ENGLISH

WARNING: The HpOne procedure section must be read before using a test! Before performing testing all operators MUST read and be familiar with this information.

COMPLEXITY: WAIVED
Any modification by the laboratory to the test system or FDA approved test system instructions will result in the test no longer meeting the requirements for waived category.

1. NAME: HpOne

Rx Only IVD

2. INTENDED USE

HpOne detects the urease enzyme for the presumptive identification of *Helicobacter pylori* in gastric mucosal biopsies. It is intended for in-vitro diagnostic use only.
IN CANADA FOR LABORATORY USE ONLY

3. SUMMARY

Helicobacter pylori has now been shown to be the causative agent in most instances of acute type B gastritis (1). It is now known that, in the absence of aspirin, non-steroidal anti-inflammatory drugs or hyper-secretory states, the bacteria is directly related to peptic ulcer disease such as duodenal and benign gastric ulcers (2). There is epidemiological data linking the presence of *H. pylori* with gastric cancer and low-grade mucosal associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma (3,4). The eradication of *H. pylori* gastritis by antibiotics has been shown to cure peptic ulcers and prevent recurrence (4,5).

4. PRINCIPLE

Gastric mucosal endoscopic biopsies are placed in a sample well and a reagent containing urea, a pH dye indicator and hydrogen peroxide is placed over the biopsy specimen.

$$(NH_2)CO + 2H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{urease}} 2NH_4^+ + HCO_3^-$$
urea → ammonium ion + bicarbonate ion

The urease in *H. pylori* converts the urea to ammonia, which raises the pH and changes the color of the reagent, indicating a positive test.

5. REAGENTS

5.1 Storage and Stability:
The **HpOne** reagent can be stored at 2-8° C for up to 18 months. Do not use the test if the reagent is not yellow or yellow-orange in color or if the reagent is past the expiration date. Each **HpOne** reagent bottle contains an expiration date and a lot number to permit tracking.

5.2 Disposal:
Specimens and contaminated test devices must be disposed of according to appropriate guidelines for biohazardous waste.

6. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

6.1 Patient Preparation:
Antibiotics and bismuth, when used in sub-optimal therapy, can suppress but not eliminate the organism. Therefore, the patient should not have used these agents for several weeks prior to the test. Following inadequate therapy, the organism may regrow in a patchy manner and may not be detected by random biopsies. The patient should not have received proton pump inhibitors such as omeprazole or lansoprazole, as these drugs have been shown to have a bacteriocidal effect on the organism prior to the test.

6.2 Biopsy Location:
Because of the patchy nature of *H. pylori* infection, it is generally recommended that two specimens be obtained from each patient, one from the immediate prepyloric area and a second from the proximal antrum on the lesser curvature (6). Any standard biopsy forceps will provide a specimen of sufficient size; however, larger size forceps will provide greater tissue volume and may increase organism recovery. Biopsies should be obtained from normal appearing mucosa as eroded or ulcerated mucosa may have fewer organisms.

7. PROCEDURE

STEP 1: The **HpOne** reagent may be evaluated before the test. The reagent should have a yellow color. A green or blue color may indicate product degradation and the reagent should not be used. To verify that the reagent is working properly, see the QC Test procedure in Section 9 of this insert.

STEP 2: Free the specially designed biopsy pick from the tray. The biopsy pick is designed with a needle tip and a spatula to remove the specimen from the forceps.

STEP 3: Place the specimens in the bottom of the tray well. Add two or three drops of the **HpOne** reagent from the dispenser bottle directly into the well.

STEP 4: Cover the well with the attached cap by pressing the cap firmly in place. Failure to properly seal the test may result in spillage of the contents. The patient name, and time should be noted on the label.

8. INTERPRETATION OF RESULTS

8.1 The suggested reading times for **HpOne** are 5, 15, 30, and 60 minutes after biopsy insertion. Once a positive reaction has been obtained further readings are not required.

8.2 If *H. pylori* is present, the reagent in the tray well will begin to turn a light blue color. Look for the color change to begin in the foam that forms at the fluid-air interface. The appearance of any blue color, even a light blue, should be considered positive. The light blue color will quickly expand until all the foam and then the fluid below becomes blue as the pH of the medium rises.

Approximate pH	Color	Interpretation
4.2-5.4	yellow	negative
5.5-6.9	light blue	positive
7.0+	blue	positive

8.3 A yellow color indicates the absence of the urease enzyme and is a negative test. The final reading on a negative test should be taken at not more than 1 hour.

8.4 Any color change to a light blue or blue color in the reagent within 1 hour is a positive test (presumptive diagnosis).

8.5 Indeterminate reactions at 1 hour are rare (not encountered in the clinical data) and should be interpreted in conjunction with histological or other suitable criteria. Histological examination with a suitable stain, such as Giemsa or Warthin-Starry stain may be required.

9. QUALITY CONTROL PROCEDURE

A positive control kit consisting of absorbent QC test strips and a small bottle of positive control is provided with each box of **HpOne**. The positive control bottle dispenses approximately 25 microliters per drop of the urease-glycerol preparation (Sigma Catalog # U1875). A non-urease producing organism or sterile saline solution may be used as a negative control. Negative control not provided.

Run the controls under the following circumstances:
- when there is a **lot number change**
- when there is a **new operator**
- when there is an **environmental change**

Run the positive control to verify the integrity of any negative test.

9.1 Quality Control Testing:

a. For positive control testing - place a single drop of the **HpOne** reagent on the absorbent pad of one of the QC test strips provided and allow it to absorb for 10-20 seconds. Then place a single drop of the urease **positive control** solution over the same spot. The test spot should turn blue within 10 minutes. **Note:** Do not read the test strip beyond 1 hour as the color may revert to yellow over time.

b. For negative control testing - place a single drop of the **HpOne** reagent on the absorbent pad of one of the QC test strips provided and allow it to absorb for 10-20 seconds. Then place a single drop of the **negative control** solution over the same spot. The test should remain yellow for at least 10 minutes.

Should any of the controls react incorrectly, contact GI Supply at 1-800-451-5797.

10. LIMITATIONS AND WARNINGS

10.1 This assay has not been established for patients less than 18 years of age.

10.2 False Positive:
Studies indicate that the urease of other organisms such as Proteus , Klebsiella, or Pseudomonas is not as active in the acidic pH range where the **HpOne** reaction begins. This feature tends to separate *H. pylori* urease activity from that in other bacteria. Patients with complete achlorhydria (pernicious anemia, previous gastric surgery and long term acid suppression by drugs) could have gastric bacterial growth of other urease containing bacteria. In general, these bacteria have less urease and do not produce a rapid blue positive test.

10.3 False Negative:
Several factors may produce a false negative result.

a. Patchy Distribution of Infection - *H. pylori* has been shown to occur in a patchy distribution so that two antral biopsies are recommended, usually in the immediate pre-pyloric area and on the lesser curvature of the proximal antrum.

b. Intestinal Metaplasia - *H. pylori* does not colonize intestinal metaplasia so that if this mucosal change is extensive, a false result may occur. Again, multiple biopsies are recommended.

c. Antibiotics - *H. pylori* is sensitive to many antimicrobials, including bismuth. If patients have been on antimicrobials in the recent past, the organism may be suppressed though usually not eliminated. In this situation, an inadequate number of bacteria may be obtained. If recent antibiotics have been used, multiple biopsies should be taken.

d. Proton Pump Inhibitors - proton pump inhibitors such as omeprazole and lansoprazole have been shown to have rapid bacteriocidal effects against *H. pylori*. Ideally, the drug should be discontinued for two weeks prior to biopsy.

10.4 In difficult or questionable cases of infection, additional testing by histology, serology, or labeled carbon breath tests (when available) should be considered.

11. EXPECTED VALUES

For the highly symptomatic population in the **HpOne** clinical study, 65 out of 117 suspected patients or 55.6% were histologically positive for the *H. pylori* organism.

12. EXPECTED WAIVER PERFORMANCE

At 3 non-laboratory sites, 60 lay users with no laboratory experience tested control solutions of 3 masked, randomized specimens that included 1 negative, 1 weak positive and 1 positive. The results showed the correct positive and correct negative answer in 100% of the cases.

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

In a study of 117 patients with possible peptic ulcer disease, 65 demonstrated positive histological criteria (presence of *H. pylori* organisms upon staining) for *Helicobacter pylori* gastritis, and 52 did not demonstrate the criteria. **HpOne** agreed with the positive histological diagnosis in 60 cases (92.3%) and agreed with the negative diagnosis in all 52 (100%) of the cases. *This data provides a relative sensitivity of 92.3% and a relative specificity of 100%.*

	True +	False +
HpOne Positives	60	0
	False -	True -
HpOne Negatives	5	52

Histology Positives = 65 Histology Negatives = 52

HpOne
Sensitivity = 92.3% Positive Predictive Value = 100%
HpOne
Specificity = 100% Negative Predictive Value = 91.23%

HpOne correctly diagnosed 66.67% of the positives within 5 minutes and 83.3% of the positives by 15 minutes. There were no false positives when diagnosed within the one-hour final reading of the test.

14. MANUFACTURED FOR

GI Supply®
200 Grandview Ave.
Camp Hill, PA. 17011, USA
(800) 451-5797

CE

BIBLIOGRAPHY

1.Marshall BJ, McGechie DB, Rogers PAR, Glancy RG.: Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med J Aust 1985; 149:439-444.

2.Graham DY, Helicobacter pylori: Its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. J. Gastroenterol Hepatol 1991; 6:105-13.

3. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al: Helicobacter pylori infection and the risk of gastric cancer. N. Engl J. Med 1991; 325:1127.

4. Hentschel E, Brandstatten G, Dragosics B, et al.: Effect of ranitidine and amoxicillin plus metronidazole on the eradication of Helicobacter pylori and the recurrence of duodenal ulcer. N Engl J. Med 1993; 328:308-12.

5. Graham DY, Lew GM, Klein PD et al.: Effect of treatment of Helicobacter pylori infection on the long term recurrence of gastric or duodenal ulcer: a randomized, controlled study. Ann Intern Med 1992; 116:705-8.

6. Genta RM., Graham DY. : Comparison of biopsy sites for the histopathological diagnosis of Helicobacter pylori: a topographic study of H. pylori density and distribution. Gastrointestinal Endosc. 1994; vol. 40, #3: 342-5

EC REP Emergo Europe, Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands

U.S. Patents 5,702,911, 5,668,011 www.gi-supply.com G64-008L Rev 08

FRANÇAIS

AVERTISSEMENT : la section 7, Procédure, de la notice HpOne doit être lue avant l'utilisation d'un test! Avant d'effectuer un test, tous les opérateurs DOIVENT lire et se familiariser avec ces informations.

COMPLEXITÉ : EXONÉRATION
Toute modification apportée par le laboratoire au système de test ou au système de test approuvé par la FDA rendra le test non conforme aux exigences de la catégorie faisant l'objet d'une exonération.

1. NOM : HpOne

IVD

2. INDICATION

HpOne détecte l'uréase, une enzyme permettant l'identification présumée d'*Helicobacter pylori* dans les biopsies de la muqueuse gastrique. Réservé au diagnostic *in vitro*.

3. RÉSUMÉ

Il a été démontré qu'*Helicobacter pylori* est l'agent causal dans la plupart des cas de gastrite aiguë de type B (1). On sait désormais qu'en l'absence d'aspirine, d'anti-inflammatoires non stéroïdiens ou d'états hypersécrétoires, la bactérie est directement liée à l'ulcère gastroduodénal (ulcère duodénal et ulcères gastriques bénins) (2). Des données épidémiologiques établissent un lien entre la présence d'*H. pylori* et un cancer de l'estomac et un lymphome du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT) de bas grade (3,4). L'éradication d'une gastrite *H. pylori* par des antibiotiques permet de guérir les ulcères gastroduodénaux et d'empêcher leur récurrence (4,5).

4. PRINCIPE

Des biopsies endoscopiques de la muqueuse gastrique sont placées dans un puits à échantillon, dans lequel sont ajoutés un réactif contenant de l'urée, un indicateur de pH (indicateur coloré) et du peroxyde d'hydrogène.

$$(NH_2)CO + 2H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{uréase}} 2NH_4^+ + HCO_3^-$$
urée → ion ammonium + ion bicarbonate

L'uréase dans *H. pylori* transforme l'urée en ammoniac, qui a pour effet d'augmenter le pH et de modifier la couleur du réactif, indiquant un test positif.

5. RÉACTIFS

5.1 Stockage et stabilité :
Le réactif **HpOne** peut être stocké entre 2 et 8 °C pendant 18 mois. Ne pas utiliser le test si le réactif n'est pas jaune ou jaune-orange ou si sa date d'expiration est passée. Chaque flacon de réactif **HpOne** contient une date d'expiration et un numéro de lot pour permettre sa traçabilité.

5.2 Élimination :
Les échantillons et les dispositifs de test contaminés doivent être mis au rebut conformément aux directives appropriées relatives aux déchets biologiques dangereux.

6. PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

6.1 Préparation du patient :
Les antibiotiques et le bismuth, utilisés dans un traitement sous-optimal, peuvent supprimer l'organisme, sans toutefois l'éliminer. Par conséquent, le patient ne devra pas utiliser ces agents pendant les semaines précédant le test. Après un traitement inadéquat, il est possible que l'organisme se redéveloppe de manière éparse et qu'il ne puisse pas être détecté par des biopsies aléatoires. Le patient ne devra pas avoir reçu d'inhibiteurs de la pompe à protons tels que l'oméprazole ou le lansoprazole, dans la mesure où ces médicaments ont montré leur effet bactéricide sur l'organisme avant le test.

6.2 Lieu de la biopsie :
Étant donné la nature éparse d'une infection par *H. pylori*, il est généralement recommandé de prélever deux échantillons sur chaque patient : un au niveau de la zone prépylorique immédiate et un second au niveau de l'antre proximal sur la petite courbure de l'estomac (6). Toute pince à biopsie standard fournira un échantillon de taille suffisante; toutefois, une plus grosse pince prélèvera un plus grand volume de tissus et pourra augmenter la probabilité de récupération de l'organisme. Les biopsies doivent être réalisées sur une muqueuse d'apparence normale dans la mesure où une muqueuse érodée ou ulcérée pourra porter moins d'organismes.

7. PROCÉDURE

ÉTAPE 1 : le réactif **HpOne** peut être évalué avant le test. Il doit être de couleur jaune. Un réactif vert ou bleu peut indiquer une dégradation du produit, auquel cas il ne devra pas être utilisé. Pour vérifier si le réactif fonctionne correctement, voir la section 9 de cette notice, « Procédure de contrôle qualité ».

ÉTAPE 2 : saisir l'aiguille à biopsie spécialement conçue sur le plateau. L'aiguille à biopsie est conçue avec une pointe et une spatule pour enlever l'échantillon de la pince.

ÉTAPE 3 : placer les échantillons au fond du puits du plateau. Ajouter deux ou trois gouttes de réactif **HpOne** au moyen du flacon compte-gouttes directement dans le puits.

ÉTAPE 4 : fermer le puits avec le bouchon attaché, en appuyant fermement. Bien fermer le puits pour éviter toute fuite du contenu. Le nom du patient et l'heure doivent être notés sur l'étiquette.

8. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

8.1 Les heures de lecture suggérées pour **HpOne** sont 5, 15, 30 et 60 minutes après l'insertion de la biopsie. Une fois une réaction positive obtenue, il est inutile de prolonger la lecture.

8.2 Si *H. pylori* est présent, le réactif dans le puits du plateau commencera à virer au bleu pâle. Le changement de couleur commence au niveau de la mousse qui se forme à l'interface fluide-air. L'apparition de toute nuance de bleu, même un bleu très pâle, doit être considérée positive. La couleur bleu pâle s'étendra rapidement jusqu'à ce que toute la mousse et le liquide en dessous deviennent bleus à mesure qu'augmente le pH du milieu.

pH approximatif	Couleur	Interprétation
4,2 à 5,4	jaune	négatif
5,5 à 6,9	bleu pâle	positif
7+	bleu	positif

8.3 Un réactif jaune indique l'absence de l'enzyme uréase et indique un test négatif. La lecture finale sur un test négatif ne doit pas avoir lieu au-delà d'une heure.

8.4 Tout virage du réactif au bleu pâle ou au bleu dans l'heure indique un test positif (diagnostic présumé).

8.5 Les réactions indéterminées à 1 heure sont rares (absence d'occurrence dans les données cliniques) et elles doivent être interprétées en conjonction avec des critères histologiques ou d'autres critères adaptés. Un examen histologique avec une coloration appropriée (Giemsa ou Warthin-Starry, par ex.) pourra être requis.

9. PROCÉDURE DE CONTRÔLE QUALITÉ

Une trousse de contrôle positif comprenant des bandelettes de test CQ absorbantes et un petit flacon de contrôle positif est fournie avec chaque boîte d'H **HpOne**. Le flacon de contrôle positif distribue environ 25 microlitres par goutte de préparation uréase-glycérol (no de réf. Sigma U1875). Un organisme ne produisant pas d'uréase ou du sérum physiologique stérile peut servir de contrôle négatif. Le contrôle négatif n'est pas fourni.

Utilisez les contrôles dans les cas suivants :
- lorsqu'il y a un **changement de numéro de lot**
- lorsqu'il y a un **nouvel opérateur**
- lorsqu'il y a **modification des conditions ambiantes**

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'intégrité de tout test négatif.

9.1 Test de contrôle qualité :

a. Pour un test de contrôle positif - placer une goutte de réactif **HpOne** sur la partie absorbante des bandelettes de test CQ fournies et attendre son absorption (10-20 secondes). Ensuite, déposer une goutte de **contrôle positif** à l'uréase au même endroit. Le point du test devrait virer au bleu sous 10 minutes. **Remarque** : ne pas lire la bandelette de test au-delà d'une heure, dans la mesure où elle pourra redevenir jaune passé ce délai.

b. Pour un test de contrôle négatif - placer une goutte de réactif **HpOne** sur la partie absorbante des bandelettes de test CQ fournies et attendre son absorption (10-20 secondes). Ensuite, déposer une goutte de **contrôle négatif** à l'uréase au même endroit. La bandelette de test devrait rester jaune pendant 10 minutes minimum.

