



Pyloriset® Urease test

Kat. č. 67219

Návod k použití



1. Určený účel použití

Pyloriset Urease je rychlý, vizuálně odečítatelný, test k detekci *Helicobacter pylori* ureázové aktivity v bioptických vzorcích. Testovací zkumavku lze současně použít jako transportní médium, je-li vzorek transportován při teplotě 2-8°C a doba transportu nepřesáhne 24 hodin.

Tento produkt je určen pouze pro profesionální použití.

Pro diagnostické použití *in vitro*.

2. Úvod

V roce 1983 Marshall a Warren vykultivovali nový patogen z pacientů s gastritidou¹. Od té doby studie ukázaly, že *Helicobacter pylori* způsobuje chronickou gastritidu² a že je spojitost mezi *H. pylori* infekcí a peptickými vředy^{3,4,5}. *H. pylori* infekci má téměř 100% pacientů s duodenálním vředem^{6,7} a 70% z těch, kteří mají gastrický vřed^{2,8,9}. *H. pylori* byl detekován u asi 8 pacientů z deseti, kteří měli rakovinu žaludku^{10,11} a infekce byla klasifikována jako karcinogenní¹².

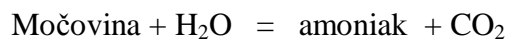
Jakmile je diagnostikována infekce *Helicobacter pylori*, lze pacienta léčit antimikrobiálními léky. Úspěch eradikace *H. pylori* vede k vymizení gastrického zánětu¹³. Eradikace *H. pylori* u pacientů s duodenálním vředem vede ke zhojení vředu a k redukcí počtu vředových relapsů^{14,15}.

Pro diagnostiku *H. pylori* infekce jsou nyní dostupné některé techniky jak invazivní, tak neinvazivní. Invazivní metody vyžadují sběr více malých množství bioptických vzorků odebraných během endoskopie horního gastrointestinálního traktu. *H. pylori* je identifikován kultivací, histologickou zkouškou nebo ureázovým testem bioptických vzorků.

Dostupné neinvazivní metody zahrnují dechový ureázový test, detekce *H. pylori* antigenu ve vzorcích stolice a serologickou detekci protilátek proti *H. pylori*.

3. Princip testu

Test je založen na schopnosti *Helicobacter pylori* produkovat enzym ureázu, který štěpí močovinu na amoniak a oxid uhličitý. Tato reakce zvyšuje pH média. Barevný indikátor, který je před testováním přidán, reaguje na zvýšené pH roztoku změnou barvy ze žluté na červenou. Barevná změna tedy indikuje ureázovou aktivitu.



4. Reagencie

Pyloriset Urease test, kat.č. 67219

25 testů

- testovací zkumavky obsahující reakční roztok a fenolovou červeň

25 x 0,75 ml

- víčka obsahující močovinu 25 ks
- návod k použití 1 kus

5. Materiály požadované, ale nedodávané v soupravě

K transportu je třeba systém schopný udržet teplotu na požadované hladině 2....8°C, např. Sarstedt chladicí transportní kontejner.

6. Upozornění a varování

- **Pouze pro použití in vitro.**
- Nekuřte, nepijte a nejezte v místech, kde se pracuje s reagensy nebo vzorky.
- Se všemi vzorky je nutno zacházet jako s materiálem potenciálně přenášejícím infekční agens.
- Při práci se vzorky nebo reagensy soupravy používejte jednorázové rukavice a po práci si důkladně umyjte ruce.
- Ukápnutý potenciálně infekční materiál je nutno okamžitě utřít buničitou vatou a kontaminované místo vyčistit standardním dezinfekčním roztokem nebo 70% etylalkoholem. Materiály, použité k čištění, včetně použitých ochranných rukavic, by měly být umístěny do sběrné nádoby pro biologicky kontaminované odpady.
- Při dodržování zásad správné laboratorní praxe, dobré pracovní hygieny a instrukcí uvedených v tomto návodu k použití by dodávané reagenty neměly představovat zdravotní riziko.

