

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К HELICOBACTER PYLORI

1503-11, H.pylori IgG

Каталог. № : 1503-11
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 09-10-2013



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

Анализ	H.pylori IgG ELISA
Метод	Иммунсорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигенами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль и пороговое значение (cut-off)
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	97 %
Чувствительность	99 %
Общее время	~ 75 мин.
Срок годности	12-18 мес.

НАЗВАНИЕ И ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Набор Helicobacter pylori IgG компании ДАИ предназначен для определения серологического статуса к инфекции *H.pylori* в пациентах при желудочно-кишечных симптомах.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

Helicobacter pylori является спиральной бактерией, выделенной из слизистой оболочки желудка человека Маршалом в 1982 г. Изучения указывают, что присутствие *H.pylori* ассоциируется с разными желудочно-кишечными заболеваниями, как гастрит, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, не-язвенная диспепсия, гастроаденокарцинома и лимфома. Организм присутствует в 95-98% пациентов с язвой двенадцатиперстной кишки и 60-90% пациентов с язвой желудка. Изучения также показывают, что выделение организма антимикробной терапией соотносится с прекращением симптомов и лечением заболевания.

Пациенты с клиническими симптомами, что относятся к желудочно-кишечному тракту, могут диагностироваться на инфекцию *H.pylori* двумя методами:

- инвазивной техникой, включая биопсию, после изучения культуры или гистологического изучения образцов биопсии или прямого определения активности уреазы;
- неинвазивная техника, что включает тестирование мочи и серологические методы.

Все тесты, что проводятся на образцах биопсии, могут быть ошибочными через сбор образцов и влияние загрязненными бактериями. Данный тест предоставляет тестирование присутствия *H.pylori* специфического IgG антитела серологическим методом, через его точность и простоту.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Очищенный антиген *H.pylori*, привитый к поверхности микроячеек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки и специфическое антитело *H.pylori* IgG, если оно присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления ферментного конъюгата, он связывается с комплексом антитело-антиген. Остатки ферментного конъюгата вымываются и добавляется ТМ хромогенный субстрат. Каталитическая реакция останавливается в специфическое время. Интенсивность вырабатываемого цвета пропорциональна количеству специфического IgG антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным считывателем и сравниваются с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Стрипы микроплшета: лунки с привитым антигеном *H.pylori* – 12x8 лунок
- Разбавитель образца: раствор синего цвета – 1 фл./22 мкл.

- Калибратор: значение коэффициента (к) указано на этикетке. Красный колпачок – 1 фл./150 мкл.
- Отрицательный контроль: диапазон указан на этикетке. Прозрачный колпачок – 1 фл./150 мкл.
- Положительный контроль: диапазон указан на этикетке. Зеленый колпачок – 1 фл./150 мкл.
- Промывочный концентрат: 10x концентрат, белый колпачок – 1 бут./100 мл.
- Ферментный конъюгат: раствор красного цвета – 1 фл./12 мл.
- Хромогенный субстрат ТМБ: янтарная бутылка – 1 фл./12 мл.
- Стоп-раствор: 1 фл./12 мл.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Реагенты, входящие в состав набора, следует хранить при 2-8 °С.
- Микропланшет хранить в закрытой упаковке с осушителем. Рекомендуется использовать лунки в течении 4 недель после вскрытия
- Все реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
- Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца или яркого света во время их хранения или использования.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Потенциально инфекционный материал. Несмотря на то, что все компоненты набора, содержащие сыворотку крови человека, проверены на отсутствие вирусов гепатита В и ВИЧ (1+2), ни один из известных методов не может дать полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами, как с потенциально инфекционным материалом.
- Этот набор предназначен для использования in vitro.
- В целях безопасности в лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой, пипетировать компоненты набора ртом.
- Не использовать для проведения анализа реагенты разных серий.
- Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом и медью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

СБОР И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Собрать образцы крови и отделить сыворотку.
- Образцы можно хранить при 2-8 °С не более одной недели или замороженными в течении 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и оттаивания образца сыворотки.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

- Приведите все компоненты набора и анализируемые образцы до комнатной температуры (20-25 °С) и аккуратно перемешать.
- Приготовьте 1x промывочный буфер. Промывочный буфер развести дистиллированной или деионизированной водой до общего объема 1 литр.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