Si l'un des contrôles ne réagit pas correctement, contacter GI Supply au 1 800 451-5797.

10. LIMITES ET AVERTISSEMENTS

10.1 Ce dosage n'a pas été établi pour des patients de moins de 18 ans.

10.2 Faux positif :
Les études indiquent que l'uréase d'autres organismes tels que *Proteus, Klebsiella* ou *Pseudomonas* n'est pas active dans la plage de pH acide où commence la réaction **HpOne**. Cette catactéristique a tendance à distinguer l'activité de l'uréase d'*H. pylori* de celle des autres bactéries. Les patients présentant une achlorhydrie totale (anémie pernicieuse, antécédents de chirurgie gastrique et suppression d'acide à long terme par des médicaments) peuvent présenter une croissance bactérienne gastrique liée à d'autres bactéries contenant de l'uréase. En général, ces bactéries contiennent moins d'uréase et ne produisent pas de test positif bleu rapide.

10.3 Faux négatif :
Plusieurs facteurs peuvent produire un faux négatif.

a. Distribution éparse de l'infection - *H. pylori* ayant montré son occurrence de manière éparse; deux biopsies antrales sont recommandées, généralement dans la zone prépylorique immédiate et sur la petite courbure de l'antre proximal.

b. Métaplasies intestinales - *H. pylori* ne colonisant pas les métaplasies intestinales, un tel changement de la muqueuse, s'il est important, pourra fausser le résultat. Là encore, plusieurs biopsies sont recommandées.

c. Antibiotiques - *H. pylori* est sensible à de nombreux antimicrobiens, y compris le bismuth. Si les patients ont récemment pris des antimicrobiens, l'organisme pourra être supprimé, mais pas éliminé. Dans ce cas, un nombre inadéquat de bactéries risque d'être prélevé. Lors d'une prise récente d'antibiotiques, plusieurs biopsies doivent être réalisées.

d. Inhibiteurs de la pompe à protons - Les inhibiteurs de la pompe à protons, comme l'oméprazole et le lansoprazole, dans la mesure où ces médicaments ont montré leurs effets bactéricides rapides contre *H. pylori*. De préférence, le médicament devra être arrêté deux semaines avant la biopsie.

10.4 Pour les cas d'infection difficiles ou douteux, des tests supplémentaires [histologie, sérologie ou tests respiratoires au carbone (si disponibles)] devront être envisagés.

11. VALEURS ESCOMPTÉES

Pour la cohorte fortement symptomatique de l'étude clinique **HpOne**, 65 patients suspectés sur 117 (55,6 %) étaient histologiquement positifs pour l'organisme *H. pylori*.

12. PERFORMANCE D'EXONÉRATION ESCOMPTÉE

Dans 3 centres n'étant pas des laboratoires, 60 utilisateurs novices sans expérience en laboratoire ont testé des solutions de contrôle de 3 échantillons randomisés en aveugle qui incluaient 1 négatif, 1 faiblement positif et 1 positif. Les résultats ont montré la réponse positive ou négative correcte dans 100 % des cas.

13. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Dans une étude de 117 patients avec un ulcère gastroduodénal possible, 65 ont présenté des critères histologiques positifs (présence d'organismes *H. pylori* lors d'une coloration) pour une gastrite par *Helicobacter pylori* et 52 n'ont pas présenté ces critères. **HpOne** concordait avec le diagnostic histologique positif dans 60 cas (92,3 %) et avec le diagnostic négatif dans 52 cas (100 %). *Ces données fournissent une sensibilité relative de 92,3 % et une spécificité relative de 100 %.*

	Vrai +	Faux +
Positifs **HpOne**	60	0
	Faux -	Vrai -
Négatifs **HpOne**	5	52

Positifs histologiques = 65
Négatifs histologiques = 52

HpOne Sensibilité = 92,3 % Valeur prédictive positive = 100 %
HpOne Spécificité = 100 % Valeur prédictive négative = 91,23 %

HpOne a correctement diagnostiqué 66,67 % des positifs dans les 5 minutes et 83,3 % des positifs dans les 15 minutes. Il n'y a eu aucun faux positif pour les diagnostics posés dans l'heure (lecture finale du test).

14. FABRIQUÉ POUR

GI Supply®
200 Grandview Ave.
Camp Hill, PA 17011, États-Unis
(800) 451-5797

CE

EC REP Emergo Europe, Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands

Brevets (É.-U.) 5,702,911, 5,668,011 www.gi-supply.com G64-008L Rév 08

NEDERLANDS

WAARSCHUWING: U moet de sectie met de HpOne-procedure lezen voordat u een test gebruikt! Alvorens tests uit te voeren, MOETEN alle laboranten deze informatie lezen en ermee bekend zijn.

COMPLEXITEIT: VRIJGESTELD
Iedere wijziging in het laboratorium aan het testsysteem of aan door de FDA goedgekeurde instructies voor het testsysteem heeft tot gevolg dat de test niet langer aan de eisen voor de vrijgestelde categorie voldoet.

1. NAAM: HpOne

IVD

2. BEOOGD GEBRUIK

HpOne detecteert het urease-enzym voor vermoedelijke identificatie van *Helicobacter pylori* bij biopsies van het maagslijmvlies. Het product is uitsluitend bedoeld voor in-vitro diagnostisch gebruik.

3. SAMENVATTING

Het is nu aangetoond dat *Helicobacter pylori* de oorzaak is van de meeste gevallen van acute type-B-gastritis (1). Het is nu bekend dat, bij afwezigheid van aspirine, niet-steroïdale ontstekingsremmers of hypersecretie, de bacterie rechtstreeks verband houdt met peptische zweren zoals duodenumzweren en goedaardige maagzweren (2). Er zijn epidemiologische gegevens dat er verband bestaat tussen de aanwezigheid van *H. pylori* en maagkanker en laaggradig mucosageassocieerd lymfoïd weefsel (MALT) lymfoom (3,4). Het is gebleken dat door eradicatie van *H. pylori* gastritis met antibiotica maagzweren worden genezen en recidief wordt voorkomen (4,5).

4. PRINCIPE

Endoscopische biopten van het maagslijmvlies worden in een well geplaatst en een reagens dat ureum, een pH-indicator (kleurstof) en waterstofperoxide bevat, wordt over het biopt aangebracht.

$$(NH_2)CO + 2H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{urease}} 2NH_4^+ + HCO_3^-$$
ureum → ammonium-ion + bicarbonaat-ion

De urease in *H. pylori* zet het ureum om in ammonia, waardoor de pH van het reagens hoger wordt en de kleur verandert, wat duidt op een positieve test.

5. REAGENTIA

5.1 Opslag en stabiliteit:
Het **HpOne**-reagens kan maximaal 18 maanden worden opgeslagen bij 2-8 °C. Gebruik de test niet als het reagens niet geel of geel-oranje gekleurd is of als de uiterste gebruiksdatum is verlopen. Elke fles **HpOne**-reagens heeft een uiterste gebruiksdatum en een partijnummer om tracering mogelijk te maken.

5.2 Afvoer:
Biopten en verontreinigde testapparaten moeten worden afgevoerd volgens de desbetreffende richtlijnen voor biologisch gevaarlijk afval.

6. VERZAMELEN EN VOORBEREIDEN VAN BIOPTEN

6.1 Voorbereiding van de patiënt:
Antibiotica en bismut kunnen, als ze bij suboptimale therapie worden gebruikt, het organisme onderdrukken maar niet elimineren. Daarom mag de patiënt deze middelen een aantal weken vóór de test niet gebruiken. Na inadequate therapie kan het organisme diffuus teruggroeien en wordt het mogelijk niet ontdekt bij willekeurige biopsies. De patiënt mag vóór de test geen protonpompremmers zoals omeprazol of lansoprazol hebben gekregen, want het is gebleken dat deze geneesmiddelen een bactericide effect op het organisme hebben.

6.2 Locatie van biopsie:
Door de diffuse aard van een infectie met *H. pylori* wordt in het algemeen aangeraden twee biopten van elke patiënt te nemen, één uit het gebied onmiddellijk vóór de pylorus en een ander van het proximale antrum op de curvatura minor (6). Met iedere standaard biopsietang zal een voldoende groot biopt worden verkregen; met een grotere tang zullen echter een groter weefselvolume en mogelijk meer organismen worden verkregen. De biopten moeten worden genomen van normaal uitziend slijmvlies, want beschadigd of ulcererend slijmvlies bevat mogelijk minder organismen.

7. PROCEDURE

STAP 1: Het **HpOne**-reagens kan vóór de test worden geëvalueerd. Het reagens moet geel gekleurd zijn. Een groene of blauwe kleur kan wijzen op degradatie van het product; het reagens mag niet worden gebruikt. Om te controleren of het reagens goed werkt, dient u de kwaliteitscontrole-testprocedure in sectie 9 van deze bijsluiter te raadplegen.

STAP 2: Neem de speciaal ontworpen biopteur uit de plaat. De biopteur is ontworpen met een naaldpunt en een spatel om het biopt uit de tang te nemen.

STAP 3: Plaats de biopten op de bodem van de well in de plaat. Voeg twee of drie druppels **HpOne**-reagens direct uit het flesje aan de well toe.

