



Набор ИФА для определения антител класса IgA к *Helicobacter pylori*

Кат. № : 1505Z
Количество тестов : 96
Производитель : DAI (США)

Методика от 29-04-2010

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

| | |
|----------------------|---|
| Анализ | <i>H. pylori</i> IgA ELISA |
| Метод | Иммуносорбентный 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 | 97,10 % |
| Чувствительность | 88,90 % |
| Общее время | ~ 90 мин. |
| Срок годности | 12-18 мес. |

ПРИМЕНЕНИЕ

Набор *Helicobacter pylori* IgA предназначен для определения серологического статуса инфекции *H. pylori* пациентов 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, неязвенная 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 IgA антитела серологическим методом, через его точность и простоту.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Очищенный антиген *H. pylori*, привитый к поверхности микроячеек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в ячейки и специфическое антитело *H. pylori* IgA, 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 IgA 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.
- Абсорбирующий раствор:** черный колпачок – 1 фл./22 мл.
- 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./15 мл.
- Стоп-раствор:** 1 фл./12 мл.

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

- Реагенты, входящие в состав набора, следует хранить при 2-8°C.
- Микропланшет хранить в закрытой упаковке с осушителем. Рекомендуется использовать ячейки 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.
- 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°C не более одной недели или замороженными в течении 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и оттаивания проб.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

- Приготовление 1x промывочного буфера: Приготовьте промывочный буфер, добавлением дистиллированной или деионизированной водой к 10x концентрата промывочного буфера до конечного объема 1 л.
- Приведите все компоненты набора и анализируемые образцы к комнатной температуре (20-25°C) и аккуратно перемешать.

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 к 200 мкл абсорбирующего раствора. Тщательно перемешать.
- В соответствующие лунки внести по 100 мкл разведенных образцов сыворотки и калибраторов. Для определения фона внести 100 мкл абсорбирующего раствора 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 30 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.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ (4-ТОЧК. КАЛИБРОВОЧНАЯ КРИВАЯ)

- Определить значение ОП порогового калибратора: умножить ОП калибратора на коэффициент (к) на этикетке калибратора.

2. Рассчитать коэффициент IgG каждого определения разделив значения IgG каждого образца на полученную ОП порогового значения.

Например:

Если значение коэффициента (k) на этикетке = 0,35
(См. таблицу в оригинале инструкции).

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Ход анализа можно считать удовлетворительным, если выполняются следующие требования:

1. Значение ОП бланк реагента вхолостую на микропланшетном считывателе должна быть менее 0,150
2. Если ОП порогового калибратора меньше 0,250, тест считается не действительный и его нужно повторить.
3. Коэффициент IgA для отрицательного и положительного контроля должен быть в диапазоне, указанном на этикетках.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: указатель *H.pylori* A = 0,90 или ниже является сероотрицательным для IgA антитела *H.pylori*
Образцы могли быть взяты слишком рано.

Сомнительный: указатель *H.pylori* IgA 0,91-0,99 является сомнительный. Образцы, взятые тремя неделями позже, следует исследовать

Положительный: указатель IgA 1,00 или выше является сероположительным.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Анализ должен использоваться для оценки пациентов с клиническими симптомами, предполагающими желудочно-кишечные заболевания.
2. Как и в других серологических анализах, результаты этого анализа должны интерпретироваться в сочетании с другой клинической информацией.
3. Положительный тест не дает возможности установить разницу между острой инфекцией и колонизацией *H.pylori*. Это не обязательно указывает, что имеют место желудочно-кишечные заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
Тел.: (0342) 775122
Тел/факс: (0342) 775612
E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua