

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА H.PYLORI В ОБРАЗЦАХ СТУЛА

## 1506-11, H.Pylori Antigen ELISA

Каталог. № : 1506-11  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 02-06-2013



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

### ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	H.Pylori Antigen ИФА
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	ИФА типа сэндвич: антигенное покрытие пластин
Диапазон обнаружения	Количественный: 0-100 нг/мл
Образец	100 мкл подготовленного образца Стула
Специфичность	Не определена
Чувствительность	0.5 нг/мл
Общее время	~ 75 минут
Срок хранения	12-18 месяцев
Температура хранения	2-8 °С

*\*Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание.*

### НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

DAI ИФА Helicobacter Pylori Антиген является количественным анализом для выявления антигена *H. Pylori* в образце кала человека. Результаты испытаний предназначены для оказания помощи в диагностике хеликобактерной инфекции, чтобы контролировать эффективность терапевтического лечения и подтвердить ликвидацию *H. Pylori* у пациентов с язвенной болезнью.

### ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА

Очищенные антитела *H.Pylori* нанесены на поверхность микролунок. Аликвоты разведенных образцов стула пациента помещаются в лунки, и антигены *H.Pylori* IgM, если присутствует, соединяется с антителом. Все свободные материалы вымываются. После добавления ферментного конъюгата, он соединяется с комплексом антитело-антиген. Избыточный ферментный конъюгат промывается и добавляется ТМБ хромогенный субстрат. Каталитическая реакция ферментного конъюгата останавливается в определенное время. Интенсивность полученного цвета пропорциональна количеству антигена в образце. Результаты считываются при помощи считывающего устройства и сравниваются параллельно с калибратором и контролями.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Микролуночные полоски: микролунки, покрытые очищенным антителом *H.Pylori*. (12 x 8 лунок)
2. Раствор для приготовления образца 1 флакон (100 мл)
3. Промывочный концентрат 20X: Черный колпачок 1 бутылка (50 мл)
4. ТМБ хромогенный субстрат: Янтарная бутылочка. 1 флакон (12 мл)
5. Ферментный конъюгат: Раствор красного цвета 1 флакон (12 мл)
6. Набор Калибраторов: 0, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 нг/мл 1 мл/флакон
7. Набор Контролей: Отрицательный и Положительный Контроли. Диапазоны указаны на этикетках 1 мл/флакон
8. Стоп раствор: 1.25 М Раствора кислоты 1 флакон (12 мл)

### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при температуре 2-8 °С.
2. Всегда хранить микролунки тщательно запечатанными в упаковке с влагопоглотителем. Мы рекомендуем использовать

все микролунки в течение 4 недель с момента вскрытия упаковки.

3. Реагенты остаются стабильными до окончания срока годности набора.
4. Не подвергать тестовые реагенты нагреванию. На допускать попадания прямых солнечных лучей и сильного света во время хранения и использования.

### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

1. Потенциально биологически опасные материалы: Калибратор и контроли содержат компоненты человеческого происхождения, которые были протестированы и оказались неактивными по отношению к поверхностному антигену гепатита В, а также к антителу ВИЧ, при взаимодействии с реактивами, лицензированными Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). Так как не существует метода, который может предложить полную уверенность в том, что ВИЧ, вирус гепатита В или другие инфекционные агенты отсутствуют, с этими реагентами необходимо обращаться, придерживаясь 2-го Уровня Биологической Безопасности, рекомендованного инструкциями Центров Контроля заболеваний/ Национальными Институтами Здоровья, "Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях." 1984.
2. Не пипетировать ртом. Не курить, не употреблять пищу и не пить в местах обращения с образцами и реагентами.
3. Компоненты набора предназначены для использования как интегральная единица. Не смешивать компоненты из разных партий.
4. Данный продукт содержит компоненты, содержащие азид натрия. Азид натрия может реагировать со свинцовыми и медными трубами до образования взрывоопасных азидов. При уничтожении смыть с большим количеством воды.

### ЗАБОР И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦОМ

1. Поместить маленький кусочек кала (~ 5 мм в диаметре; ~ 150 мг) в 1 мл Раствора для подготовки образца в пробирке, тщательно перемешать.
2. Если жидкие образцы, такие как из культуральной среды или других сред, доступны для теста, разбавить их 1: 1 с Раствором для подготовки образца.
3. Тестирование образца на антиген *H. Pylori*: Пациента просят доставить образец в тот же день в лабораторию. С момента сбора, образец может храниться в лаборатории при 2-8 °С до 3 дней, не влияя на производительность анализа. Для длительного хранения образца рекомендуется температура -20 °С или ниже.

### ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1. Подготовить 1 часть промывочного буфера. Подготовить промывочный буфер методом добавления дистиллированной или деионизированной воды к 10 частям промывочного концентрата до окончательного объема в 1 литр.
2. Привести все образцы и реагенты набора к комнатной температуре (20-25 °С) и аккуратно перемешать.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместить требуемое количество покрытых полосок в держатель.
2. Распределить 100 мкл подготовленного образца стула, калибраторов и контролей в соответствующие лунки. Постучать по держателю для удаления воздушных пузырей из раствора и тщательно перемешать. Инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут.
3. Удалить раствор из всех лунок. Повторить промывку 3 раза с промывочным буфером.
4. Добавить 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку и инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут.
5. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок. Повторить промывку 3 раза с промывочным буфером.
6. Добавить 100 мкл ТМБ хромогенного субстрата в каждую лунку и инкубировать при комнатной температуре в течение 15 минут.
7. Добавить 100 мкл Стоп раствора для остановки реакции.

