

Immunoensayo de la Enzima para la Determinación Cualitativa de la Presencia de Anticuerpos Anti-Helicobacter pylori IgG en Suero Humano

Solo para diagnóstico In Vitro
Para uso exclusivo en laboratorios clínicos o de gabinete
Conservar entre 2°C a 8°C

RESUMEN Y PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Paso	Temp. ambiente 20 - 25°C	Volumen	Tiempo de incubación
1	Dilución de la muestra 1:40 (5µL / 200µL)		
2	Muestras diluidas, controles y calibrador	100 µL	30 minutos
3	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
4	Enzima conjugada	100 µL	30 minutos
5	Buffer de lavado (3 veces)	350 µL	
6	TMB Substrato Cromogénico	100 µL	15 minutos
7	Solución de paro	100 µL	
8	Lectura a una densidad óptica de 450 nm		

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Helicobacter pylori es una bacteria espiral que se cultivó desde la mucosa gástrica humana por Marshall in 1982. Los estudios han indicado que la presencia de *H. pylori* está asociada con una variedad de enfermedades gastrointestinales incluyendo gastritis, úlcera gástrica y duodenal, dispepsia no ulcérica, linfoma y adenocarcinoma gástrico. El organismo está presente en el 95-98% de los pacientes con úlcera duodenal y en el 60-90% de los pacientes con úlceras gástricas. Los estudios han también demostrado que la remoción del organismo por medio de terapia antimicrobiana está correlacionada con la resolución de los síntomas y cura de enfermedades.

Los pacientes que presentan síntomas clínicos relacionados con el tracto gastrointestinal pueden ser diagnosticados para la infección *H. pylori* por medio de dos métodos

1. Las técnicas invasivas incluyen la biopsia seguida de un cultivo o examen histológico de espécimen de biopsia o detección directa de actividad ureasa.
2. Las técnicas no invasivas incluyen pruebas de aliento de urea y métodos serológicos.

Todas las pruebas realizadas en muestras de biopsia están sujetas a errores relacionados con el muestreo e interferencia de bacterias contaminantes. H.PYLORI IgG prueba la presencia del anticuerpo IgM específico contra *H. pylori*, siendo esta técnica la de elección para las pruebas serológicas por su precisión y simplicidad.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El antígeno *H. pylori* purificado está cubierto sobre la superficie de los micro depósitos. El suero diluido del paciente es agregado a los depósitos, y los anticuerpos específicos de *H. pylori* IgG, si se encontraran presen-

tes, se adhieren al antígeno. Todos los materiales no adheridos son lavados para su retiro. Después de agregar el conjugado de enzima, éste se adhiere al complejo del antígeno-anticuerpo. El exceso de conjugado de enzima es lavado para su retiro y el substrato cromogénico es agregado. La reacción catalítica del conjugado de enzima es detenida a un tiempo específico. La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad de anticuerpo específico de IgG en la muestra. Los resultados son interpretados por un lector micro pozos comparados de una manera paralela con un calibrador y controles.

REACTIVOS

Materiales abastecidos con el equipo de prueba:

1. Placa de micropozos cubiertos de antígeno de *H. pylori* (12x8)
2. Diluyente de muestra. 1 Frasco
3. Calibrador: Valor del factor (f) indicado en la etiqueta. 1 Vial
4. Control Negativo: Rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
5. Control Positivo: rango indicado en la etiqueta. 1 Vial
6. Solución Lavado Concentrado 20x. 1 Frasco
7. Enzima Conjugada. 1 Frasco
8. Substrato Cromogénico TMB. 1 Frasco
9. Solución de Paro. 1 Frasco

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

1. Almacenaje del equipo de 2 a 8 °C.
2. Siempre mantenga los micropozos herméticamente sellados en la bolsa con el desecante. Recomendamos que use hasta agotar todos los pozos dentro de las 4 semanas después de la apertura inicial de la bolsa.
3. Los reactivos son estables hasta la fecha de expiración del equipo.
4. No exponer los reactivos al calor, sol o luz fuerte durante el almacenaje o uso.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DEL ESPÉCIMEN

1. Recolecte muestras sanguíneas y separe el suero.
2. Los especímenes pueden ser refrigerados a 2-8°C por hasta siete días o congelados por hasta seis meses. Evite el congelado y descongelado repetitivo de la muestra de suero.

PREPARACIÓN PARA EL ENSAYO

1. Prepare solución amortiguadora de lavado 1x. Agregar agua destilada o desionizada a la solución de lavado concentrado 20x para obtener un volumen final de 1 litro.
2. Ponga todos los especímenes y reactivos del equipo de prueba a temperatura ambiente (20 - 25°C) y mezcle suavemente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Colocar el numero deseado de tiras recubiertas en el soporte.
2. Preparar una dilución 1:40 de las muestras de prueba, control negativo, control positivo y calibrador al agregar 5 µL de la muestra a 200 µL del diluyente de muestra. Mezcle bien.
3. Dispensar 100 µL de suero diluido, calibrador, y controles en los pocillos apropiados. Para el blanco de reactivo, vierta 100 µL de diluyente de muestra en la posición del pozo A1. Mezcle e incube por 30

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

- minutos a temperatura ambiente.
- Retirar el líquido de todos los pocillos y repita el lavado tres veces con el buffer de lavado.
 - Dispensar 100 µL de enzima conjugada a cada pocillo e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
 - Retirar la enzima conjugada de todos los pozos. Repita el lavado 3 veces con el buffer de lavado.
 - Dispensar 100 µL de TMB substrato cromogénico a cada pocillo e incube por 15 minutos a temperatura ambiente.
 - Dispensar 100 µL de solución de paro para detener la reacción. *Nota: Asegúrese que no existan burbujas de aire en cada pozo antes de la lectura.*
 - Leer a 450 nm D.O. con un lector de micro-pozos.

