

GAP®-IgM

REF 7006



agosto 2018

BIOMERICA**I. USO PREVISTO**

Test quantitativo per la determinazione *in vitro* di anticorpi IgM specifici per *Helicobacter pylori*. Questi reagenti sono per uso diagnostico *in vitro*.

II. INTRODUZIONE E SCOPO DEL TEST

L'*Helicobacter pylori* è stato trovato nell'epitelio gastrico da biopsie di pazienti che presentavano gastrite attiva di tipo B.^{1,2,3,4,5} Sebbene il percorso dell'infezione sia sconosciuto, differenti studi clinici hanno mostrato che l'infezione da *H. pylori* è associata alle gastriti croniche.^{6,7} È stata dimostrata una correlazione tra la presenza dell'*H. pylori* e lesioni gastriche in alcuni casi di ulcere duodenali.⁸ Inoltre sono state riportate complete guarigioni di gastriti dopo l'eradicazione dell'*H. pylori*.⁹

L'*H. pylori* è un batterio gram negativo, curvo, spiraliforme, largo 0,2 – 0,8 μ e lungo 0,5 – 5 μ in grado di colonizzare la profonda porzione delle mucose e la superficie apicale delle cellule epiteliali della mucosa gastrica. Inoltre può essere localizzato fra le giunzioni delle cellule adiacenti.

La presenza dell'*H. pylori* può essere rilevata sia con metodi invasivi che non invasivi. Metodi invasivi includono I test culturali, I test istologici e di ricerca rapida dell'ureasi da campioni biotecnici. Frequenti risultati falsamente negativi sono causati dalla macchie nei tessuti dell'*H. pylori*. Procedure non invasive includono il test sierologico per la ricerca degli anticorpi anti- *H. pylori*. Procedure non invasive includono il test sierologico per la ricerca degli anticorpi anti-*H. pylori* e il "breath test" che utilizza urea radiomarcata.

Il meccanismo secondo il quale l'*H. pylori* causa la malattia non è ancora noto. Esso può sopravvivere nella mucosa gastrica, in alcuni casi anche per molti anni.

III. PRINCIPIO DEL METODO

Il GAP IgM è un test quantitativo per determinare la presenza di anticorpi specifici contro l'*H. pylori*. Gli antigeni gruppo specifici dell'*H. pylori* vengono purificati e immobilizzati in micropozzetti. Gli anticorpi presenti nel campione reagiscono immunologicamente con gli antigeni purificati adesi alle pareti dei pozzetti. Dopo rimozione della frazione non legata, gli anticorpi legati vengono dosati per mezzo di una reazione con un secondo anticorpo diretto contro le IgM umane, marcato con enzima. Viene aggiunto il substrato specifico e l'intensità del colore che si genera è direttamente proporzionale alla concentrazione di anticorpi specifici per l'*H. pylori*.

IV. COMPONENTI DEL TEST

1. **PLA *H.pylori*** = Pozzetti sensibilizzati con Antigeni – 96 Pozzetti sensibilizzati con antigeni di *H. pylori*.
2. **CAL 0-4** = Calibratori – 5 x 1 mL Zero, 12,5, 25, 50 e 100 U/mL di *H. pylori* di siero umano IgM positivo in diluente.
3. **CTRL + -** = Controlli – 1 x 1 mL Positivo e 1 x 1 mL Negativo di siero umano *H. pylori* positivo e di siero *H. pylori* negativo in diluente per siero.
4. **DIL SPE 10X** = Diluente Concentrato per I Campioni – 1 x 50 mL di tampone fosfato con Tween.
5. **CONJ ENZ** = Coniugato Enzimatico – 1 x 10 mL di anti-IgM umane da capra coniugate con perossidesi di rafano in tampone TRIS/BSA.
6. **SUBS TMB** = Soluzione di Substrato A – 1 x 12 mL di TMB in tampone acetato con DMSO.
7. **SUBS B H₂O₂** = Soluzione di Substrato B – 1 x 12 mL di H₂O₂ in tampone acetato.
8. **BUF WASH 50X** = Tampone di Lavaggio Concentrato (50x) – 1 x 20 mL di tampone fosfato con Tween.
9. **SOLN STOPPING** = Soluzione Bloccante – 1 x 6 mL di 1 N H₂SO₄.

