



deve essere misurato contro l'aria (cioè senza la micropiastro nel carrello) prima della lettura.

In alternativa, se lo spettrofotometro o il lettore per micropiastre consentono l'utilizzo di una lunghezza d'onda di riferimento (tra 620 e 650nm), si deve effettuare una lettura a doppia lunghezza d'onda per eliminare qualunque possibile interferenza dovuta ad aberrazioni, come sporcizia o segni sulla superficie ottica dei micropozzetti.

#### 11.4. RIASSUNTO DELLA PROCEDURA DEL DOSAGGIO DI Amplified IDEIA Hp StAR

Assicurarsi che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'uso

Aggiungere 50µL di controllo o di campione

Aggiungere 50µL di coniugato **CONJUGATE**

Incubare a 18-27°C per 60 minuti. con agitazione

Lavare (x5)

Aggiungere 100µL di substrato **SUBSTRATE TMB**

Incubare a 20-30°C per 10 minuti.

Aggiungere 100µL di soluzione di arresto **STOP SOLUTION**

Effettuare la lettura fotometrica dell'assorbanza a 450nm (Giallo) (valore di riferimento 620-650nm)

## 12. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

### 12.1. CONTROLLO POSITIVO E CONTROLLO NEGATIVO

Come descritto dettagliatamente nella Sezione 10.1 (Preparazione dei controlli) è necessario aggiungere almeno un controllo negativo e un controllo positivo a ogni esecuzione del dosaggio.

Se i criteri di qualità riportati qui di seguito non vengono soddisfatti:

**Controllo positivo:**  $OD_{450/620\text{ to }650\text{nm}} > 1.00$  ( $OD_{450\text{nm}} > 1.04$ )

**Controllo negativo:**  $OD_{450/620\text{ to }650\text{nm}} < 0.10$  ( $OD_{450\text{nm}} < 0.14$ )

### 12.2. CAMPIONI

I risultati del test vanno interpretati come segue:

lettura a doppia lunghezza d'onda (450/620-650nm):

i campioni con valori di assorbanza  $> 0,150$  sono positivi;

i campioni con valori di assorbanza  $< 0,150$  sono negativi.

Lettura a lunghezza d'onda singola (450nm):

se il lettore di micropiastre utilizzato non è in grado di misurare il riferimento ad una lunghezza d'onda compresa tra 620 e 650nm, il valore di soglia (cut off) viene determinato nel modo seguente:

i campioni con valori di assorbanza  $> 0,190$  sono positivi;

i campioni con valori di assorbanza  $< 0,190$  sono negativi.

Un risultato positivo indica la presenza dell'antigene di *H. pylori*. Un risultato negativo indica l'assenza dell'antigene di *H. pylori* oppure una concentrazione di antigene inferiore al limite di rilevazione.

Se, dopo l'aggiunta del substrato, il contenuto di un micropozzetto diventa blu scuro e si forma un precipitato blu-nero, il campione deve essere interpretato come positivo.

## 13. LIMITI DI PERFORMANCE

13.1. Amplified IDEIA Hp StAR è un test per la determinazione di tipo qualitativo e non può essere utilizzato per interpretazioni di tipo quantitativo. I risultati del test devono essere interpretati da un medico, in relazione ai risultati clinici e/o ad altri test diagnostici.

13.2. La crescita di *H. pylori* è inibita da antibiotici, da inibitori della pompa protonica e da preparazioni contenenti bismuto. La raccolta del campione di feci deve essere eseguita non prima di 2 settimane dal termine di assunzione per ingestione di inibitori di pompa protonica o di preparazioni contenenti bismuto e non prima di 4 settimane dal termine di assunzione per ingestione di antibiotici.

13.3. Un risultato negativo non esclude la possibilità che il paziente abbia un'infezione da *H. pylori*. La mancata rilevazione di *H. pylori* può essere causata da diversi fattori, quali la campionatura o la manipolazione incorretta del campione.

13.4. Un risultato positivo non giustifica da solo una indicazione alla terapia eradicante. Per confermare l'infezione da *H. pylori* possono essere necessari altri metodi. La diagnosi differenziata con metodi endoscopici invasivi può essere indicata per individuare l'eventuale presenza di complicanze quali ulcera, gastrite autoimmune e malignità.