STAP 4: Bedek de well met de eraan bevestigde dop door de dop stevig vast te duwen. Als de test niet goed wordt afgedicht, kan de inhoud worden gemorst. De naam van de patiënt en de tijd moeten op het etiket worden geschreven.

8. INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

8.1 De gesuggereerde afleestijden voor **HpOne** zijn 5, 15, 30 en 60 minuten na het inbrengen van het biopt. Wanneer eenmaal een positieve reactie is verkregen, is geen verdere aflezing nodig.

8.2 Als *H. pylori* aanwezig is, begint het reagens in de plaat lichtblauw te kleuren. Let op het begin van de kleurverandering in het schuim dat zich op het raakvlak tussen vloeistof en lucht vormt. De aanwezigheid van iedere blauwe kleur, zelfs lichtblauw, moet als positief worden beschouwd. De lichtblauwe kleur verspreidt zich snel totdat al het schuim en dan de vloeistof eronder blauw wordt naarmate de pH van het medium stijgt.

pH bij benadering	Kleur	Interpretatie
4,2-5,4	geel	negatief
5,5-6,9	lichtblauw	positief
7,0+	blauw	positief

8.3 Een gele kleur duidt op afwezigheid van het urease-enzym en is een negatieve test. De laatste aflezing bij een negatieve test moet na niet meer dan 1 uur worden gedaan.

8.4 Iedere kleurverandering naar een lichtblauwe of blauwe kleur in het reagens binnen 1 uur is een positieve test (vermoedelijke diagnose).

8.5 Onbepaalde reacties na 1 uur zijn zeldzaam (niet aangetroffen in de klinische gegevens) en moeten geïnterpreteerd worden in combinatie met histologische of andere geschikte criteria. Histologisch onderzoek met een geschikte kleurstof, zoals Giemsa- of Warthin-Starry-kleuring, kan nodig zijn.

9. KWALITEITSCONTROLEPROCEDURE

Een positieve-controlekit bestaande uit absorberende teststrips voor kwaliteitscontrole en een flesje positieve controle worden bij elke doos **HpOne** geleverd. Het positieve-controleflesje levert ongeveer 25 microliter per druppel urease-glycerolpreparaat (Sigma catalogusnr. U1875). Een organisme dat geen urease produceert of een steriele zoutoplossing kan worden gebruikt als negatieve controle. Negatieve controle wordt niet bijgeleverd.

Voer de controles uit onder de volgende omstandigheden:
- bij **verandering van partijnummer**
- bij een **nieuwe laborant**
- bij **verandering van omgeving**

Voer de positieve controle uit om de integriteit van een eventuele negatieve test te controleren.

9.1 Kwaliteitscontroletests:

a. Voor positieve-controletests - plaats een enkele druppel **HpOne**-reagens op het absorberende kussentje van een van de bijgeleverde teststrips voor kwaliteitscontrole en laat deze 10-20 seconden absorberen. Breng dan een enkele druppel urease **positieve controle**-oplossing aan op dezelfde plaats. De testplaats moet binnen 10 minuten blauw worden. **NB:** Lees de teststrip niet na meer dan 1 uur af, want de kleur kan in die tijd weer geel worden.

b. Voor negatieve-controletests - plaats een enkele druppel **HpOne**-reagens op het absorberende kussentje van een van de bijgeleverde teststrips voor kwaliteitscontrole en laat deze 10-20 seconden absorberen. Breng dan een enkele druppel urease **negatieve controle**-oplossing aan op dezelfde plaats. De test moet ten minste 10 minuten geel blijven.

Als een van de controles een onjuiste reactie heeft, neem dan contact op met GI Supply, tel. 1-800-451-5797.

10. BEPERKINGEN EN WAARSCHUWINGEN

10.1 Deze test is niet geëvalueerd voor patiënten van minder dan 18 jaar oud.

10.2 Vals-positief:
Onderzoeken wijzen uit dat de urease van andere organismen zoals Proteus, Klebsiella of Pseudomonas niet zo actief is in het zure pH-bereik waar de **HpOne**-reactie begint. Door dit kenmerk onderscheidt de urease-activiteit van *H. pylori* zich van die van andere bacteriën. Patiënten met complete achloorhydrie (pernicieuze anemie, eerdere maagoperatie en langdurige zuuronderdrukking door geneesmiddelen) kunnen bacteriegroei van andere urease bevattende bacteriën in de maag hebben. In het algemeen hebben deze bacteriën minder urease en veroorzaken ze geen snelle blauwe positieve test.

10.3 Vals-negatief:
Diverse factoren kunnen een vals-negatief resultaat veroorzaken.

a. Diffuse distributie van infectie - Het is aangetoond dat *H. pylori* in een diffuse distributie optreedt. Daarom worden twee antrumbiopsies aanbevolen, gewoonlijk in het gebied onmiddellijk vóór de pylorus en op de curvatura minor van het proximale antrum.

b. Intestinale metaplasie - *H. pylori* koloniseert geen intestinale metaplasie. Als deze slijmvliesverandering dus extensief is, kan een vals resultaat optreden. Nogmaals: meerdere biopsies worden aanbevolen.

c. Antibiotica - *H. pylori* is gevoelig voor veel antimicrobiële middelen, inclusief bismut. Als patiënten recentelijk antimicrobiële middelen hebben ingenomen, is het organisme mogelijk onderdrukt, maar gewoonlijk niet geëlimineerd. In deze situatie is het mogelijk dat een onvoldoende aantal bacteriën wordt verkregen. Als recentelijk antibiotica zijn gebruikt, moeten meerdere biopten worden genomen.

d. Protonpompremmers - het is gebleken dat protonpompremmers zoals omeprazol en lansoprazol snelle bactericide effecten hebben op *H. pylori*. In het ideale geval moet gebruik van het geneesmiddel twee weken vóór de biopsie worden beëindigd.

10.4 In moeilijke of twijfelachtige gevallen van infectie moeten extra histologische of serologische tests, of ademtests met gemerkte koolstof (wanneer beschikbaar) worden overwogen.

11. VERWACHTE WAARDEN

Bij de sterk symptomatische populatie in de **HpOne** klinische studie waren 65 van de 117 vermoede patiënten, of 55,6%, histologisch positief voor het *H. pylori* organisme.

12. VERWACHTE PRESTATIES VRIJSTELLING

Op 3 plaatsen, geen laboratoria, hebben 60 niet-beroepsgebruikers zonder laboratoriumervaring controleoplossingen van 3 gemaskeerde, willekeurige biopten getest; het betrof 1 negatief, 1 zwak-positief en 1 positief biopt. De resultaten wezen een correct positief en correct negatief antwoord uit in 100% van de gevallen.

13. PRESTATIEKENMERKEN

In een onderzoek van 117 patiënten met mogelijke peptische zweren, vertoonden 65 positieve histologische criteria (aanwezigheid van *H. pylori* organismen bij kleuring) voor *Helicobacter pylori* gastritis, en 52 vertoonden de criteria niet. **HpOne** kwam overeen met de positieve histologische diagnose in 60 gevallen (92,3%) en kwam overeen met de negatieve diagnose in alle 52 gevallen (100%). *Uit deze gegevens blijkt een relatieve gevoeligheid van 92,3% en een relatieve specificiteit van 100%.*

	Correct +	Vals +
HpOne Positief	60	0
	Vals -	Correct -
HpOne Negatief	5	52

Histologie Positief = 65 Histologie Negatief = 52

HpOne Gevoeligheid = 92,3% Positieve predictieve waarde = 100%
HpOne Specificiteit = 100% Negatieve predictieve waarde = 91,23%

HpOne gaf een correcte diagnose van 66,67% van de positieve resultaten binnen 5 minuten en 83,3% van de positieve resultaten na 15 minuten. Er waren geen vals-positieve resultaten bij diagnoses binnen de uiteindelijke aflezing één uur na de test.

14. GEPRODUCEERD VOOR

GI Supply®
200 Grandview Ave.
Camp Hill, PA. 17011, VS
(800) 451-5797

CE

EC REP Emergo Europe, Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands

Octrooi (VS) 5,702,911, 5,668,011 www.gi-supply.com G64-008L Rev 08

ITALIANO

AVVERTENZA: leggere la sezione relativa alla procedura HpOne prima di utilizzare un test! Prima di eseguire i test, tutti gli operatori DEVONO leggere e assimilare queste informazioni.

COMPLESSITÀ: DISPENSATO
Qualsiasi modifica eseguita dal laboratorio al sistema di test o istruzioni relative al sistema di test approvato dalla FDA avrà come risultato che il test non sarà più conforme ai requisiti per la categoria dispensata.

IVD

1. NOME: HpOne

2. USO PREVISTO
HpOne rileva l'enzima ureasi per l'identificazione presuntiva dell'*Helicobacter pylori* nelle biopsie della mucosa gastrica. È destinato unicamente all'uso per diagnostica in-vitro.

3. RIASSUNTO
L'*Helicobacter pylori* è stato dimostrato essere l'agente causativo nella maggior parte dei casi di gastrite acuta di tipo B (1). È correntemente noto che, in assenza di aspirina, farmaci FANS o stati ipersecretori, il batterio è direttamente correlato all'ulcera peptica, come nel caso dell'ulcera duodenale e gastrica benigna (2). Esistono dati epidemiologici che collegano la presenza dell'*H. pylori* al tumore gastrico e al linfoma del tessuto linfoide associato alle mucose a basso grado (MALT) (3,4). L'eradicazione della gastrite da *H. pylori* tramite antibiotici ha dimostrato di poter curare le ulcere peptiche e prevenire le ricomparse (4,5).