Conservare a 2 – 8°C

Calibratori, controlli e diluente concentrato per i campioni contengono 0,09% sodio azide come conservanti.

V. ATTREZZATURE RICHIESTE

1. Lettore per micropiastre
2. Lavatore per micropiastre
3. Micropipette: per dispensare 25, 50 e 100 μL
4. Pipette: per dispensare da 5 e 10 mL
5. Cilindri graduati rispettivamente 500 mL et 1 L
6. Provette per la diluizione dei campioni
7. Foglio di plastica
8. Acqua deionizzata

VI. PRECAUZIONI

Ogni singola unità di sangue da donatore utilizzata nella preparazione di questo materiale è stata analizzata con metodo, approvato dalla FDA (Food and Drug Administration), per l'individuazione di anticorpi contro l'HIV-1 e per l'antigene di superficie dell'epatite B, ed ha fornito risultati negativi (non ripetutamente reattivi). Questi componenti non sono stati testati per HCV, HIV-2, HTLV-1 or HTLV-2. Dal momento che nessun test è in grado di offrire assoluta certezza per quanto riguarda l'assenza di agenti infettivi, questi reagenti devono essere trattati come se fossero effettivamente in grado di trasmettere agenti infettivi.

Alcuni reagenti in dotazione al kit contengono sodio azide come conservante. Che può reagire con il rame ed il piombo delle tubature idrauliche, dando luogo alla formazione di azidi metalliche esplosive. Durante l'eliminazione di questi reagenti far scorrere grandi volumi d'acqua all'interno delle tubature per evitare l'accumulo di questi composti.

Il DMSO è un irritante per occhi e pelle. Evitare il contatto con la pelle e con gli occhi. Indossare guanti e occhiali di protezione. Se pelle ed occhi venissero a contatto con il reattivo, lavare abbondantemente la parte interessata con acqua per almeno 5 minuti.

VII. PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Tampone per la Diluizione dei Campioni: Il tampone concentrato per la diluizione dei campioni può presentare dei cristalli. Aggiungere l'intero contenuto del flacone a 450 mL di acqua deionizzata (trasferire anche i cristalli eventualmente presenti.) Mescolare bene. Stabilità dopo diluizione: scadenza del kit a 2 – 8°C.

Tampone di Lavaggio: In presenza di cristalli nel tampone di lavaggio concentrato, dovuti a conservazione a temperature inferiori (es. 2-8°C), dissolvere ponendo la provetta in un bagno ad acqua o in una incubatrice a 37°C per 30 minuti. Il tampone di lavaggio concentrato può presentare dei cristalli. Aggiungere l'intero contenuto del flacone a 980 mL di acqua deionizzata (trasferire anche i cristalli eventualmente presenti.) Mescolare bene. Stabilità dopo diluizione: scadenza del kit a 2 - 8°C.

Soluzione di Substrato: Mescolare le soluzioni di substrato A e B in parti uguali in una provetta (13 x 100 mm). Per ottenere una quantità sufficiente per 48 pozzetti, pipettare 3 mL di substrato A in 3 mL di substrato B. Mescolare bene. Utilizzare la soluzione entro un'ora dalla preparazione.

La soluzione di lavaggio, il diluente per i campioni ed i reagenti del kit aperto sono stabili per 60 giorni se conservati a 2-8°C.

VIII. PRELIEVO DEI CAMPIONI

Raccogliere circa 5 mL di sangue venoso in una provetta per siero. Separare il siero per centrifugazione. I campioni di siero possono essere conservati a 2 – 8 °C per 10 giorni. Per periodi di conservazione più lunghi, congelare a – 20°C.