13.5. Un valore di assorbanza che cade entro 0,020 unità attorno al valore di soglia (cut off) deve essere interpretato con cautela.

## 14. VALORI ATTESI

I valori attesi dipendono dalla posizione geografica e dal tipo di popolazione di studio. Il tasso di risultati positivi può variare a seconda del tipo di test impiegato e del metodo utilizzato per la raccolta e la manipolazione dei campioni.

Studi epidemiologici hanno dimostrato che l'infezione da *H. pylori* si manifesta a carattere endemico in tutto il mondo. In Europa e nell'America del Nord, *H. pylori* si ritrova nel 25-50% della popolazione. Tassi di prevalenza persino più elevati, pari a 70-90%, sono stati descritti per le popolazioni dell'Asia, dell'Africa e dell'America del Sud<sup>11</sup>.

Alcuni studi hanno messo in evidenza una correlazione tra la frequenza di infezione da *H. pylori* e l'età, il gruppo etnico, il ceto socioeconomico e l'ambiente sanitario generale della popolazione. Per esempio, la prevalenza dell'infezione negli Stati Uniti aumenta con l'età di circa l'1% per anno<sup>12</sup>.

## 15. CARATTERISTICHE SPECIFICHE DELLA PERFORMANCE

### 15.1. STUDI CLINICI

#### Studio 1: diagnosi primaria in pazienti adulti

Il test Amplified IDEIA Hp StAR veniva valutato in 356 pazienti (201 donne e 155 uomini di età compresa tra 18 e 82 anni) sottoposti ad endoscopia a seguito di dolori addominali e dispepsia in 10 centri tedeschi. L'esame delle feci veniva eseguito in laboratori indipendenti secondo il protocollo in cieco.

I pazienti presentavano una varietà di patologie gastriche, fra cui: gastrite lieve (n=61), gastrite chimicotossica (n=98), gastrite associata a *H. pylori* (n=144), erosioni dell'antro (n=11), gastrite atrofica (n=2), ulcera gastrica (n=5), ulcera duodenale (n=3), adenocarcinoma (n=2), tumore sottomucoso (n=1) anello di Schatzki (n=1), morbo di Crohn (n=1). Alcuni pazienti (n=27) erano asintomatici.

I risultati del test Amplified IDEIA Hp StAR venivano messi a confronto con le diagnosi di infezione da *H. pylori* come confermata dall'istologia. Amplified IDEIA Hp StAR mostrava una sensibilità del 95,3% e una specificità del 97,1%. Gli intervalli di confidenza (IC) venivano calcolati mediante il metodo binomiale esatto. I risultati sono riportati nella tabella 1.

Tabella 1: diagnosi primaria in pazienti adulti mediante Amplified IDEIA Hp StAR e istologia (test di riferimento)

Hp StAR	Istologia		Sensibilità IC ± 95%
	+	-	
+	141	6	95,3% (141/148) 90,5 – 98,1%
-	7	202	Specificità IC ± 95% 97,1% (202/208) 93,8 – 98,9%

#### Studio 2: diagnosi primaria in pazienti in età pediatrica

Il test Amplified IDEIA Hp StAR veniva valutato in uno studio su campioni fecali provenienti da bambini ed adolescenti sottoposti ad endoscopia a seguito di dolori addominali e/o altri disturbi intestinali. Venivano inclusi nello studio 239 bambini ed adolescenti (124 maschi e 115 femmine di età compresa tra 6 mesi e 18 anni) di tre centri europei di gastroenterologia pediatrica.

Come test di riferimento, si consideravano l'istologia e la coltura. Un paziente veniva definito *H. pylori*-positivo se l'esame istologico e/o la coltura erano positivi e *H. pylori*-negativo se entrambi i test risultavano negativi. Amplified IDEIA Hp StAR presentava una sensibilità del 98,6% ed una specificità del 99,4%. Gli intervalli di confidenza (IC) venivano calcolati usando il metodo binomiale esatto.

