

Pylori-Strip.
Test Inmunocromatográfico *in vitro* para la detección de *Helicobacter pylori* en muestra fecal.

USO IN VITRO
Referencia: C-1019, 25 tests por estuche.

I. INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* es una bacteria gram negativa que vive en la mucosa del estómago y duodeno, causando úlceras pépticas y gastritis crónicas, es también fuertemente asociada con malignidades gástricas y ha sido clasificado como carcinógeno de primera clase.

Es transmitida principalmente por la ruta fecal-oral en países en vía de desarrollo y gastro-oral en países desarrollados. El proceso por medio del cual una persona es colonizada y contrae la infección esta siendo investigado. *H. pylori* puede ser diagnosticado por medio de técnicas no invasivas (ensayos serológicos, determinación antigénica) o por medio de técnicas invasivas (endoscopias con biopsias para histología, cultivos y test rápido de ureasa). Sin embargo la detección por endoscopia es altamente específica, tiene un costo elevado y el procedimiento es bastante desagradable para el paciente.

El *H. pylori* es encontrado en mas del 90 % de los pacientes con úlcera duodenal y aproximadamente el 80 % de aquellos con úlcera gástrica. La infección por *H. pylori* es una de las infecciones crónicas mas frecuentes alrededor del mundo: 20 al 90 % de los adultos están infectados en el país, la infección es más común en países desarrollados que en países industrializados. La alta incidencia de esta infección en la población y las consecuencias que incluyen riesgo de cáncer estomacal, justifica la provisión de una herramienta de diagnostico rápida contra la bacteria.

II. PRINCIPIO DEL TEST.

El ensayo viene listo para usar y esta basado en el principio de inmunocromatografía. La muestra fecal debe ser diluida en un buffer de dilución que es suministrado en el kit. La membrana de nitrocelulosa es sensibilizada con anticuerpos dirigidos contra el *H. pylori*. La especificidad se la proporciona un anticuerpo monoclonal dirigido contra el antígeno del *H. pylori*, el cual es conjugado con microesferas de látex. El conjugado es absorbido en una membrana de polyester.

Cuando se mete la varilla en la fase líquida de la suspensión de materias fecales, el conjugado resolubilizado migra por capilaridad con la muestra y el conjunto se encuentra con el anticuerpo monoclonal dirigido específicamente contra el antígeno del *H.pylori* absorbido en la nitrocelulosa. Si hay *H. pylori* en la muestra, el complejo conjugado-antígeno *H.pylori* se fija al anticuerpo monoclonal absorbido en la tira de nitrocelulosa. El resultado puede verse a los 10 minutos cuando aparece una raya roja oscura en la varilla. La migración continúa y la solución se encuentra con un segundo reactivo (reactivo control) que fija el exceso de conjugado, generando así una segunda raya verde que confirma que el resultado se está realizando apropiadamente.

III. REACTIVO Y MATERIALES.

Cada kit contiene: Pylori-Strips, Buffer de dilución y componentes opcionales.

1. Pylori-Strip:

Cada Pylori-Strip esta sensibilizada con un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra los antígenos de *H. pylori* y con un anti-anticuerpo.

El conjugado anti-H.pylori es producido con un anticuerpo monoclonal que reconoce el antígeno específico de H. pylori. Estas tiras vienen en un estuche con desecante.

2. Tampón de dilución (15 ml):

Solución salina tamponada de pH 7,5 con TRIS y que contiene EDTA, NaN3 (<0,1%), un detergente y proteínas de carga.

3. Material necesario no suministrado:

- Tubos de ensayo de 3 ml o de 5 ml.
- Asas de siembra para la toma de muestras de heces.

IV- PRECAUCIONES ESPECIALES

- Todas las operaciones relacionadas con el uso del test deben ser realizadas en concordancia con las buenas prácticas de laboratorio.
- Las tiras para H. pylori son para uso diagnóstico in Vitro.
- Evite tocar las tiras de nitrocelulosa con los dedos.
- Utilice guantes cuando manipule las muestras.
- Nunca use reactivos de otro kit.
- Descarte la solución buffer si esta presenta contaminación bacteriana.
- La calidad de los reactivos no puede ser garantizada mas allá de la vida media del kit o bajo condiciones de almacenamiento inapropiadas.

Para evitar diluir el conjugado en la solución, tenga cuidado de no sumergir la tira por encima de la línea situada debajo de la flecha.

V-ALMACENAMIENTO.

- Una vez abierto el kit de H. pylori debe ser mantenido entre 4 y 30°C y debe ser usado hasta la fecha de vencimiento.
- Las tiras se mantienen estables por 15 semanas, una vez abierto deben ser guardadas a una temperatura entre 4 y 30°C en un ambiente seco.
- Las tiras de H. pylori y el buffer no deben ser congelados.

VI-MUESTRAS.

- Las muestras de heces deben ser ensayadas tan rápido como sea posible luego de ser recolectadas. Si es necesario pueden ser guardadas de 2-8 °C por 24 horas.
- Asegúrese que las muestras no sean tratadas con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados.

VII.- PROCEDIMIENTO.

Preparación:

1. Si el kit de H. pylori fue guardado a 4°C, deje todos los reactivos alcanzar temperatura ambiente antes de proceder a ensayar las muestras.

2. Coloque el nombre del paciente o número de la muestra en el tubo de ensayo.
3. Coloque los tubos ya marcados en el rack.

Procedimiento:

1. Añada 0.5 ml o 15 gotas del buffer de dilución en cada tubo. Introduzca el inoculado de la muestra de heces dentro del tubo.
2. Agite hasta homogeneizar la solución y déjelo reposar por 1-2 minutos.
3. Descarte el inoculado e introduzca la tira sensibilizada en la dirección indicada por la flecha roja.
4. Deje reaccionar por 10 minutos.
5. Los Resultados deben ser leídos con la tira aun húmeda.

VII.-INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS.

Los resultados deben ser interpretados como siguen:

Una línea verde: Negativa

Una línea verde y una línea roja: Positiva

Ninguna línea: Resultado inválido.

La ausencia de una línea de control, hace el ensayo inválido. En este caso la muestra debe ser ensayada nuevamente.

La intensidad de la línea de ensayo puede variar de acuerdo a la cantidad de antígeno encontrado en la muestra. Cualquier color, inclusive débil, debe ser considerado como positivo. Sin embargo el test es cualitativo y no puede predecir la cantidad de antígeno presente en la muestra. La presentación clínica junto con otros resultados de laboratorio deben ser tomados en consideración para establecer un diagnóstico.

IX. CONTROL DE CALIDAD.

En concordancia con las Buenas practicas de laboratorio, nosotros recomendamos chequear el procedimiento del ensayo regularmente con los requerimientos del laboratorio.

XI. LIMITACIONES DEL KIT.

- Los resultados del kit de H pylori debe ser comparado con otras informaciones clínicas y de laboratorio disponibles.
- Un test positivo no descarta la posibilidad de que otros patógenos puedan estar presentes.
- El Kit de H pylori es un test de screening de fase aguda. Las muestras de heces que son recolectadas luego de esta fase pueden contener títulos de antígenos por debajo de la sensibilidad de este método.