

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ANTI-H.PYLORI СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ КЛАССА IgM В ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ

### EIA-2111, H. Pylori IgM ELISA

Каталог. № : EIA-2111  
Количество : 96  
Производитель: DRG (Германия)

Методика от 20-10-2011  
Версия 6.0



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

#### НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Тестовый набор *Helicobacter Pylori* IgM предназначен для использования в оценке серологического статуса к хеликобактерной инфекции у пациентов с желудочно-кишечными симптомами.

**ВВЕДЕНИЕ** (См. оригинал инструкции).

#### Принцип теста

Очищенный антиген *Helicobacter Pylori* нанесен на поверхность лунок. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки, и специфическое антитело *H.Pylori* IgM, если присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. Ферментный конъюгат добавляется, который связывается с комплексом антитело-антиген. Излишки конъюгата вымываются и раствор ТМВ реагента добавляется. Каталитическая реакция ферментного конъюгата останавливается в определенное время. Интенсивность цвета пропорциональна количеству IgM-специфических антител в образце. Результаты считываются микропланшетным считывающим устройством в параллельном сравнении с калибратором и контролем.

#### РЕАГЕНТЫ

**Материалы, поставляемые с набором:**

- Лунки, покрытые антигеном (1 планшет, 96 лунок) Микротитровальные лунки, покрытые очищенным антигеном *H.Pylori*
- Реагент Ферментного конъюгата (13 мл) Содержит козы анти-человеческие антитела IgM, конъюгированные с пероксидазой хрена, с консервантами
- Разбавитель образцов (22 мл) Содержит фосфатный буфер с консервантами
- Отрицательный контроль (100 мкл/флакон) Содержит *H.Pylori* IgM отрицательную сыворотку с консервантами
- Калибратор Cut-off (100 мкл/флакон) Содержит *H.Pylori* IgM слабую положительную сыворотку с консервантами; *H.Pylori* IgM коэффициент = 1
- Положительный контроль (100 мкл/флакон) Содержит *H.Pylori* IgM положительную сыворотку с консервантами
- Концентрат промывочного буфера (20х) (50 мл) Содержит фосфатный буфер и Твин 20
- ТМВ реагент (11 мл) Содержит 3, 3', 5, 5' тетраметилбензидин (ТМВ) стабилизированный в буферном растворе
- Стоп-раствор - 1N HCl (11 мл) Разбавленная хлористоводородная кислота

#### МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ В НАБОРЕ

- Дистиллированная вода.
- Точные пипетки: 5 мкл, 100 мкл и 200 мкл.
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Вортекс или эквивалент.
- Абсорбирующая бумага или бумажное полотенце.

#### СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Сыворотку получают из проб цельной крови, взятых соответствующим способом. Этот набор предназначен для использования с образцами сыворотки без добавок.

2. Образцы можно хранить при температуре 2-8 °С в течение до 7 дней или заморозить на срок до 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и оттаивания образцов сыворотки.

#### ХРАНЕНИЕ ТЕСТОВОГО НАБОРА И ИНСТРУМЕНТАРИЯ

Невыскранные наборы должны храниться при температуре 2-8 °С при получении, а планшет должен храниться в запечатанном пакете с осушителем для минимизации попадания воздуха. Открытые наборы останутся стабильными до окончания срока годности, при условии хранения, как описано выше. Микропланшетный ридер с полосой пропускания 10 нм или меньше и диапазоном оптической плотности 0-2 ОП или выше при длине волны 450 нм является приемлемым для использования в измерении абсорбции.

#### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. **ВНИМАНИЕ:** Этот набор содержит человеческий материал. Исходный материал, используемый для производства этого набора, показал отрицательный результат на HBsAg, ВИЧ 1/2 и ВГС по FDA утвержденным методам. Тем не менее, ни один метод не может полностью гарантировать отсутствие этих агентов. Поэтому все продукты крови, в том числе образцы сыворотки, следует считать потенциально заразными. Обработка и утилизация должна проводиться, как это определено соответствующими национальными указаниями по биологической безопасности.
2. Не используйте реагенты после истечения срока годности и не смешивайте компоненты из наборов с другими серийными номерами.
3. Не используйте реагент, когда она становится мутным, или подозревается загрязнение.
4. Не используйте реактив, если флакон поврежден.
5. Закрывайте крышками реагенты немедленно. Не путайте крышки.
6. Каждая лунка может быть использована только один раз.
7. Не пипетировать реагенты ртом.
8. Растворы, содержащие добавки или консерванты, такие как азид натрия, не следует использовать в ферментативной реакции.
9. Избегайте контакта с 1 N NaCl. Это может вызвать раздражение кожи и ожоги. В случае контакта, промойте большим количеством воды и обратитесь к врачу, если раздражение не проходит.

#### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

1. Все реагенты следует привести к комнатной температуре (18-25 °С) перед использованием.
2. Развести 1 объем промывочного буфера (20х) с 19 объемами дистиллированной воды. Например, развести 50 мл промывочного буфера (20х) дистиллированной водой до 1000 мл промывочного буфера (1х). Промывочный буфер стабилен в течение 1 месяца при температуре 2-8 °С. Перед использованием хорошо перемешать.

#### ПРОЦЕДУРА ТЕСТИРОВАНИЯ

1. Закрепить необходимое количество лунок в держателе.
2. Приготовить 1:40 раствор тестовых образцов, отрицательного контроля, положительного контроля и калибратора добавлением 5 мкл образца до 200 мкл разбавителя образца. Все хорошо перемешать.
3. Внесите 100 мкл разбавленной сыворотки, калибратора и контролей в соответствующие лунки. Для реагента бланка, внесите 100 мкл разбавителя для образцов в лунку 1А. Встряхните держатель для удаления пузырьков воздуха из жидкости и хорошо перемешайте в течение 10 секунд.
4. Инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут.
5. В конце инкубационного периода удалить жидкость из всех лунок. Промыть лунки 4 раза разведенным промывочным буфером (1х), а затем один раз дистиллированной водой. (Пожалуйста, не используйте воду из-под крана.)
6. Добавьте 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Осторожно смешивать в течение 10 секунд.
7. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 30 минут.
8. Удалите ферментный конъюгат из всех лунок. Промойте лунки 4 раза разведенным промывочным буфером (1х), а затем один раз дистиллированной водой.
9. Добавьте 100 мкл ТМВ реагента в каждую лунку. Осторожно перемешайте в течение 10 секунд.
10. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 20 минут.
11. Добавьте 100 мкл Стоп-раствора в каждую лунку в том числе в 2 бланка.
12. Осторожно перемешайте в течение 30 секунд. Важно убедиться, что весь синий окрас поменялся на желтый полностью.

13. Считать оптическую плотность при 450 нм в течение 15 минут при помощи микропланшетного считывателя.

**ВАЖНО:**

Процедура промывки является критической. Недостаточная промывка приведет к развитию неправильного цвета.

**ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ**

1. Подсчитать среднее значение дубликатов калибратора  $x_c$ .
2. Подсчитать среднее значение дубликатов положительного контроля, отрицательного контроля и образцов.
3. Вычислить *H. Pylori* IgM Индекс каждого определения делением среднего значения каждого образца на среднее значение калибратора,  $x_c$ .

**ПРИМЕР ТИПИЧНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ:**

**Индекс Cut-off Калибратора *H. Pylori* IgM = 1**

- |   |                          |
|---|--------------------------|
| 1. ОП Cut-off Калибратора = 0.650, 0.630  | $x_c = 0,640$            |
| 2. ОП Отрицательного контроля = 0,210, 0,230<br>Индекс <i>H. Pylori</i> IgM = $x_n/x_c = 0,220/0,640$ | $x_n = 0,220$<br>= 0,340 |
| 3. ОП Положительного контроля = 1.105, 1.210<br>Индекс <i>H. Pylori</i> IgM = $x_p/x_c = 1,200/0,640$ | $x_p = 1.200$<br>= 1,80  |
| 4. ОП образца пациента = 1.501, 1.670<br>Индекс <i>H. Pylori</i> IgM = $x_c / x_s = 1,600/0,640$      | $x_s = 1.600$<br>= 2,50  |

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ**

Отрицательный: Индекс *H. Pylori* IgM меньше 0.90 - серонегативный для IgM антител к *H. Pylori*. образец сыворотки мог быть взят слишком рано.

Сомнительный: Индекс *H. Pylori* IgM между 0.91 и 0.99 - сомнительный. Тестирование провести повторно с параллельным сравнением, используя образец, взятый через три недели.

Положительный: Индекс *H. Pylori* IgM 1.00 – сероположительный.

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Проведение теста считается действительным при соблюдении следующих условий:

1. Значение ОП бланк реагента в сравнении с воздухом, полученное с микролуночного считывателя, должно быть меньше 0.250.
2. Если значение ОП Cut-off Калибратора меньше 0.250, тест считать недействительным, и его необходимо повторить.

**ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ**

1. Надежные и соответствующие результаты будут получены, когда процедура анализа осуществляется с полным пониманием инструкции и с соблюдением надлежащей лабораторной практики.
2. Процедура промывки является критической. Недостаточная промывка приводит к низкой точности и завышенным значениям абсорбции.
3. Образцы сыворотки, демонстрирующие липемию, гемолиз или мутность, не должны использоваться с этим тестом.



**ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР**

ООО «ДИАМЕБ»  
ул. Чорновола, 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)