Tabella 2: Diagnosi primaria in pazienti in età pediatrica mediante Amplified IDEIA Hp StAR e istologia e/o coltura (test di riferimento)

Hp StAR	Istologia Coltura		Sensibilità IC ± 95%
	+	-	
+	70	1	98,6% (70/71) 92,4 – 100%
-	1	167	Specificità IC ± 95% 99,4% (167/168) 96,7 – 100%

#### Studio 3: Monitoraggio della risposta alla terapia di eradicazione nei pazienti pediatrici.

40 bambini ed adolescenti (di età compresa tra 3 e 15 anni) infettati da *H. pylori* con dolori addominali ricorrenti venivano reclutati in due centri di gastroenterologia pediatrica (13). L'infezione da *H. pylori* veniva confermata dal test del respiro all'ureasi (urea breath test) e da studi sierologici. Tutti i 40 campioni fecali risultavano positivi al test Amplified IDEIA Hp StAR.

Il trattamento per l'eradicazione consisteva in terapia tripla somministrata per sette giorni. Il controllo dell'eradicazione veniva effettuato mediante l'urea breath test quattro settimane dopo la terapia. Amplified IDEIA Hp StAR presentava una sensibilità del 100% ed una specificità del 96,9%. Gli intervalli di confidenza (IC) venivano calcolati mediante il metodo binomiale esatto. I risultati sono riportati nella tabella 3.

Tabella 3: Prestazione di Amplified IDEIA Hp StAR comparata a quella dell'UBT nel monitoraggio della risposta alla terapia di eradicazione nei pazienti pediatrici.

Hp StAR	Prueba de urea en aire espirado		Sensibilità IC ± 95%
	+	-	
+	8	1	100% (8/8) 63,1 – 100%
-	0	31	Specificità IC ± 95% 96,9% (31/32) 83,8 – 99,9%

#### Studio 4: Monitoraggio della risposta alla terapia di eradicazione nei pazienti adulti

Nel nord-est della Spagna sono stati raccolti campioni di feci da 93 pazienti (64 maschi e 29 femmine, dai 21 agli 80 anni di età) che erano stati sottoposti a terapia di eradicazione per infezione da *H. pylori* accertata. Il prelievo dei campioni di feci era stato effettuato dai pazienti stessi, su indicazioni del personale medico, il giorno stesso in cui era stato effettuato l'UBT per il controllo della terapia di eradicazione (almeno 4 settimane dal completamento della terapia). I campioni sono stati immediatamente congelati e conservati a -80°C, quindi scongelati e sottoposti a test con Amplified IDEIA Hp StAR.

La tabella 4 illustra i risultati ottenuti con Amplified IDEIA Hp StAR, paragonati a quelli ottenuti con il metodo di riferimento (UBT). Amplified IDEIA Hp StAR ha dimostrato una sensibilità e una specificità rispettivamente dell'80% (8/10) e del 97,6% (81/83) e una correlazione totale del 95,7% (89/93) rispetto al l'UBT.

Tabella 4: Prestazione di Amplified IDEIA Hp StAR comparata a quella dell'UBT nel monitoraggio della risposta alla terapia di eradicazione nei pazienti adulti

Hp StAR	Prueba de urea en aire espirado		Sensibilità IC ± 95%
	+	-	
+	8	2	80% (8/10) 44,4 – 97,5%
-	2	81	Specificità IC ± 95% 97,6% (81/83) 91,6 – 99,7%

## 15.2. RIPRODUCIBILITÀ

Le variazioni intra-assay e inter-assay sono state determinate mettendo a confronto campioni negativi (n=2), campioni debolmente positivi (n=2), campioni positivi (n=2) e campioni fortemente positivi (n=2). Il test di riproducibilità è stato eseguito in tre laboratori indipendenti europei. Ciascun campione è stato esaminato in 10 pozzetti in ogni laboratorio. I coefficienti di variazione intra-assay e inter-assay calcolati vengono presentati qui di seguito. Per i differenti campioni di feci, sono riportati l'intervallo dei valori di OD e le variazioni intra-assay e inter-assay.