IX. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Pipettare in una provetta 25 µL di campione in 5 mL di tampone per la diluizione dei campioni. Mescolare bene per inversione o su vortex. **Non è necessario prediluire i sieri di controllo prima dell'uso, i sieri di controllo vanno direttamente dispensati nei pozzetti.**

X. FASI DEL TEST

1. Disporre un numero sufficiente di strisce nell'apposito sostegno.
2. Dispensare 100 µL di calibratori, controlli e campioni diluiti nei pozzette appropriati. Non è necessario prediluire i sieri di controllo prima dell'uso. I sieri di controllo vanno direttamente dispensati nei pozzetti. Coprire la piastra con un foglio di plastica e incubare per 60 minuti a 24 ± 2°C.
3. Scartare il contenuto dei pozzetti. Lavare ogni pozzetto 3 volte con 300 µL di soluzione di lavaggio. Capovolgere la piastra su carta assorbente.
4. Aggiungere 100 µL di coniugato enzimatico in ogni pozzetto. Coprire la piastra con un foglio di plastica e incubare per 30 minuti a 24 ± 2°C.
5. La soluzione di substrato deve essere preparata in questa fase.
6. Scartare il contenuto dei pozzetti. Lavare ogni pozzetto 3 volte con 300 µL di soluzione di lavaggio. Capovolgere la piastra su carta assorbente.

7. Dispensare in tutti i pozzetti 100 µL della soluzione di substrato appena preparata. Coprire la piastra con un foglio di plastica e incubare per 10 minuti, al buio, a 24 ± 2°C.

8. Dopo esattamente 10 minuti, aggiungere velocemente 50 µL di soluzione bloccante ad ogni pozzetto. Miscelare i reagenti battendo leggermente la piastra.

9. Leggere l'assorbanza a 450 nm. La micropiastra deve essere letta entro 30 minuti dal-l'aggiunta della soluzione bloccante. Utilizzare una funzione di calcolo adeguate (es. quadratica) per le costruzione della curva e per il calcolo dei risultati.

XI. CONTROLLO DI QUALITA'

In conformità con la buona pratica di laboratorio, i controlli positivo e negativo devono essere dosati in parallelo ai campioni. Risultati inaccurati dei controlli possono essere dovuti ad imprecise dispensazioni, inadeguata manipolazione dei campioni o deterioramento dei reagenti.

	GAP IgM
Negativo	< 10 U/mL
Positivo	40-70 U/mL
Zero	< 0,2 mOD

XII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

	GAP IgM
Positivi	> 40
Dubbi	36 – 40
Negativi	< 36

Ai pazienti che presentino risultati dubbi si deve ripetere un altro prelievo dopo due settimane dal primo e il secondo campione deve essere dosato insieme al precedente.

XIII. SENSIBILITA'E SPECIFICITA'

Le analisi cliniche con questo test sono state realizzate is quattro centri differenti. E'stato esaminato un campione di pazienti che presentavano sintomatologie legate alla gastrite. Biopsie prese da questi pazienti furono testate utilizzando test di cultura, ureasi e istologici. I risultati ottenuti furono comparati con i risultati della biopsia.

	GAP IgM
Sensibilità (%)	93,8
Specificità (%)	82,0
Precisione (%)	89,3
Campioni	109

PRECISIONE INTRA-SAGGIO

La precisione intra-saggio è stata calcolata dosando 12 replicati di tre pool di sieri.

GAP IgM

Media (U/mL)	Deviazione Standard (U/mL)	Coefficiente di Variazione (%)
10,2	0,5	4,9
25,2	1,4	5,7
44,4	2,5	5,7

PRECISIONE INTER-SAGGIO

La precisione inter-saggio è stata calcolata dosando replicati di tre pool di sieri in 10 determinazioni successive.

