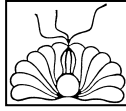


## GAP®-IgM

REF 7006



Agosto 2018

**BIOMERICA**

### I. USO PROPUESTO

Este inmunoanálisis se usa para la detección cuantitativa de anticuerpos IgM contra el *Helicobacter pylori* en suero humano. Estos reactivos sólo deben emplearse para diagnóstico *in vitro*.

### II. RESUMEN DE LA PRUEBA

Se ha encontrado *Helicobacter pylori* en muestras de biopsia del epitelio gástrico de pacientes que presentan gastritis activa tipo B.<sup>1,2,3,4,5</sup> Aunque se desconoce la vía de contagio, algunos informes han mostrado que la infección por *H. pylori* se asocia con gastritis crónica.<sup>6,7</sup> Se ha encontrado correlación entre la presencia de *H. pylori* y las lesiones gástricas en algunos casos de úlcera duodenal.<sup>8</sup> También se ha documentado la resolución completa de la gastritis después de la erradicación del microorganismo.<sup>9</sup>

El *H. pylori* es un bacilo gramnegativo curvo, en forma de espiral, de 0,2 a 0,8  $\mu$  de ancho y de 0,5 a 5,0  $\mu$  de largo. Coloniza la porción profunda de la capa gelatinosa de la mucosa y la superficie apical de las células epiteliales de la mucosa gástrica. También se puede encontrar en la unión entre células epiteliales adyacentes de la misma.

La presencia del *H. pylori* se puede detectar por métodos invasivos y no invasivos. Los invasivos comprenden el análisis de muestras de biopsia con cultivo, examen histológico y prueba de ureasa rápida. Debido a la distribución irregular del *H. pylori* en los tejidos, los resultados falsos negativos son frecuentes. Los procedimientos no invasivos comprenden las pruebas séricas de detección de anticuerpos contra el *H. pylori* y la prueba de aliento con urea marcada con isótopos radiactivos. No se conocen bien los mecanismos de producción de la enfermedad del *H. pylori*. Puede sobrevivir en la mucosa gástrica posiblemente durante varios años. También se encuentra a menudo en personas que se consideran sanas y que no presentan síntomas clínicos de enfermedad.

### III. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El estuche de GAP IgM es una prueba de ELISA cuantitativo para la detección de anticuerpos específicos contra el *H. pylori* en suero humano. Se inmovilizan antígenos parcialmente purificados de *H. pylori* en los pocillos de una placa de microtitulación y en ellos se añade suero diluido del paciente. Los anticuerpos específicos contra el *H. pylori* que se encuentren en el suero se fijarán a los antígenos de los pocillos. Los anticuerpos inespecíficos se retiran durante el lavado. En los pocillos se añade la IgM antihumana conjugada con la enzima, la cual se fija al complejo formado por el anticuerpo y el antígeno. El exceso del conjugado enzimático se retira en el lavado. Al agregar un sustrato de la enzima aparece un color cuya intensidad es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo presente en la muestra de suero.

### IV. COMPONENTES DEL ESTUCHE

1. **PLA H. Pylori = Pocillos recubiertos con antígeno:** 96 pocillos de microtitulación recubiertos con antígenos inactivados del *H. pylori*
2. **CAL 0-4 = Calibradores:** 5 frascos de 1 mL que contienen 0; 12,5; 25; 50 y 100 unidades/mL respectivamente de anticuerpos IgM contra el *H. pylori* en suero humano tamponado
3. **CTRL + - = Controles:** 1 mL de reactivos control, tanto positivo como negativo, de IgM contra el *H. pylori* en suero humano tamponado
4. **DIL SPE 10X = Concentrado del diluyente de muestras:** 50 mL de solución salina amortiguada con fosfato más Tween.
5. **CONJ ENZ = Conjugado enzimático:** 10 mL de conjugado de IgM antihumana de cabra con peroxidasa de rábano, en una solución amortiguadora de trometamol y albúmina sérica bovina
6. **SUBS A TMB = Solución A del sustrato:** 12 mL de tetrametil bencidina en un amortiguador de acetato con dimetilsulfóxido
7. **SUBS H2O2 = Solución B del sustrato:** 12 mL de peróxido de hidrógeno en un amortiguador de acetato
8. **BUF WASH 50X = Concentrado para lavado (50x):** 20 mL de solución salina amortiguada con fosfato más Tween.
9. **SOLN STOPPING = Solución para detener la reacción:** 6 mL de una solución 1 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

**Todos los componentes del estuche se deben conservar entre 2 y 8 °C.** Los calibradores, los controles y el diluyente del suero contienen azida de sodio al 0.09 % como conservante.

### V. EQUIPO ADICIONAL NECESARIO

1. Lector de microplacas
2. Lavador de microplacas
3. Pipetas que dispensen 25, 50 y 100  $\mu$ L
4. Pipetas volumétricas: de 5 y 10 mL
5. Probetas graduadas: de 500 y 1000 mL
6. Tubos de ensayo: 13 x 100 mm
7. Película de plástico
8. Agua desionizada

### VI. PRECAUCIONES

Los componentes de este producto contienen materiales de origen humano que se han sometido a análisis con métodos aprobados por la FDA, en los que se obtuvieron resultados negativos para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y los anticuerpos contra el virus de la hepatitis C y los virus VIH-1 y VIH-2. Sin embargo, ningún método de análisis puede dar una garantía absoluta de inocuidad. Estos componentes **no** se han sometido a pruebas para detectar anticuerpos contra el HTLV-1 ni el HTLV-2. Por esta razón se recomienda considerar que son potencialmente infecciosos y manejarlos con las mismas precauciones que se emplean con las muestras de pacientes.

Algunos reactivos de este estuche contienen el conservante azida de sodio. La azida de sodio puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y producir azidas metálicas explosivas. Cuando sea necesario desecharlos, se deben siempre aclarar con bastante agua para prevenir la acumulación de azidas.

El dimetilsulfóxido y el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> son irritantes de la piel y de los ojos. Se debe evitar el contacto de los reactivos con estos órganos. Usar guantes y anteojos de seguridad. Si hay contacto con la piel o los ojos, enjuagar con agua durante por lo menos 5 minutos.

## VII. PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS REACTIVOS

**Solución diluyente para muestras:** Verter el contenido completo del frasco de concentrado de diluyente en un recipiente de 500 mL de capacidad. Agregar 450 mL de agua desionizada, enjuagando el frasco para retirar los cristales que se hayan precipitado. Mezclar completamente.

**Solución de lavado:** Si el concentrado de amortiguador de lavado contiene cristales debido al almacenamiento a una temperatura menor, como podría ser 2-8°C, disuélvalo colocando el vial en el baño María a 37°C o en una incubadora durante 30 minutos. Agregar el contenido completo del concentrado para lavado en un recipiente de 1 litro de capacidad. Agregar 980 mL de agua desionizada, enjuagando el frasco para retirar los cristales que se hayan precipitado. Mezclar completamente.

**Solución de trabajo del sustrato:** En la hora anterior al momento de usar los reactivos, mezclar volúmenes iguales de solución A y de solución B del sustrato. Preparar solamente la cantidad necesaria. Cada tira de micropocillos necesita un mínimo de 800 µL de solución de trabajo del sustrato. Por ejemplo, para 6 tiras de micropocillos se deben mezclar 3,0 mL de solución A con 3,0 mL de solución B. Conservar en la oscuridad o cubrir con papel de aluminio. Usar antes de 1 hora. La solución de lavado, la solución diluyente para muestras y los reactivos del estuche abierto tienen una estabilidad de 60 días cuando se conservan entre 2 y 8 °C.

## VIII. RECOLECCIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

La prueba debe realizarse en suero. Se deben tener en cuenta las precauciones acostumbradas en la venopunción. No usar anticoagulantes ni conservantes, ni emplear muestras muy hemolizadas ni muy lipémicas. El suero se puede conservar entre 2 y 8 °C por un máximo de 10 días. Si es necesario conservarlo durante un período mayor, deberá almacenarse a -20 °C.

## IX. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Cada muestra de suero se debe diluir con la solución diluyente. Agregar 25 µL de la muestra de suero a 5 mL de solución diluyente. Mezclar completamente. Los controles y los calibradores vienen prediluidos y listos para usar.

## X. PROCEDIMIENTO

1. Todos los reactivos y muestras deben estar a temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C) antes de comenzar la prueba. Colocar el número deseado de tiras de micropocillos en el soporte para tiras.
2. Pipetear 100 µL de cada calibrador, control y muestra diluida de los pacientes en los pocillos respectivos. Los calibradores y los controles vienen prediluidos y listos para usar. Cubrir la placa con una película de plástico e incubarla durante 1 hora entre 22 y 26 °C.
3. Decantar el contenido de los pocillos y lavar 3 veces con 300 µL de solución lavadora. Eliminar completamente el exceso de líquido después de cada lavado.

4. Agregar 100 µL de conjugado enzimático a cada pocillo. Cubrir la placa con una película de plástico e incubarla durante 30 minutos entre 22 y 26 °C.

5. Preparar la solución de trabajo del sustrato. Véase PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS.

6. Decantar el contenido de los pocillos y lavar 3 veces con 300 µL de solución lavadora. Eliminar completamente el exceso de líquido después de cada lavado.

7. Agregar 100 µL de la solución de trabajo del sustrato a cada pocillo. Cubrir la placa con una película de plástico e incubarla durante 10 minutos **en la oscuridad** entre 22 y 26 °C.

8. Inmediatamente después de la incubación, agregar a cada pocillo 50 µL de la solución para detener la reacción. Mezclar los reactivos dando golpecitos leves en la placa.

9. Medir la densidad óptica de cada pocillo a una longitud de onda de 450 nm. La placa debe leerse en los 30 minutos siguientes a la adición de la solución que detiene la reacción. Ajustar los datos a una curva cuadrática para obtener la curva de calibración y calcular los resultados.

## XI. CONTROL DE CALIDAD

De acuerdo con las prácticas correctas de laboratorio, los controles positivos y negativos se deben analizar al tiempo con las muestras de los pacientes. El hecho de no obtener los valores adecuados para los controles puede indicar manipulaciones imprecisas, manejo incorrecto de la muestra o deterioro de los reactivos.

	GAP-IgM
Negativo	< 10 U/mL
Positivo	40-70 U/mL
Cero	< 0,2 DO media

## XII. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

	GAP-IgM
Positivo	> 40
Dudoso	36 - 40
Negativo	< 36

A los pacientes con resultados dudosos se les debe extraer una nueva muestra de sangre a las dos semanas y la segunda muestra se debe analizar junto con la primera.

## XIII. ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD

En cuatro dispensarios se realizaron estudios clínicos con la prueba GAP IgM en pacientes que acudieron con síntomas clínicos típicos de gastritis. Las muestras de biopsia obtenidas de estos pacientes se cultivaron y se sometieron a tinciones histológicas y de detección de ureasa. Los resultados de las pruebas GAP se compararon con los de la biopsia.

	GAP-IgM
Sensibilidad (%)	93,8
Especificidad (%)	82,0
Exactitud (%)	89,3
Número de pacientes	109

## PRECISIÓN INTRASERIAL

Se determinó la precisión intraserial analizando 12 muestras paralelas de tres especímenes de suero.

### GAP-IgM

Media (U/mL)	Desviación típica (U/mL)	Coefficiente de variación (%)
10,2	0,5	4,9
25,2	1,4	5,7
44,4	2,5	5,7

## PRECISIÓN INTERSERIAL

La precisión interserial se determinó analizando tres muestras de suero en diez series separadas, realizadas por cuatro personas diferentes.

### GAP-IgM

Media (U/mL)	Desviación típica (U/mL)	Coefficiente de variación (%)
10,1	1,1	11,2
21,2	1,9	8,9
39,7	4,0	10,0

## XIV. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La prueba GAP IgM es análisis cuantitativos para detectar la presencia de anticuerpos específicos contra el *H. pylori* y no indican el título del anticuerpo.









Un resultado positivo no distingue entre la colonización y la infección por el *H. pylori* ni indica la presencia de enfermedad gastrointestinal.

Un resultado negativo no excluye la presencia del *H. pylori*. Es posible que haya colonización pero que ésta se encuentre en sus etapas más precoces o que el título del anticuerpo sea demasiado bajo para que la prueba lo detecte.

Las personas de más de 50 años tienen una mayor probabilidad de haber tenido contacto con el *H. pylori* en el pasado y quizá tengan concentraciones bajas pero detectables de anticuerpos específicos contra la bacteria, sin presentar síntomas clínicos.<sup>10,11,12</sup> Además, la incidencia de seropositividad puede ser diferente entre una población y otra.<sup>13</sup>

La prueba GAP IgM para *H. pylori* se debe usar sólo en pacientes que refieran signos y síntomas clínicos relacionados con gastritis. No deben usarse en pacientes asintomáticos.

## XV. SÍMBOLOS

	Temperatura del almacenamiento
	Código de la serie
	Vencimiento
	Fabricante
	Representante autorizado
	Cuidado, vea las instrucciones
	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
	N. catalogo

## XVI. BIBLIOGRAFÍA

1. Marshall, B.J. and Warren, J.R.: "Unidentified Curved Bacillus on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis" (letter), *Lancet*, **1**:1273, 1983.
2. Rollason, T.P. et al: "Spiral Organisms in Endoscopic Biopsies of the Human Stomach," *J. Clin. Pathol.*, **37**:23, 1984.
3. Steer, H.W.: "The Gastro-duodenal Epithelium in Peptic Ulceration," *J. Pathol.*, **146**:355, 1985.
4. Buck, G.E. et al: "Relation of *Campylobacter pyloridis* to Gastritis and Peptic Ulcer," *J. Infect. Dis.*, **153**:664, 1986.
5. Jones, D.M. et al: "*Campylobacter*-like Organisms on the Gastric Mucosa Culture, Histological and Serological Studies," *J. Clin. Pathol.*, **37**:1002, 1984.
6. Strickland, R.G. and Mackay, I.R.: "A Reappraisal of the Nature and Significance of Chronic Atrophic Gastritis," *Amer. J. Diag. Dis.*, **18**:426, 1973.
7. Pettross, C.W. et al: "*Campylobacter pylori* Relationship to Peptic Disease, Gastric Inflammation and Other Conditions," (Abstract) *Gastroenterology*, **90**:1585, 1986.
8. McKenna, D. et al: "*Campylobacter pylori* and Histological Gastritis in Duodenal Ulcer: A Controlled Prospective Randomized Trial," (Abstract) *Gastroenterology*, **912**:1528, 1987.
9. McNulty, C.A., et al: "*Campylobacter pylori* and Associated Gastritis: Investigator Blind, Placebo Controlled Trial of Bismuth Salicylate and Erythromycin Perthylsuccinate," *Br. Med. J.*, **293**:645, 1986.
10. Jones, D.M. et al: "Antibody to the Gastric *Campylobacter*-like Organism ("*Campylobacter pyloridis*") – Clinical Correlation and Distribution in the Normal Population," *J. Med. Microbiol.*, **22**:57, 1986.
11. Rathbone, B.J. et al: "Systemic and Local Antibody Response to Gastric *Campylobacter pylori* in Nonulcerous Dyspepsia," *Gut*, **27**:642, 1986.
12. Morris, A.G. et al: "Seroepidemiology of *Campylobacter pyloridis*," *N. Z. Med. J.*, **99**:657, 1986.
13. Forman, D. et al: "An International Association Between *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Cancer," *Lancet*, **341**:1359, 1993.

## XVII. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

PEDIDOS: Envíe su pedido de compra a:

BIOMERICA, INC.  
17571 Von Karman Avenue  
Irvine, California 92614 USA

Teléfono: (949) 645-2111  
FAX: (949) 553-1231  
Sitio web: [www.biomerica.com](http://www.biomerica.com)  
Correo electrónico: [bmra@biomerica.com](mailto:bmra@biomerica.com)

67006\_spa-5.doc

agosto 2018



"Authorized Representative"  
according to IVDD 98/79/ EC

Medical Device Safety Service GmbH  
Schiffgraben 41  
D-30175 Hannover, Germany  
Tel: 49-511-62628630  
Fax: 49-511-62628633