Tabella 5: variazioni intra-assay e inter-assay per Amplified IDEIA Hp StAR

	negativo	debolmente positivo	positivo	forte- mente positivo
OD <sub>450/630nm</sub>	0,024 – 0,070	0,495–0,897	1,306 – 2,656	3,00 – 3,776
CV intra-assay	5,9 – 17,4%	2,7 – 10,1%	2,1 – 4,0%	1,1 – 3,1%
CV inter-assay	41,2– 46,1%	23,0 – 25,8%	24,1 – 25,4%	8,1 – 10,2%

## 16. REATTIVITÀ CROCIATA

Amplified IDEIA Hp StAR per campioni di feci è un test altamente specifico per l'antigene di *H. pylori*. Ciascun ceppo è stato analizzato ad una concentrazione  $\geq 10^{10}$ 8 organismi/mL di soluzione tampone. Non è stata rilevata alcuna reattività crociata con gli organismi elencati qui di seguito. Il test ha dato risultato positivo su *H. pylori*.

<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Aeromonas hydrophila anaerogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Aeromonas hydrophila hydrophila</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Salmonella agona</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Salmonella infantis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella ohio</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia proteamaculans</i>
<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Listeria innocua</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>

## 17. REFERENCES/LITERATURE

1. Marshall, B.J., Warren, J.R. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1 (8390): 1311-1314.
2. Dunn, B.E., Cohen, H., Blaser, M.J. (1997). *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reveiw* 10: 720-741.
3. D'Elios, M.M., Andersen, L.P., Del Prete, G. (1998). Inflammation and host response. *Current Opinion in Gastroenterology* 14 (suppl. 1): 15-19.
4. Delchier, J.-C., Ebert, M., Malfetheiner, P. (1998). *Helicobacter pylori* in gastric lymphoma and carcinoma. *Current Opinion in Gastroenterology* 14 (suppl. 1): 41-45
5. Feldman, R.A., Eccersley, A.J.P., Hardie, J.M. (1997). Transmission of *Helicobacter pylori*. *Current Opinion in Gastroenterology* 8: 8-12.
6. Graham, D.Y., Klein, P.D., Evans, Jr., D.J., Evans, D.G., Alpert, L.C., Opekun, A.R., Boutton, T.W. (1987). *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. *Lancet* 1 (8543): 1174-1177.
7. Graham, D.Y., Klein, P.D., Opekun, A.R., Boutton, T.W. (1988). Effect of age on the frequency of active *Campylobacter pylori* infection diagnosed by the [13C] Urea breath test in normal subjects and patients with peptic ulcer disease. *Journal of Infectious Diseases* 157: 777-780.
8. Barthel, J.S., Everett, E.D. (1990). Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: the "Gold Standard" and the alternatives. *Review of Infectious Diseases* 12 (suppl.1): S107-S114.
9. Kokkola A., Rautelin H., Puolakkainen P., Sipponen P., Farkkila M., Haapiainen R., Kosunen T.U. (2000). Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: comparison of histology, 13C-urea breath test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 35 (2): 138-141
10. Vaira, D., Holton, J., Menegatti, M., Ricci, C., Landi, F., Ali, A., Gatta, L., Acciardi, C., Farinelli, S., Crosatti, M., Berardi, S., Miglioli, M. (1999). New immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 45 (suppl. 1): 123-127.
11. Vaira D., Miglioli M., Mule P., Holton J., Menegatti M., Vergura M., Biasco G., Conte R., Logan R.P., Barbara L. (1994). Prevalence of peptic ulcer in *Helicobacter pylori* positive blood donors. *Gut* 35: 309-312.
12. Graham D.Y., Malaty H.M., Evans D.G., Evans D.J. Jr., Klein P.D., Adam E. (1991). Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 100: 1495-1501.
13. Makristathis A., Barousch W., Pasching E., Binder C., Kuderna C., Apfalter P., Rotter M.L., Hirschl A.M. (2000). Two enzyme immunoassays and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. *Journal of Clinical Microbiology* 38 (10): 3710-3714



IFU X9398D Gennaio 2022



OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Per ulteriori informazioni, rivolgersi alla filiale o al distributore Oxioid di zona.