GAP IgM

Media (U/mL)	Deviazione Standard (U/mL)	Coefficiente di Variazione (%)
10,1	1,1	11,2
21,2	1,9	8,9
39,7	4,0	10,0

XIV. LIMITI DEL METODO

Il GAP IgM Kit è un test quantitativo per la determinazione della presenza di anticorpi specifici per l'*H. pylori* e non indicano il titre dell'anticorpo.

Un risultato positivo del test non discrimina tra colonizzazione ed infezione da *H. pylori* e non indica necessariamente la presenza di disturbi gastro-intestinali.

Un risultato negativo non esclude l'assenza di anticorpi contro *H. pylori*. La colonizzazione da *H. pylori* può essere già avvenuta, ma può essere ad uno stadio precoce, oppure il titolo anticorpale può essere troppo basso per essere rilevato dal test.

Un'alta percentuale di persone di età superiore ai 50 anni hanno una grande probabilità di essere venuti in contatto con *H. pylori* e possono avere un tasso molto basso ma rilevabile di anticorpi contro *H. pylori* senza mostrare sintomi clinici.^{10,11,12} In più l'incidenza di sieropositivi può variare con le popolazione analizzate.¹³

Il test GAP IgM dovrebbe essere utilizzato esclusivamente per pazienti che presentino patologie cliniche o sintomatologie legate alla gastrite. Il test non deve essere utilizzato per pazienti asintomatici.

XV. SIMBOLI

	Temperatura di conservazione
	Codice di lotto
	Scadenza
	Fabbricante
	Rappresentante autorizzato
	Attenzione, vedere le istruzioni
	All'impiego diagnostico in vitro
	n. ° de Catálogo

XVI. BIBLIOGRAFIA

- Marshall, B.J. and Warren, J.R.: "Unidentified Curved Bacillus on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis" (letter), *Lancet*, **1**:1273, 1983.
- Rollason, T.P. et al: "Spiral Organisms in Endoscopic Biopsies of the Human Stomach," *J. Clin. Pathol.*, **37**:23, 1984.
- Steer, H.W.: "The Gastro-duodenal Epithelium in Peptic Ulceration," *J. Pathol.*, **146**:355, 1985.
- Buck, G.E. et al: "Relation of *Campylobacter pyloridis* to Gastritis and Peptic Ulcer," *J. Infect. Dis.*, **153**:664, 1986.
- Jones, D.M. et al: "*Campylobacter*-like Organisms on the Gastric Mucosa Culture, Histological and Serological Studies," *J. Clin. Pathol.*, **37**:1002, 1984.
- 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.
- Pettross, C.W. et al: "*Campylobacter pylori* Relationship to Peptic Disease, Gastric Inflammation and Other Conditions," (Abstract) *Gastroenterology*, **90**:1585, 1986.
- McKenna, D. et al: "*Campylobacter pylori* and Histological Gastritis in Duodenal Ulcer: A Controlled Prospective Randomized Trial," (Abstract) *Gastroenterology*, **912**:1528, 1987.
- 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.
- 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.
- Rathbone, B.J. et al: "Systemic and Local Antibody Response to Gastric *Campylobacter pylori* in Nonulcerous Dyspepsia," *Gut*, **27**:642, 1986.
- Morris, A.G. et al: "Seroepidemiology of *Campylobacter pyloridis*," *N. Z. Med. J.*, **99**:657, 1986.
- Forman, D. et al: "An International Association Between *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Cancer," *Lancet*, **341**:1359, 1993.

XVII. INFORMAZIONI PER L'ORDINAZIONE

ORDINAZIONE – Inviare un ordine d'acquisto al seguente indirizzo:

BIOMERICA, INC.
17571 Von Karman Avenue
Irvine, California 92614 U.S.A.

Telefono: +1 949 645-2111
Fax: +1 949 553-1231
URL: www.biomerica.com
E-mail: bmra@biomerica.com

67006_ita-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