7. Skladování a stabilita

Testovací zkumavku skladujte při 2-25°C. Nezmrazujte. Expirační doba je vyznačena na obalu.

8. Odebrání vzorku

Bioptické vzorky odebírejte z horního gastrointestinálního traktu endoskopií. Vzorky testujte okamžitě po odebrání.

9. Pracovní postup

Prosím, všimněte si: Skladujete-li zkumavky v lednici, před použitím je nechte vytemperovat na laboratorní teplotu (18-25°C). **Z hliníkové tuby odeberte pouze tolik víček, kolik budete potřebovat. Hliníkovou tubu po vyjmutí víček okamžitě pečlivě uzavřete.**

9.1. Pracovní postup

- 1) Testovací zkumavku označte pacientovým identifikačním kódem a otevřete ji. Nyní je zkumavka připravena k použití.
- 2) Do testovacího roztoku vložte bioptický vzorek. Pokud vzorek zčervená v tomto okamžiku, pH je zvýšeno jinými faktory než *H. pylori* a test je třeba opakovat s novým bioptickým vzorkem a s novou zkumavkou.
- 3) Zkumavku pečlivě uzavřete víčkem s ureázovou reagecií.
- 4) Vnitřní část víčka s reagecií protlačte, tím do testovacího roztoku přidáte ureázovou reagecii (k protlačení použijte prst nebo pero). Prudce zkumavku protřepte. Ujistěte se, že bioptický vzorek je v roztoku a není přichycen na víčku nebo stěně zkumavky.
Pokud je třeba, inkubujte zkumavku dnem vzhůru.
- 5) Inkubujte při laboratorní teplotě (18-25°C) a odečtěte výsledek.

Obrázek: Pracovní postup

1. *Přidejte bioptický vzorek. Zkumavku uzavřete víčkem s reagensii.*
2. *Vnitřní část víčka protlačte a tím uvolníte reagensii. Důkladně promíchejte.*
3. *Odečtěte výsledek. Pozitivní výsledky se většinou projeví do 20 minut.*

9.2. Interpretace výsledků

Pozitivní výsledek lze odečíst ihned, jakmile dojde ke změně barvy ze žluté na červenou. V mnoha případech ke změně barvy dojde již do 5 minut nebo i dříve. Doporučený čas pro kontrolu změny barvy je 20 minut a 3 hodiny.

Po 20 minutách

- Změna barvy ze žluté na červenou ukazuje na přítomnost *H.pylori* ve vzorku. Test je ukončen a další inkubace není nutná.
- Pokud ke změně barvy nedošlo, pokračujte v inkubaci.

Po 3 hodinách

- Změna barvy na červenou ukazuje na přítomnost *H. pylori* ve vzorku.
- Pokud ani po 3 hodinách nedojde ke změně barvy, vzorek neobsahuje *H. pylori*.

Test je ukončen. Reakční čas 3 hodiny nepřekračujte.

10. Analytické parametry měření

Ureázová reakce

Sledovány byly vzorky biopsií od 96 dospělých pacientů, odebraných endoskopií z horního trávicího traktu. Test Pyloriset Urease (67219) byl srovnán s výsledky z histologie. Citlivost byla 88% a specifická 96%¹⁶.

V 70 % případů proběhla ureázová reakce do 20 minut, všechny pozitivní reakce proběhly do 3 hodin¹⁶.

Vzorky od 19 pacientů byly zaslány ke kultivaci v modifikovaném Stuartově médiu. Z toho osm vzorků bylo pozitivních testem Pyloriset Urease i kultivací, jeden byl negativní testem Pyloriset Urease, ale pozitivní při kultivaci a deset bylo negativních jak testem Pyloriset Urease, tak kultivačně. Ve srovnání s kultivací má tedy test Pyloriset Urease citlivost 89% a specifitu 100%¹⁶.