4. PRINCIPIO DI AZIONE
Le biopsie endoscopiche della mucosa gastrica vengono collocate in un pozzetto per campioni e in un reagente contenente urea, un indicatore di pH e perossido di idrogeno vengono collocati sul campione bioptico.

$$(NH_2)CO + 2H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{ureasi}} 2NH_4 + HCO_3^-$$

urea — ione ammonio + ione bicarbonato

L'ureasi nell'*H. pylori* converte l'urea in ammoniaca, con conseguente aumento del pH e cambiamento del colore del reagente, indicando la positività del test.

5. REAGENTI
5.1 Conservazione e stabilità: (2°C – 8°C)
il reagente **HpOne** può essere conservato a 2-8° C per un massimo di 18 mesi. Non utilizzare il test se il reagente non ha più colore giallo o giallo-arancio o se è stata oltrepassata la data di scadenza. Ciascun flacone di reagente **HpOne** contiene una data di scadenza e un numero di lotto per consentirne il tracciamento.

5.2 Smaltimento:
i campioni e i dispositivi di test contaminati devono essere smaltiti secondo le direttive in materia di rifiuti sanitari pericolosi.

6. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE
6.1 Preparazione del paziente:
gli antibiotici e il bismuto, se utilizzati in terapia subottimale, possono sopprimere ma non eliminare il batterio. Pertanto, il paziente dovrà aver sospeso l'utilizzo di questi agenti da varie settimane prima dell'esecuzione del test. A seguito di terapia inadeguata, il batterio potrebbe proliferare nuovamente a chiazze e non essere rilevato da biopsie casuali. Il paziente non deve aver ricevuto inibitori della pompa protonica come l'omeprazolo o il lansoprazolo, poiché questi farmaci hanno dimostrato un effetto battericida sul batterio prima dell'esecuzione del test.

6.2 Localizzazione della biopsia:
a causa della natura a chiazze dell'infezione da *H. pylori*, si raccomanda generalmente di ottenere due campioni da ogni paziente, prelevati uno dall'immediata area prepilorica e l'altro dall'antro prossimale sulla piccola curvatura (6). Qualsiasi forcipe da biopsia standard fornirà un campione di dimensioni sufficienti; tuttavia, un forcipe di dimensioni maggiori fornirà un volume di tessuto superiore e potrebbe aumentare la probabilità di rilevamento del batterio. Le biopsie devono essere prelevate da mucosa di apparenza normale, in quanto la mucosa erosa o ulcerata potrebbe contenere un numero minore di batteri.

7. PROCEDURA
PASSAGGIO 1: il reagente **HpOne** può essere valutato prima del test. Il reagente deve essere di colore giallo. Un colore verde o blu potrebbe indicare il deterioramento del prodotto e in tal caso il prodotto non deve essere utilizzato. Per verificare che il reagente funzioni in modo corretto, consultare la procedura QC Test nella sezione 9 del presente inserto.

PASSAGGIO 2: rimuovere l'apposita pinza per biopsie dal vassoio. La pinza per biopsie è dotata di una punta ad ago e una spatola per rimuovere il campione dal forcipe.

PASSAGGIO 3: collocare i campioni nel fondo del pozzetto del vassoio. Aggiungere due o tre gocce del reagente **HpOne** dal flacone dispenser direttamente nel pozzetto.

PASSAGGIO 4: coprire il pozzetto con il cappuccio collegato premendo quest'ultimo fermamente in posizione. La mancata chiusura ermetica del test può provocare la dispersione del contenuto. Annotare il nome del paziente e l'orario sull'etichetta.

8. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI
8.1 I tempi di lettura suggeriti per **HpOne** sono di 5, 15, 30 e 60 minuti dall'inserimento della biopsia. Una volta ottenuta una reazione positiva, non è necessario eseguire ulteriori letture.

8.2 Se è presente l'*H. pylori*, il reagente nel pozzetto del vassoio comincerà a virare verso il blu chiaro. Osservare il cambiamento di colore che inizia a manifestarsi nella schiuma formatasi nell'interfaccia fluido-aria. La comparsa di una tonalità qualsiasi del colore blu, anche se chiaro, deve essere considerata come risultato positivo. Il colore blu chiaro si espanderà rapidamente fino a quando tutta la schiuma e quindi anche il fluido non vireranno verso il blu, man mano che aumenta il pH del mezzo.

pH approssimativo	Colore	Interpretazione
4,2-5,4	giallo	negativo
5,5-6,9	blu chiaro	positivo
7,0+	blu	positivo

8.3 Un colore giallo indica l'assenza dell'enzima ureasi con conseguente risultato negativo del test. La lettura finale di un test negativo non dovrebbe necessitare di più di un'ora.

8.4 Qualsiasi cambiamento di colore verso l'azzurro o blu nel reagente entro un'ora rappresenta un test positivo (diagnosi presuntiva).

8.5 Reazioni indeterminate a distanza di un'ora sono rare (non rilevate nei dati clinici) e devono essere interpretate in congiunzione con criteri istologici o altri criteri idonei. Potrebbe essere necessario eseguire l'esame istologico con un colorante idoneo come il colorante di Giemsa o Warthin-Starry.

9. PROCEDURA DI CONTROLLO DELLA QUALITÀ
Un kit di controllo positivo composto da strisce di test QC assorbenti e un flaconcino di controllo positivo sono inclusi in ogni confezione di **HpOne**. Il flacone di controllo positivo dispensa circa 25 microlitri per goccia di preparazione di ureasi-glicerolo (Sigma Catalog # U1875). Come controllo negativo è possibile utilizzare un organismo non producente ureasi o una soluzione salina sterile. Controllo negativo non fornito.

Eseguire i controlli nelle seguenti circostanze:
- in presenza di un **cambio del numero di lotto**
- ove sia presente un **nuovo operatore**
- ove sia presente un **cambiamento ambientale**

Eseguire il controllo positivo per verificare l'integrità di qualsiasi test negativo.

9.1 Test di controllo della qualità:

a. Per un test di controllo positivo, applicare una singola goccia di reagente **HpOne** sul cuscinetto assorbente di una delle strisce di test QC fornite e consentirne l'assorbimento per 10-20 secondi. Quindi applicare una singola goccia di soluzione del **controllo positivo** di ureasi sullo stesso punto. Il punto di prova deve virare al blu entro 10 minuti. **Nota:** non leggere la striscia del test dopo oltre un'ora, in quanto nel tempo il colore potrebbe ritornare al giallo.

b. Per un test di controllo negativo, applicare una singola goccia di reagente **HpOne** sul cuscinetto assorbente di una delle strisce di test QC fornite e consentirne l'assorbimento per 10-20 secondi. Quindi applicare una singola goccia di soluzione del **controllo negativo** di ureasi sullo stesso punto. Il test deve rimanere giallo per almeno 10 minuti.

In caso di reazione errata di uno qualsiasi dei controlli, contattare GI Supply al numero 1-800-451-5797.

10. LIMITAZIONI E AVVERTENZE
10.1 Questo saggio non è destinato a pazienti di età inferiore ai 18 anni.

10.2 Falso positivo:
gli studi indicano che l'ureasi di altri organismi come Proteus, Klebsiella, o Pseudomonas non sono attivi nell'intervallo di pH acido in cui inizia ad attivarsi la reazione di **HpOne**. Questa caratteristica tende a separare l'attività di ureasi dell'*H. pylori* da quella di altri batteri. I pazienti con acloridria completa (anemia perniciosa, precedente intervento chirurgico allo stomaco e soppressione dell'acido a lungo termine dovuta a farmaci) potrebbero avere sviluppato una crescita batterica gastrica di altri batteri contenenti ureasi. In generale, questi batteri possiedono meno ureasi e non producono un rapidamente un test positivo blu.

10.3 Falso negativo:
vari fattori possono produrre un risultato di falso negativo.

a. Distribuzione a chiazze dell'infezione - L'*H. pylori* è stato osservato con una distribuzione a chiazze, per cui si raccomandano due biopsie antrali, solitamente nell'area immediatamente prepilorica e sulla piccola curvatura dell'antro prossimale.

b. Metaplasia intestinale - L'*H. pylori* non colonizza la metaplasia intestinale, pertanto se questo cambiamento mucosale è esteso si può verificare un falso risultato. Anche in questo caso si raccomandano biopsie multiple.

c. Antibiotici - L'*H. pylori* è sensibile a vari antimicrobici, incluso il bismuto. Se i pazienti hanno seguito una terapia antimicrobica nel recente passato, l'organismo potrebbe essere stato soppresso, seppur solitamente non eliminato. In tale situazione, potrebbe essere presente un numero inadeguato di batteri. Se sono stati utilizzati antibiotici di recente, è necessario eseguire biopsie multiple.

d. Inibitori della pompa protonica - gli inibitori della pompa protonica come l'omeprazolo e il lansoprazolo hanno dimostrato rapidi effetti battericidi nei confronti dell'*H. pylori*. Idealmente, la somministrazione del farmaco deve essere interrotta due settimane prima della biopsia.

