/dl	Κετόνη, 40 mg/dl
Ατροπίνη, 20 mg/dl	Μεστρανόλη 3 mg/dl
Χολερυθρίνη, 60 mg/dl	Νιτρικά, 20 mg/dl
Καφεΐνη, 20 mg/dl	Πενικιλίνη, 40.000 U/dl
Κρεατινίνη, 20 mg/dl	Sodium Heparin, 3 mg/dl
Γεντασικό Οξύ, 20 mg/dl	Lithium Heparin, 3 mg/dl

4. Σε αντίθεση με άλλες μεθόδους ανίχνευσης *H. Pylori*, η δοκιμασία **DyonHrAb[®]triple** δεν επηρεάζεται ούτε από ταυτόχρονη χορήγηση αναστολέων αντλίας πρωτονίων ούτε από τυχόν διαίτα του ασθενή. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η δοκιμασία **DyonHrAb[®]triple** βασίζεται στην κατακρήμνιση του αντιγόνου του μικροβίου από το ειδικό προς αυτό αντίσωμα. Το αντίσωμα αντιδρά με το αντιγόνο μέσω πολλαπλών ασθενών ηλεκτροστατικών δεσμών καθώς και δυναμικών van der Waals, οι οποίες εξασφαλίζουν μεγάλη χημική συνάφεια πρόσδεσης (binding affinity) ανεξαρτήτως της προέλευσης του αντιγόνου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Atherton JC and Blaser MJ (2009). Coadaptation of *Helicobacter pylori* and humans: ancient history, modern implications. *J. Clin. Invest.* 119: 2475–2487.

Chey WD, Wong BC (2007) Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. **American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection.** *Am J Gastroenterol.* 2007 Aug;102(8):1808-25. Epub 2007 Jun 29.

Dorer MS, Talarico S and Salama NR (2009), *Helicobacter pylori* 's Unconventional Role in Health and Disease. *PLoS Pathogens*, Volume 5 issue 10 | e1000544.

Feinstein LB, Holman RC, Yorita Christensen KL, Steiner CA, Swerdlow, DL (2010). Trends in Hospitalizations for Peptic Ulcer Disease, United States, 1998–2005. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • Vol. 16, No. 9

Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers EJ, The European Helicobacter Study Group (EHS) (2007), Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: **the Maastricht III Consensus Report.** *Gut* 56:772–781.

She RC, Wilson AR, Litwin CM. (2009) Evaluation of *Helicobacter pylori* Immunoglobulin G (IgG), IgA, and IgM serological testing compared to stool antigen testing. *Clin Vaccine Immunol.* Aug;16(8):1253-5. Epub 2009 Jun 10.

Urita Y, Hike K, Torii N, Kikuchi Y, Kurakata H, Kanda E, Sasajima M, Miki K. (2004). Comparison of serum IgA and IgG antibodies for detecting *Helicobacter pylori* infection. *Intern Med.* Jul;43(7):548-52.