Убедиться в отсутствии воздушных пузырей в каждой лунке перед считыванием результатов.

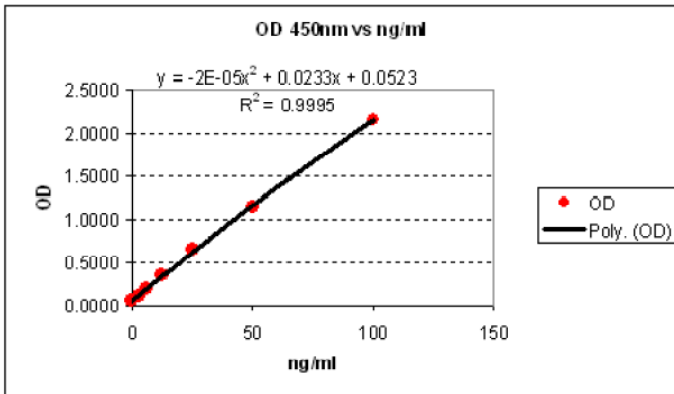
8. Считать O.D. при 450 нм при помощи считывающего устройства микролунок.

### ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Построить стандартную кривую, откладывая OD при 450 нм на оси ординат против значений концентраций калибратора в нг/мл на оси X с полиномиальными линиями тренда 2-го порядка.
2. Используя Значение OD каждого образца, определить концентрацию из стандартной кривой. Если результаты больше, чем 100 нг/мл (выходят за пределы диапазона стандартной

кривой), они могут быть представлены как "высокий положительный и больше, чем 100 нг/мл" результат. Для получения точных результатов, образцы могут быть дополнительно разбавлены и повторно проанализированы.

3. Типичный пример (только для демонстрации):
4. Типичный пример стандартной кривой:



#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Отрицательный контроль и положительный контроль должны анализироваться с каждой партией тестируемых образцов и концентрация должна быть в пределах, указанных на этикетке.
2. Значение OD калибратора 0 нг/мл должна быть ниже 0.150 и Значение OD калибратор 100 нг/мл должно быть больше 1.000.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

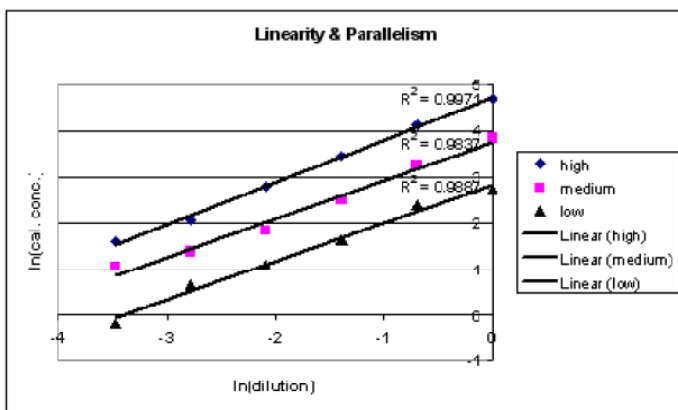
1. Минимальная определяемая концентрация: 0.5 нг/мл  
 Отрицательный: < 15 нг/мл  
 Положительный: > 20 нг/мл

#### ЛИНЕЙНОСТЬ И ПАРАЛЛЕЛИЗМ

Было проведено исследование, чтобы продемонстрировать линейность анализа. Три положительные пробы пациентов серийно разводили. Значения в нг/мл были рассчитаны для отдельных OD показаний разбавленных образцов. Значения Линейности R<sup>2</sup> перечислены в следующей таблице:

Serum #	Neat	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	R <sup>2</sup>
1	110.9	62.8	32.1	16.1	7.8	4.9	0.9971
2	46.6	25.7	12.1	6.2	3.9	2.8	0.9837
3	15.2	10.8	5.0	3.0	1.9	0.8	0.9887

График Линейной регрессии для представленных выше трех положительных проб:



#### ТОЧНОСТЬ

Точность анализа была оценена тестированием трех разных сывороток и восьми дублирующих показаний в течение 3 дней. Точность Внутри и Между сериями, % показана ниже:

N=8	Низко положительный	Средне положительный	Высоко положительный
Внутри анализа	6.7 %	4.7 %	3.3 %
Между анализами	7.4 %	2.7 %	16.7 %

#### ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Исследование было проведено для определения перекрестной реактивности со следующими бактериальными и вирусными штаммами: Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Campylobacter lari, Candida albicans, Enterobacter cloacae, Helicobacter cinaedi.

Все выше положительные образцы дали отрицательный результат на тесте Helicobacter Pylori антиген.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Анализ должен использоваться только для оценки пациентов с клиническими признаками и симптомами, указывающими на желудочно-кишечные заболевания.
2. Положительный результат теста указывает на активную инфекцию и колонизацию H.pylori. Это не обязательно означает, что желудочно-кишечные заболевания присутствуют.

#### КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА

Шаг	(20-25 °C комнатная температура)	Объем	Время инкубации
1	Подготовка образца	1 мл	
2	Подготовленные образцы, калибраторы и контроли	100 мкл	30 минут
3	Промывочный буфер (3 раза)	350 мкл	
4	Ферментный конъюгат	100 мкл	30 минут
5	Промывочный буфер (3 раза)	350 мкл	
6	Субстрат ТМБ	100 мкл	15 минут
7	Стоп раствор	100 мкл	
8	Считывание при 450 нм		



#### 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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)