10.4 In casi difficili o dubbi di infezioni, tenere in considerazione test addizionali istologici, sierologici o test del respiro con marcatura al carbonio (se disponibili).

11. VALORI ATTESI
Per la popolazione altamente sintomatica dello studio clinico **HpOne**, 65 pazienti su 117 casi sospetti, ovvero il 55,6%, sono risultati positivi istologicamente all'organismo *H. pylori*.

12. DISPENSA DALL'ESECUZIONE PREVISTA
In 3 siti diversi da laboratori, 60 utenti non esperti e privi di esperienza di laboratorio hanno eseguito il test di soluzioni di controllo di tre campioni mascherati randomizzati che includevano un 1 negativo, 1 positivo debole e 1 positivo. I risultati hanno mostrato risposte corrette positive e negative nel 100% dei casi.

13. CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI
In uno studio su 117 pazienti con possibile ulcera peptica, 65 hanno dimostrato criteri istologici positivi (presenza di organismi di *H. pylori* dopo colorazione) per gastrite da *Helicobacter pylori*, e 52 non hanno dimostrato i criteri. **HpOne** ha concordato con la diagnosi istologica positiva in 60 casi (92,3%) e concordato con la diagnosi negativa in tutti i 52 (100%) casi. *Questi dati forniscono una sensibilità relativa del 92,3% e una specificità relativa del 100%.*

	Vero +	Falso +
HpOne Positivi	60	0
	Falso -	Vero -
HpOne Negativi	5	52

Istologici positivi = 65 Istologici negativi = 52

HpOne Sensibilità = 92,3% Valore predittivo positivo = 100%
HpOne Specificità = 100% Valore predittivo negativo = 91,23%

HpOne ha diagnosticato correttamente il 66,67% dei positivi entro 5 minuti e l'83,3% dei positivi entro 15 minuti. Non si sono verificati falsi positivi nella diagnosi eseguita entro un'ora di lettura finale del test.

14. PRODOTTO PER
GI Supply®
200 Grandview Ave.
Camp Hill, PA. 17011, USA
(800) 451-5797

EC REP Emergo Europe, Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands

ROMÂNĂ

AVERTIZARE: înainte de a utiliza un test, citiți secțiunea procedurii HpOne! Înainte de a efectua testarea, toți operatorii TREBUIE să citească și să se familiarizeze cu aceste informații.

COMPLEXITATE: ÎN AFARA LABORATORULUI
Orice modificare efectuată de laborator la sistemul de testare sau la instrucțiunile sistemului de testare aprobate de către FDA va însemna că testul nu mai îndeplinește cerințele pentru categoria în afara laboratorului.

IVD

1. DENUMIRE: HpOne

2. UTILIZAREA PREVĂZUTĂ
HpOne detectează enzima urează pentru identificarea prezumptivă a *Helicobacter pylori* în biopsiile mucoasei gastrice. Acesta este destinat doar pentru diagnosticul in vitro.

3. REZUMAT
S-a demonstrat că *Helicobacter pylori* este agentul cauzator în majoritatea cazurilor de gastrită acută de tip B (1). Acum este cunoscut faptul că, în absența aspirinei, a medicamentelor antiinflamatorii nesteroidiene sau a stărilor hipersecretorii, bacteria este legată direct apariția bolii peptice ulceroase precum ulcerele gastrice benigne și duodenale (2). Există date epidemiologice care fac legătura dintre prezența *H. pylori*, cancerul gastric și limfomul țesutului limfoid asociat mucoasei (MALT) de grad scăzut (3,4). S-a observat că eradicarea gastritei *H. pylori* cu antibiotice vindecă ulcerele peptice și previne recurența (4,5).

4. PRINCIPIU
Biopsiile endoscopice ale mucoasei gastrice sunt introduse într-un godeu pentru probă și reactivul conținând uree, un colorant indicator de pH și apa oxigenată sunt adăugate peste specimenul de biopsie.

$$(NH_2)CO + 2H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{urează}} 2NH_4 + HCO_3^-$$

uree — ion de amoniu + ion de bicarbonat

Ureaza din *H. pylori* transformă ureea în amoniu, care crește pH-ul și schimbă culoarea reactivului, indicând un test pozitiv.

5. REACTIVI
5.1 Depozitare și stabilitate: (2°C – 8°C)
Reactivul **HpOne** poate fi depozitat la 2-8 °C pentru maximum 18 luni. Nu utilizați testul în cazul în care culoarea reactivului nu este galbenă sau galben-portocalie sau dacă data de expirare a reactivului este depășită. Fiecare flacon cu reactiv **HpOne** conține o dată de expirare și un număr de lot pentru a permite urmărirea.

5.2 Eliminarea:
Specimenele și dispozitivele de testare contaminate trebuie eliminate conform instrucțiunilor adecvate pentru deșeuri cu risc biologic.

6. PREGĂTIREA ȘI RECOLTAREA SPECIMENULUI
6.1 Pregătirea pacientului:
Atunci când sunt utilizate în tratamentul cu rezultate insuficiente, antibioticele și bismutul pot reduce prezența microorganismului, dar nu îl pot elimina. Prin urmare, pacientul trebuie să nu fi utilizat acești agenți cu mai multe săptămâni înainte de test. În urma unui tratament inadecvat, microorganismul poate prolifera din nou într-un mod dispersat, ceea ce ar putea împiedica detectarea prin biopsii aleatorii. Trebuie ca pacientul să nu fi primit inhibitori ai pompei protonice precum omeprazol sau lansoprazol, deoarece s-a demonstrat că aceste medicamente au un efect bactericid asupra microorganismului înainte de test.

6.2 Locația biopsiei:
Din cauza naturii dispersate a infecției cu *H. pylori*, în general, se recomandă să obțineți două specimene de la fiecare pacient, unul din zona imediat prepilorică și a doua din antrul proximal de pe curbura mică (6). Orice forceps de biopsie standard va oferi un specimen de dimensiune suficientă; totuși, forcepsul de dimensiune mai mare va oferi un volum de țesut mai mare și poate favoriza recuperarea microorganismului. Biopsiile trebuie prelevate din mucoasa cu aspect normal, deoarece mucoasa deteriorată sau ulcerată poate conține mai puține microorganisme.

7. PROCEDURA
PASUL 1: reactivul **HpOne** poate fi evaluat înaintea testului. Reactivul ar trebui să aibă o culoare galbenă. O culoare verde sau albastră poate indica degradarea produsului, iar reactivul nu trebuie utilizat. Pentru a verifica dacă reactivul funcționează corect, consultați procedura pentru testarea controlului calității din secțiunea 9 a acestui prospect.

PASUL 2: eliberați sonda de biopsie special proiectată din tavă. Sonda de biopsie este proiectată cu un vârf cu ac și o spatulă pentru a îndepărta specimenul din forceps.

PASUL 3: puneți specimenele la baza godeului din tavă. Adăugați două sau trei picături de reactiv **HpOne** din flaconul cu distribuitor direct în godeu.

PASUL 4: acoperiți godeul cu capacul atașat prin apăsarea capacului ferm în poziție. Dacă nu etanșați corect testul, conținutul se poate vărsa. Numele pacientului și timpul trebuie notate pe etichetă.

8. INTERPRETAREA REZULTATELOR
8.1 Duratele de citire sugerate pentru **HpOne** sunt de 5, 15, 30 și 60 de minute după introducerea biopsiei. După ce este obținută o reacție pozitivă, nu mai sunt necesare alte citiri.

8.2 Dacă *H. pylori* este prezentă, culoarea reactivului din godeul tăvii va începe să devină albastru deschis. Observați schimbarea culorii care începe în spuma formată la interfața dintre lichid și aer. Dacă apare orice culoare albastră, chiar și albastru deschis, rezultatul trebuie considerat pozitiv. Culoarea albastru deschis se va extinde rapid până când toată spuma și apoi lichidul de dedesubt devine albastru deoarece pH-ul mediului crește.

pH aproximativ	Culoare	Interpretare
4.2-5.4	galben	negativ
5.5-6.9	albastru deschis	pozitiv
7.0+	albastru	pozitiv

8.3 Culoarea galbenă indică absența enzimei urează și este un test negativ. Citirea finală a unui test negativ trebuie efectuată după maximum 1 oră.

8.4 Orice schimbare a culorii reactivului în albastru deschis sau albastru în mai puțin de 1 oră se consideră un test pozitiv (diagnostic prezumptiv).

8.5 Reacțiile nedeterminate după 1 oră sunt rare (neîntâlnite în datele clinice) și trebuie interpretate împreună cu criterii histologice sau alte criterii adecvate. Poate fi necesară examinarea histologică cu un colorant adecvat, precum Giemsa sau Warthin-Starry.

9. PROCEDURA DE CONTROL AL CALITĂȚII
Un set de control pozitiv compus din benzi de testare QC absorbante și un flacon mic cu control pozitiv este furnizat în fiecare cutie de **HpOne**. Flaconul de control pozitiv distribuie aproximativ 25 de microlitri per picătură de preparat urează-glicerol (catalog Sigma nr. U1875). Controlul negativ poate fi un microorganism neproducător de urează sau o soluție salină sterilă. Controlul negativ nu este furnizat.

