

Immunoensayo de la Enzima para la Determinación Cualitativa de la Presencia de Anticuerpos IgM contra *Helicobacter pylori* 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	Búfer de lavado (3 veces)	350 µL	
4	Enzima conjugada	100 µL	30 minutos
5	Búfer 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 IgM 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* IgM, 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 IgM 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 con antígeno de *H. pylori* (12x8)
2. Solución Absorbente. 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.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Materiales potencialmente bio-peligrosos: Los calibradores y controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y se han encontrado no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B así como el anticuerpo de HIV con los reactivos autorizados por la FDA. Sin embargo, como con cualquier método de prueba no se puede ofrecer una completa seguridad de que los virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén ausentes, estos reactivos deben manejar el Nivel 2 de Bio seguridad, como es recomendado en los Centers for Disease Control / National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories". 1984
2. No pipetear con la boca, no fumar, comer o beber en las áreas en que las muestras o equipos son manejados.
3. Se entiende que los componentes en este equipo son para el uso de una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben mezclarse.
4. Estos productos contienen componentes preservados con azida de sodio. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías para formar una azida metálica explosiva. En disposición, vacíe con un gran volumen de agua.

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

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 número 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 de solución absorbente. 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 la solución absorbente en la posición del pozo A1. Mezcle e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
4. Retirar el líquido de todos los pocillos y repita el lavado tres veces con el buffer de lavado.
5. Dispensar 100 µL de enzima conjugada a cada pocillo e incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Retirar la enzima conjugada de todos los pozos. Repita el lavado 3 veces con el buffer de lavado.
7. Dispensar 100 µL de TMB substrato cromogénico a cada pocillo e incube por 15 minutos a temperatura ambiente.
8. 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.*
9. Leer a 450 nm D.O. con un lector de micro-pozos.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Para obtener el valor del Cut-off, multiplique la D.O. del calibrador por el factor (f) impreso en la etiqueta del calibrador.
2. Calcule el índice IgM 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

Calibrador D.O. = 1.100

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

Muestra del paciente D.O. = 0.580

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

Muestra del paciente D.O. = 0.320

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

CONTROL DE CALIDAD

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

1. 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

2. Si el valor de la D.O. del calibrador es más bajo que 0.250, la prueba no es válida y debe repetirse.
3. El índice IgM para el control negativo y positivo debe estar en el rango indicado en las etiquetas.

INTERPRETACIÓN

- **NEGATIVO:** El índice *H. pylori IgM* de 0.90 o menor es seronegativo para el anticuerpo IgM contra *H. pylori*. La muestra de suero pudo haber sido tomada muy prematuramente.
- **INDETERMINADO:** Índice *H. pylori IgM* 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 IgM* es de 1.00 o mayor es seropositivo.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El ensayo debe ser solamente utilizado para evaluar a pacientes con señales clínicas que sugieren una enfermedad gastrointestinal.
2. 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

1. 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.
2. Ruawsa, E.A.J. and G.N.J. Tygat. *Cure of duodenal ulcer associated with eradication of Helicobacter Pylori*, *Lancet* 335:1233-35, 1990.
3. 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