CÁLCULO DE RESULTADOS

- Para obtener el valor del Cut-off, multiplique la D.O. del calibrador por el factor (f) impreso en la etiqueta del calibrador.
- Calcule el índice IgG para cada determinación dividiendo los valores de las densidades ópticas de cada muestra obtenida entre el valor obtenido del Cut-off.

Ejemplo:

Valor del factor impreso en la etiqueta (f) = 0.4

Nota: El valor de este factor es variable. Puede estar entre 0.35 a 0.5 impreso en la etiqueta del calibrador.

Calibrador D.O. = 1.100

Cut off D.O. = 1.100 x 0.4 = 0.44 (Index IgG = 1)

Muestra del paciente D.O. = 0.580

IgG Index = 0.580 / 0.44 = 1.32 (Resultado Positivo)

Muestra del paciente D.O. = 0.320

IgG Index = 0.320 / 0.44 = 0.73 (Resultado Negativo)

CONTROL DE CALIDAD

La corrida puede ser considerada válida si reúne los siguientes criterios:

- El valor de la D.O. (Densidad óptica) del blanco del reactivo contra el aire de un lector de micro pozos debe ser menor de 0.150
- Si el valor de la D.O. del calibrador es más bajo que 0.250, la prueba no es válida y debe repetirse.
- El índice IgG para el control negativo y positivo debe estar en el rango indicado en las etiquetas.

INTERPRETACIÓN

- NEGATIVO:** El índice *H. pylori* IgG de 0.90 o menor es seronegativo para el anticuerpo IgG contra *H. pylori*. La muestra de suero pudo haber sido tomada muy prematuramente.
- INDETERMINADO:** Índice *H. pylori* IgG de 0.91-0.99 es indeterminado. Vuelva a probar de una manera paralela con una nueva muestra de suero tomada 3 semanas después.
- POSITIVO:** Índice *H. pylori* IgG es de 1.00 o mayor es seropositivo.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Un total de 347 muestras de pacientes fueron utilizadas para evaluar la especificidad y sensibilidad de la prueba. Los resultados de la prueba de *H. pylori* IgG fueron comparados con los hallazgos de biopsia endoscópica.

		Biopsia Endoscópica			
		N	E	P	Total
H.PYLORI IgG	N	134 (D)	0	2 (B)	136
	E	6	0	5	11
	P	4(C)	0	196 (A)	200
	Total	144	0	203	347

Sensibilidad = $A / (A+B) = 196 / 198 = 99\%$

Especificidad = $D / (C+D) = 134 / 138 = 97\%$

Exactitud = $(A+D) / (A+B+C+D) = 330 / 336 = 98\%$

La comparación de la prueba de *H. pylori* IgG con resultados de equipos de prueba ELISA comerciales están a continuación resumidos:

		Referencia ELISA			
		N	E	P	Total
H.PYLORI IgG	N	96 (D)	1	4 (B)	101
	E	2	2	1	5
	P	3 (C)	0	105 (A)	108
	Total	101	3	110	214

Sensibilidad = $A / (A+B) = 107 / 109 = 96\%$

Especificidad = $D / (C+D) = 96 / 99 = 97\%$

Exactitud = $(A+D) / (A+B+C+D) = 201 / 208 = 97\%$

La precisión del ensayo fue evaluada por medio de la prueba de tres diferentes sueros de ocho réplicas en tres días. C.V. está a continuación resumido.

	Negativo	Positivo Bajo	Positivo
Intra-ensayo	9.1%	8.5%	6.4%
Inter-ensayo	10.5%	8.9%	7.5%

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El ensayo debe ser solamente utilizado para evaluar a pacientes con señales clínicas que sugieren una enfermedad gastrointestinal.
- Un resultado de prueba positivo no permite a uno distinguir entre infección activa y colonización por *H. pylori*. No necesariamente indica que una enfermedad gastrointestinal esté presente.

REFERENCIAS

- Marshall, B.J. and J.R. Warren. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and Peptic ulceration, *Lancet* 1:131-1314, 1984.
- Ruawsa, E.A.J. and G.N.J. Tygat. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *Helicobacter Pylori*, *Lancet* 335:1233-35, 1990.
- Perez-Perez, G.I. S.S. Wilkin, M.D. Decker and M.J. Blaswer. Seroprevalence of *Helicobacter Pylori* infection in couples. *J.Clin. Microbiol.* 29:642-644, 1991.

Diagnóstica
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS
1155 CHESS DRIVE No. 121
FOSTER CITY, CA 94404 USA