Utilizați controalele în următoarele cazuri:
- atunci când se **schimbă numărul lotului**
- atunci când există un **operator nou**
- atunci când există o **schimbare de mediu**

Utilizați controlul pozitiv pentru a verifica integritatea oricărui test negativ.

9.1 Testarea controlului calității:

a. Pentru testarea controlului pozitiv - puneți o singură picătură de reactiv **HpOne** pe suprafața absorbantă a uneia dintre benzile de testare QC furnizate și lăsați-o să fie absorbită timp de 10-20 de secunde. Apoi puneți o singură picătură de soluție de **control pozitiv** urează peste același punct. Punctul de test trebuie să devină albastru în termen de 10 minute. **Notă:** nu citiți banda de testare după 1 oră deoarece culoarea poate redeveni galbenă în timp.

b. Pentru testarea controlului negativ - puneți o singură picătură de reactiv **HpOne** pe suprafața absorbantă a benzilor de testare QC furnizate și lăsați-o să fie absorbită timp de 10-20 de secunde. Apoi puneți o singură picătură de soluție **control negativ** peste același punct. Testul trebuie să rămâne galben timp de cel puțin 10 minute.

Dacă oricare dintre controale reacționează incorect, contactați GI Supply la numărul 1-800-451-5797.

10. RESTRICȚII ȘI AVERTIZĂRI
10.1 Acest test nu este destinat pacienților cu vârsta mai mică de 18 ani.

10.2 Fals pozitiv:
Studiile indică faptul că ureaza din alte microorganisme, precum Proteus, Klebsiella sau Pseudomonas nu este activă în intervalul acid al pH-ului unde începe reacția **HpOne**. Această caracteristică tinde să separe activitatea ureazei *H. pylori* de cea din alte bacterii. Pacienții cu aclorhidrie completă (anemie pernicioasă, intervenție chirurgicală gastrică anterioară și suprimare pe termen lung a acidului provocată de medicamente) ar putea dezvolta alte bacterii gastrice producătoare de urează. În general, aceste bacterii produc mai puțină urează și nu produc un test pozitiv albastru rapid.

10.3 Fals negativ:
Mai mulți factori pot produce un rezultat negativ fals.

a. Distribuția dispersată a infecției - *H. pylori* a fost observată într-o distribuție dispersată, astfel încât sunt recomandate două biopsii antrale, de obicei în zona imediat prepilorică și pe curbura mică a antrului proximal.

b. Metaplazia intestinală - *H. pylori* nu colonizează metaplazia intestinală astfel încât, dacă această schimbare a mucoasei este extinsă, este posibilă apariția unui rezultat fals. Din nou, recomandăm efectuarea mai multor biopsii.

c. Antibiotice - *H. pylori* este sensibilă la multe medicamente antimicrobiene, inclusiv bismut. Dacă pacienții au urmat recent un tratament cu medicamente antimicrobiene, prezența microrganismului poate fi redusă, totuși în mod normal acesta nu poate fi eliminat complet. În această situație, poate fi obținut un număr inadecvat de bacterii. Dacă au fost utilizate antibiotice recent, trebuie efectuate mai multe biopsii.

d. Inhibitori ai pompei protonice - s-a demonstrat că inhibitorii pompei protonice precum omeprazolul și lansoprazolul au efecte bactericide rapide împotriva H. pylori. În mod ideal, tratamentul cu medicamentul respectiv trebuie întrerupt cu două săptămâni înainte de biopsie.

10.4 În cazuri dificile sau incerte de infecție, trebuie luată în considerare testarea suplimentară prin histologie, serologie sau teste respiratorii cu carbon marcat (dacă sunt disponibile).

11. VALORI PREVĂZUTE
Pentru populația de pacienți cu un număr ridicat de simptome în studiul clinic cu **HpOne**, 65 dintre cei 117 pacienți prezumptivi sau 55,6% au avut un rezultat histologic pozitiv pentru *H. pylori*.

12. RANDAMENTUL PREVĂZUT ÎN AFARA LABORATORULUI
În 3 centre fără laborator, 60 de utilizatori fără experiență de laborator au testat soluțiile de control din 3 specimene randomizate și mascate care includeau 1 negativă, 1 slab pozitivă și 1 pozitivă. Rezultatele au arătat răspunsurile corect pozitiv și corect negativ în 100% dintre cazuri.

13. CARACTERISTICILE PERFORMANȚEI
Într-un studiu pe 117 pacienți cu posibilitate de ulcer gastroduodenal, 65 au prezentat criterii histologice pozitive (prezența microorganismelor *H. pylori* după colorare) în cazul gastritei cu *Helicobacter pylori*, iar 52 nu au prezentat criteriile respective. **HpOne** a coincis cu diagnosticul histologic pozitiv în 60 de cazuri (92,3%) și a coincis cu diagnosticul negativ în toate cele 52 de cazuri (100%). *Aceste date indică o sensibilitate relativă de 92,3% și o specificitate relativă de 100%.*

	Adevărat +	Fals +
HpOne Pozitive	60	0
	Fals -	Adevărat -
HpOne Negative	5	52

Pozitive conform diagnosticului histologic = 65
Negative conform diagnosticului histologic = 52

HpOne Sensibilitate = 92,3% Valoare de predicție pozitivă = 100%
HpOne Specificitate = 100% Valoare de predicție negativă = 91,23%

HpOne a diagnosticat corect 66,67% dintre pozitive în primele 5 minute și 83,3% dintre pozitive în primele 15 minute. Nu au existat false pozitive atunci când diagnosticul a fost efectuat în termenul de o oră pentru citirea finală a testului.

14. FABRICAT PENTRU
GI Supply®
200 Grandview Ave.
Camp Hill, PA. 17011, SUA
(800) 451-5797

EC REP Emergo Europe, Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands

ESPAÑOL

ADVERTENCIA: es necesario leer la sección sobre el procedimiento con HpOne antes de utilizar la prueba. Antes de disponerse a realizar análisis, todos los operarios DEBEN leer y conocer esta información

COMPLEJIDAD: BAJA
Cualquier modificación que realice el laboratorio en el sistema de análisis o en las instrucciones de dicho sistema autorizadas por la FDA provocará que la prueba ya no cumpla los requisitos propios de la categoría de baja complejidad.

IVD

1. NOMBRE: HpOne

2. USO PREVISTO
HpOne detecta la enzima ureasa para identificar la posible presencia de *Helicobacter pylori* en biopsias de mucosa gástrica. Está prevista para usarse solamente en diagnóstico in vitro.

3. RESUMEN
Actualmente se sabe que *Helicobacter pylori* es el microorganismo causante de la mayoría de los casos de gastritis aguda de tipo B (1). Ahora se sabe que, en ausencia de ácido acetilsalicílico, fármacos antiinflamatorios no esteroideos o situaciones de hipersecreción gástrica, la bacteria está directamente relacionada con la aparición de úlceras gastroduodenales (tales como las úlceras duodenales y las gástricas benignas) (2). Se dispone de datos epidemiológicos que relacionan la presencia de *H. pylori* con el cáncer de estómago y el linfoma de tejido linfático asociado a las mucosas (MALT) (3,4) de grado bajo. Se ha observado que la eliminación de la gastritis causada por *H. pylori* mediante antibióticos puede curar las úlceras pépticas y evitar su reaparición (4,5).

4. FUNDAMENTO
Las biopsias endoscópicas de mucosa gástrica se colocan en un pocillo para muestras y se añade sobre la muestra de biopsia un reactivo que contiene urea, un colorante indicador del pH y agua oxigenada.

$$(NH_2)CO + 2H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{ureasa}} 2NH_4 + HCO_3^-$$

urea — ion amonio + ion bicarbonato

La ureasa, en presencia de H. pylori, convierte la urea en amoniaco, lo que aumenta el pH y hace que el reactivo cambie de color, lo cual indica una prueba con resultado positivo.

5. REACTIVOS
5.1 Conservación y estabilidad: (2°C – 8°C)
El reactivo **HpOne** puede conservarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante un máximo de 18 meses. No utilice la prueba si el reactivo no presenta un color amarillo o amarillo-anaranjado, o si ha vencido la fecha de caducidad. Cada frasco de reactivo **HpOne** dispone de una fecha de caducidad y un número de lote para posibilitar su seguimiento.

5.2 Eliminación:
Las muestras y dispositivos de prueba contaminados deben eliminarse según las normas vigentes para la eliminación de residuos que entrañan riesgo biológico.

6. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS
6.1 Preparación del paciente:
Los antibióticos y el bismuto, cuando se aplican en tratamientos de resultado insuficiente, pueden reducir la presencia del microorganismo pero no eliminarlo. Por tanto, el paciente no deberá haber tomado dichos compuestos durante varias semanas antes de la prueba. Después de un tratamiento que resulte insuficiente, el microorganismo podría reaparecer de manera dispersa, pudiendo impedir su detección mediante biopsias aleatorias. El paciente no deberá haber tomado inhibidores de la bomba de protones como omeprazol o lansoprazol, ya que estos medicamentos han demostrado un efecto bactericida sobre el microorganismo antes de la prueba.