Transport

Byly připraveny čtyři bakteriální suspenze, každá z jiného kmene *H.pylori*, s koncentrací 10⁶ CFU/ml. 10 µl z každé suspenze bylo pipetováno jako vzorek do zkumavek Pyloriset Urease a následně byla přidána ureázová reagensie. Roztok byl ponechán 3 hodiny při laboratorní teplotě. Poté zchlazen a skladován při 2.....8°C více než 24 hodin. Po tomto čase byly roztoky kultivovány na miskách. Všechny kmeny byly úspěšně kultivovány, takže prokázaly, že testovací roztok chrání bakterie *H. pylori* alespoň 24 hodin, pokud skladování probíhá podle návodu k použití¹⁶.

11. Omezení metody

H. pylori status u pacientů by neměl být vyhodnocen pouze na základě ureázového testu, ale výsledek testu by měl být interpretován ve světle příznaků, symptomů a diagnostických kritérií pacienta.

U pacientů, kteří jsou léčeni antibioticky nebo antacidy, může testovací metoda, založená na ureázové aktivitě, dávat falešně negativní výsledky.

U pacientů s krvácejícími vředy může testovací metoda založená na ureázové aktivitě dávat falešně negativní výsledky.

Pro odečet výsledků nepřekračujte čas 3 hodiny. Delší inkubace vzorků zvyšuje pravděpodobnost falešně pozitivních reakcí způsobených jinými bakteriemi, které jsou také schopny zvyšovat pH testovacího roztoku.

12. Návaznost

Analytické parametry každé šarže reagentie jsou testovány proti ureázové aktivitě kmene H. pylori NCTC 11637.

13. Zkřížené reakce

Následující organizmy byly testovány na případné zkřížené reakce s testem Pyloriset Urease během definované reakční doby¹⁶.

Campylobacter jejuni	E-143483
Campylobacter fetus	NCTC 13014
Enterobacter aerogenes	ATCC 13048
Escherichia coli	ATCC 25922
Klebsiella pneumoniae	ATCC 13883
Proteus mirabilis	ATCC 7002
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853
Staphylococcus aureus	ATCC 25923

Žádné falešné reakce nebyly nalezeny. Výsledky ukazují, že za definovaný čas nedošlo ke zkříženým reakcím se žádným z těchto organizmů.

14. Kultivace vzorku

Bioptický vzorek lze kultivovat okamžitě po odečtení ureázové reakce.




Jestliže zkumavku Pyloriset Urease použijete pro transport, uzavřete je originálním víčkem a okamžitě ji po odečtení ureázové aktivity zchladíte na teplotu 2-8° C.

Zkumavku při této teplotě udržujte pro celou dobu transportu, který nesmí být delší než 24 hodin.

15. Doporučení pro likvidaci

Všechny materiály likvidujte podle příslušných směrnic. Doporučujeme, aby všechny použité materiály a reagentie byly před likvidací autoklávovány (1 hod při 121°C).

LITERATURA

Vysvětlení symbolů	
IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
REF	Katalogové číslo
LOT	Číslo šarže
	Použitelné do
	Teplotní rozmezí Skladujte při teplotě 2...8°C.
	Viz návod k použití
CONT	Obsah
SOLN TEST	Reakční roztok s fenolovou červení
REAG	Víčka s reagensy

Výrobce: Orion Diagnostica Oy
P.O. Box 83, FIN-02101 Espoo, Finland
Tel. +358-10-42 995; fax. +358-10-429 2794
www.oriondiagnostica.fi

Sídlo v ČR: Orion Diagnostica-organizační složka
Bělohorská 57, 169 00 Praha 6
Tel. 233 350 533
E-mail: orion@oriondiagnostica.cz
www.oriondiagnostica.cz

Originální příbalová informace: 39935-4

Datum poslední revize textu: 28.3.2005