- Поместить нужное количество стрипов в штатив.
- Развести разбавителем для образцов в соотношении 1:40, добавляя 5 мкл образца, отрицательный контроль, положительный контроль и калибраторы + 200 мкл разбавителя для образцов. Тщательно перемешать.
- В соответствующие лунки внести по 100 мкл разведённых образцов сыворотки и калибраторов. Для определения бланк реагента внести 100 мкл разбавителя для образцов в лунку 1А. Удалить пузырьки воздуха из жидкости и тщательно перемешать содержимое лунок. Инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
- Удалить жидкость из лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
- Внести в каждую лунку по 100 мкл ферментного конъюгата и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
- Удалить ферментный конъюгат из всех лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором.
- Внести 100 мкл ТМБ хромогенного субстрата и инкубировать 15 минут при комнатной температуре.
- Внести 100 мкл стоп раствора для остановки реакции. Убедиться, что перед помещением планшета в считыватель ни в одной лунке нет пузырьков воздуха.
- С помощью считывателя измерить оптическую плотность лунок при 450 нм.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Определить значение ОП порогового калибратора: умножить ОП калибратора на коэффициент (к) на этикетке калибратора.
2. Рассчитать коэффициента IgG каждого определения разделив значения каждого образца на полученное значение ОП порогового калибратора.

Примечание: Коэфф. (к) является сменным значением для каждого набора.

Например:

Если значение коэффициента (к) на этикетке = 0,30

(См. таблицу в оригинале инструкции).

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Анализ будет действительный при соблюдении следующих условий:

1. Значение холостой ОП бланка-реагента должно быть меньше, чем 0,150.
2. Если значение ОП калибратора ниже 0,250 - анализ недействительный и его необходимо повторить.
3. Коэффициент IgG для отрицательного и положительного контроля должен быть в диапазоне, указанном на этикетках.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: коэффициент $H.pylori\ G = 0,90$ или ниже является сероотрицательным для антитела IgG *H.pylori*. Образцы могут быть взяты слишком рано.

Сомнительный: коэффициент $H.pylori\ IgG\ 0,91-0,99$ является сомнительный. Образцы, взятые тремя неделями позже, следует тестировать повторно.

Положительный: коэффициент $H.pylori\ IgG\ 1,00$ или выше является сероположительным.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для оценки специфичности и чувствительности использовалось 347 образцов сыворотки. Результаты данного теста сравнивались с изученными эндоскопической биопсии:

		Эндоскопическая биопсия			
		О	С	П	Всего
ДАИ	О	134 (D)	0	2 (B)	136
	С	6	0	5	11
	П	4 (C)	0	196 (A)	200
	Всего	144	0	203	347

Чувствительность = $A / (A+B) = 196/198 = 99\%$

Специфичность = $D / (C+D) = 134/138 = 97\%$

Воспроизводимость = $(A+D) / (A+B+C+D) = 330 / 336 = 98\%$

Итог сравнения результата данного и имеющегося в продаже набора *Helicobacter pylori* IgG:

		Референтный ИФА			
		О	С	П	Всего
ДАИ	О	96 (D)	1	4 (B)	101
	С	2	2	1	5
	П	3 (C)	0	105 (A)	108
	Всего	101	3	110	214

Чувствительность = $A / (A+B) = 107/109 = 96\%$

Специфичность = $D / (C+D) = 96/99 = 97\%$

Воспроизводимость = $(A+D) / (A+B+C+D) = 201 / 208 = 97\%$

Точность была оценена тестированием трех разных сывороток 8 репликантов три дня. Внутри и между тестовая точность показана ниже:

	Отриц.	Низко положит.	Положит.
Внутри анализа	9,1%	8,5%	6,4%
Между анализами	10,5%	8,9%	7,5%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Как и в других серологических анализах, результаты этого анализа должны интерпретироваться совместно с другой клинической информацией.
2. Положительный тест не дает возможности установить разницу между острой инфекцией и колонизацией *H.pylori*. Это не обязательно указывает, что желудочно-кишечные заболевания присутствуют.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com