6.2 Ubicación de la biopsia:
Dada la naturaleza dispersa de la infección por *H. pylori*, normalmente se recomienda que se tomen dos muestras de cada paciente, una de la zona inmediatamente anterior al píloro y otra de la porción proximal del antro, en la curvatura menor (6). Cualquier pinza convencional de biopsia permitirá obtener una muestra de tamaño suficiente; sin embargo, las pinzas más grandes proporcionarán una mayor cantidad de tejido y podrían favorecer la recuperación del microorganismo. Las biopsias deberán tomarse de zonas en las que la mucosa presente un aspecto normal, ya que las mucosas deterioradas o ulceradas podrían contener menos microorganismos.

7. PROCEDIMIENTO
PASO 1: Puede evaluarse el reactivo **HpOne** antes de la prueba. Dicho reactivo deberá ser de color amarillo. Si está verde o azul, podría indicar degradación del producto y no podrá usarse el reactivo. Para comprobar que el reactivo esté actuando correctamente, consulte el procedimiento de QC en la sección 9 de este prospecto.

PASO 2: saque de la bandeja el recogedor de muestras de biopsia de diseño especial. El recogedor de muestras de biopsia dispone de una punta de aguja y una espátula para retirar la muestra de las pinzas.

PASO 3: coloque las muestras en el fondo del pocillo de la bandeja. Añada dos o tres gotas del reactivo **HpOne** desde el frasco dispensador directamente al pocillo.

PASO 4: cubra el pocillo con la tapa que lleva unida, presionando firmemente dicha tapa hasta que quede cerrada. Si no la cierra del todo, se podría derramar el contenido durante la prueba. Anote el nombre del paciente y la hora en la etiqueta.

8. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
8.1 Los tiempos de lectura sugeridos para el **HpOne** son 5, 15, 30 y 60 minutos después de haber metido la prueba de biopsia en el pocillo. Cuando se observe una reacción positiva, no harán falta más lecturas.

8.2 Si hay *H. pylori*, el reactivo en el pocillo se empezará a volver de color azul claro. Observe que el cambio de color comenzará en la espuma que se forma en la interfaz líquido-aire. Si aparece cualquier coloración azul, incluso si es azul claro, el resultado se considerará positivo. El color azul claro se expandirá rápidamente hasta que toda la espuma y, después, el líquido bajo esta, se vuelvan de color azul, ya que se elevará el pH del medio reactivo.

pH aproximada	Color	Resultado
4,2-5,4	amarillo	negativo
5,5-6,9	azul claro	positivo
7,0 o superior	azul	positivo

8.3 El color amarillo indica ausencia de ureasa y el resultado es negativo. La lectura definitiva de una prueba negativa deberá realizarse como mucho al cabo de 1 hora.

8.4 Cualquier cambio de color a azul claro o azul en el reactivo en el plazo de 1 hora se considerará un resultado positivo (presunto diagnóstico).

8.5 Es muy infrecuente que la reacción sea inconclusa pasada 1 hora (no se ha observado en los datos clínicos) y deberá interpretarse conjuntamente con criterios histológicos o de otro tipo que correspondan. Es posible que se deba realizar un examen histológico utilizando una tinción válida a este respecto, como Giemsa o Warthin-Starry.

9. PROCESO DE CONTROL DE CALIDAD
Con cada envase de **HpOne** se incluye un kit de control positivo que consta de tiras absorbentes para el control de calidad (QC) y un pequeño frasco de control positivo. El frasco de control positivo administra aproximadamente 25 microlitros por gota de la preparación de ureasa-glicerol (referencia n.º U1875 del catálogo Sigma). Como control negativo puede usarse un microorganismo no productor de ureasa o una solución salina estéril. No se incluye el control negativo.

Utilice los controles en los casos siguientes:
- cuando haya un **cambio de número de lote**
- cuando haya un **nuevo operario**
- cuando haya un **cambio en las condiciones del entorno de laboratorio**

Realice el control positivo para comprobar la validez de cualquier resultado negativo.

9.1 Análisis del control de calidad:

a. Para un análisis de control positivo - deposite una sola gota de reactivo **HpOne** sobre la almohadilla absorbente de una de las tiras QC que se incluyen, y espere a que se absorba durante 10 a 20 segundos. Después ponga una sola gota de la solución de **control positivo** de ureasa sobre el mismo punto de la tira. El punto de análisis debería volverse azul en el plazo de 10 minutos. **Nota:** no realice la lectura de la tira de análisis si pasa más de 1 hora, ya que el color puede volverse de nuevo amarillo con el tiempo.

b. Para un análisis de control negativo - deposite una sola gota de reactivo **HpOne** sobre la almohadilla absorbente de una de las tiras QC que se incluyen y espere a que se absorba durante 10 a 20 segundos. Después ponga una sola gota de la solución de **control negativo** sobre el mismo punto de la tira. La prueba debería seguir dando color amarillo durante al menos 10 minutos.

Si alguna de las soluciones de control no reacciona correctamente, póngase en contacto con GI Supply en el 1-800-451-5797.

10. LIMITACIONES Y ADVERTENCIAS
10.1 Este ensayo no se ha autorizado para pacientes menores de 18 años de edad.

10.2 Falso positivo:
Los estudios indican que la ureasa de otros microorganismos como Proteus, Klebsiella, o Pseudomonas no es tan activa en el rango ácido de pH en el que comienza la reacción del **HpOne**. Esta propiedad tiende a separar la actividad ureasa de la *H. pylori* de la de otras bacterias. Los pacientes con aclorhidria total (anemia perniciosa, cirugía gástrica previa y reducción de ácidos a largo plazo mediante medicamentos) pueden presentar crecimiento de otras bacterias productoras de ureasa. En general, dichas bacterias presentan menos cantidad de ureasa y no provocan una rápida aparición del color azul en caso de resultado positivo.

10.3 Falso negativo:
Existen varios factores que pueden dar lugar a un resultado falso negativo.

a. Distribución dispersa de la infección - *H. pylori* a veces puede presentar una distribución dispersa, por tanto se recomiendan dos biopsias del antro, normalmente en la zona inmediatamente anterior al píloro y en la curvatura menor de la porción proximal del antro.

b. Metaplasia intestinal - *H. pylori* no coloniza metaplasias intestinales, por tanto, si este cambio en la mucosa resulta amplio, es posible que se produzca un falso positivo. De nuevo, recomendamos realizar varias biopsias.

c. Antibióticos - *H. pylori* es sensible a muchos agentes antimicrobianos, incluido el bismuto. Si los pacientes han tomado tratamiento con fármacos antimicrobianos hace poco tiempo, el microorganismo puede haber menguado su número, aunque normalmente no se elimina del todo. En este caso puede que se obtenga un número insuficiente de bacterias. Si se han usado antibióticos recientemente, se deberán realizar varias biopsias.

d. Inhibidores de la bomba de protones - los inhibidores de la bomba de protones, como omeprazol y lansoprazol, han mostrado tener un rápido efecto bactericida frente a *H. pylori*. Lo mejor es que se interrumpa el tratamiento durante al menos las dos semanas anteriores a la biopsia.

10.4 En casos de infección difíciles o dudosos, deberá valorarse la realización de más análisis, ya sean histológicos, serológicos o pruebas del aliento con carbono marcado (si es posible).

11. VALORES PREVISTOS
Para la población de pacientes con un elevado número de síntomas en el estudio clínico con **HpOne**, 65 de 117 de los presuntos pacientes o el 55,6 % dieron un resultado histológico positivo para *H. pylori*.

12. RENDIMIENTO PREVISTO FUERA DEL LABORATORIO
En 3 centros sin laboratorio, 60 usuarios sin formación en laboratorio analizaron las soluciones de control de 3 muestras, con enmascaramiento y aleatorizadas, que incluyeron 1 resultado negativo, 1 levemente positivo y 1 positivo. Los resultados mostraron las respuestas correctas positivas y correcta negativa en un 100 % de los casos.

13. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO
En un estudio con 117 pacientes con posible úlcera gastroduodenal, 65 presentaron signos positivos para criterios histológicos (presencia de *H. pylori* mediante tinción) en el caso de gastritis por *Helicobacter pylori*, y 52 no cumplieron dichos criterios. **HpOne** coincidió con el diagnóstico histológico positivo en 60 casos (92,3 %) y con el negativo en la totalidad de los 52 (100 %) casos. *Estos datos indican una sensibilidad relativa del 92,3 % y una especificidad relativa del 100 %.*

	Verdadero +	Falso +
HpOne Positivos	60	0
	Falso -	Verdadero -
HpOne Negativos	5	52

Positivos según diagnóstico histológico = 65
Negativos según diagnóstico histológico = 52

HpOne Sensibilidad = 92,3 % Valor de predicción positivo = 100 %
HpOne Especificidad = 100 % Valor de predicción negativo = 91,23 %

HpOne diagnosticó correctamente el 66,67 % de los positivos en un lapso de 5 minutos y un 83,3 % de los positivos en 15 minutos. No hubo falsos positivos al realizar el diagnóstico en la lectura definitiva de la prueba, transcurrida una hora.

14. FABRICADO PARA
GI Supply®
200 Grandview Ave.
Camp Hill, PA. 17011, EE. UU.
(800) 451-5797

EC REP Emergo Europe, Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands