



Якщо який-небудь з реагентів потрапив на Вашу шкіру або в очі, промийте область ураження великою кількістю води.

3. Не одноразові аксесуари після використання необхідно стерилізувати. Переважний метод - автоклавування протягом 1 години при 121 °С. Одноразові - повинні бути автоклавовані або спалені.
4. Сірчана кислота, використовувана як стоп-розчин, і соляна кислота, використовувана для миття скляного посуду, є їдкими речовинами, і вимагають обережного поводження. Якщо кислота потрапила на Вашу шкіру або в очі, промийте область ураження великою кількістю води.
5. Нейтралізовані кислоти та інші рідкі відходи повинні бути деконтаміновані за допомогою додавання достатнього об'єму гіпохлориту натрію до досягнення кінцевої концентрації, принаймні, 1%. Для ефективної деконтамінації необхідна 30-хвилинна експозиція в 1% гіпохлориту натрію.
6. Розбризанний потенційно інфекційний матеріал необхідно негайно видалити за допомогою адсорбуючого паперу, а контаміновану ділянку протерти, наприклад, 1% розчину гіпохлориту натрію, перед тим як продовжити роботу. Не використовуйте гіпохлорит натрію доти поки краплі, що містять кислоту, не будуть повністю видалені і ділянка ураження не висохне. Матеріали, використовувані для видалення бризок, включаючи рукавички, повинні утилізуватися як потенційно біологічно небезпечні відходи. Не автоклавуються матеріали, що містять гіпохлорит натрію.

#### Аналітичні застережні заходи:

1. Перед використанням дозвольте всім реагентам і зразкам нагрітися до кімнатної температури (18-30 °С). Негайно після використання помістіть реагенти в умови з рекомендованою температурою зберігання. **Дуже важливо працювати при коректній температурі. Переконайтеся в тому, що Ваш термостат підтримує температуру не нижче 35 °С і не вище 39 °С.** Відкривайте пакет зі стрипами не раніше, ніж через 30 хвилин після витримання при кімнатній температурі.
2. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності. Необхідно запобігати мікробній контамінації реагентів, тому що в противному випадку знижується термін придатності, і можуть бути отримані помилкові результати.
3. Не змінюйте процедуру аналізу і не замініть реагенти набору реагентами інших виробників або з інших лотів (якщо взаємозамінність реагентів не обумовлена в інструкції окремо). Не скорочуйте рекомендований час інкубації.
4. Будь-який скляний посуд, використовуваний з реагентами, необхідно ретельно вимити 2М соляною кислотою, а потім прополоскати дистильованою водою або деіонізованою водою високої якості.
5. Не залишайте реагенти на яскравому світлі або в парах гіпохлориту під час зберігання або на етапі інкубації.
6. Не дозволяйте лункам пересихати під час проведення аналізу.
7. Не допускайте крос-контамінації реагентів.
8. Не торкатися обідків лунок, не розпилювати на них кон'югат. Не допускайте змішування вмісту різних лунок мікропланшетів.
9. Іноді при імуноферментному аналізі може виникати крайовий ефект, який можна мінімізувати шляхом збільшення вологості під час інкубації. Мікропланшет повинен бути накритий спеціальною плівкою, і інкубуватися при 37 °С на водяній бані в спеціальному тримачі для мікропланшетів або в інкубаторі. Альтернативно мікропланшет можна інкубувати в призначеному для цього аналізаторі. Для детального пояснення зверніться до відповідних інструкцій. Не можна використовувати CO<sub>2</sub> інкубатори.
10. Перед зчитуванням оптичної щільності переконайтеся в тому, що дно мікропланшетів чисте й сухе, а на поверхні рідини немає бульбашок.
11. Використання сильно гемолізованих зразків, сироватки, яка не повністю згорнулася, або зразків з мікробною контамінацією може призвести до отримання неправильних результатів.
12. Використання набору з автоматичними системами повинно бути обґрунтовано користувачем.
13. Необхідно уважно вивчити інструкції для кожного використовуваного приладу:
  - Інсталяція і все необхідне для неї
  - Принципи роботи, інструкції та ризики
  - Специфікація виробника і продуктивність обладнання
  - Сервіс та обслуговування.

#### ЗРАЗКИ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХ ЗБЕРІГАННЯ

Зразки сироватки крові, відібраної з вени звичайним чином з дотриманням необхідних запобіжних заходів. Свіжа сироватка може зберігатися до 4 днів при 2-8 °С, або протягом більш тривалого часу при 20 °С; зразки можуть піддаватися відтаванню не більше 3 разів. Розморожені зразки необхідно обережно перемішати перед

проведенням аналізу. Теплова інактивація може призвести до отримання помилкових результатів. На якість зразка серйозно впливає мікробна контамінація, яка може призвести до отримання неправильного результату.

Сильно ліпемічні, іктеричні або контаміновані зразки не можна використовувати. Якщо неможливо отримати новий зразок, то подібні проби необхідно очистити фільтрацією (0.45 мкм) або центрифугуванням (3000 об/хв. x 10 хвилин).

**Набір не можна використовувати для роботи з плазмою.**

#### ПРОЦЕДУРА

- Приготуйте необхідну кількість стрипів.
- Приготуйте Промивний буфер (розведіть необхідну кількість концентрату 10x) (100 мл + 900 мл H<sub>2</sub>O).
- Приготуйте необхідну кількість розчинника зразків шляхом розведення 1 частини Концентрату IgA Розчинника зразків (50x) в 49 частинах розведеного (готового до вживання) промивного буфера (приклад: 2 мл + 98 мл готового до вживання промивного буфера).

Залиште одну лунку для бланка (на відповідному етапі в цю лунку вносять 100 мкл субстратної суміші). Розведіть зразки 1:101, для цього змішайте 10 мкл сироватки і 1 мл розчинника.

Внесіть по 100 мкл кожного розведеного зразка у відповідні лунки (рекомендується аналіз в дублях). Внесіть НЕРОЗВЕДЕНІ калібратори у відповідні лунки (по 100 мкл в лунку) - необхідний мінімум 1 негативний контроль, 2 контролю Cut off і 1 позитивний контроль.

Накрійте лунки захисною плівкою та інкубуйте 45 хвилин при 37 °С. Потім промийте промивним буфером чотири рази з замочуванням по 30 секунд (300 мкл), після цього внесіть по 100 мкл кон'югату в кожну лунку та інкубуйте 45 хвилин при 37 °С, накривши лунки захисною плівкою. Промийте знову чотири рази, як описано вище. Потім внесіть по 100 мкл субстрату в кожну лунку.

Через 15 хвилин інкубації при кімнатній температурі імуноферментну реакцію зупиняють, додаючи по 100 мкл Стоп розчину.

Протягом 30 хвилин зчитати абсорбцію (ОЩ) при 450 нм або 450/620 нм. Якщо отримані значення ОЩ перевищують 2.000, то проведіть вимірювання при 405 нм.

#### ПРОТОКОЛ ВИЗНАЧЕННЯ IgA до *Helicobacter pylori*

КРОК 1	Внесіть по 100 мкл розбавлених зразків/нерозбавлених калібраторів у відповідні комірки --- Інкубуйте 45 хвилин при 37 °С --- Промийте 4 рази (по 300мкл) ---
КРОК 2	Внесіть по 100 мкл кон'югату в кожну лунку --- Інкубуйте 45 хвилин при 37 °С --- Промийте 4 рази (по 300мкл) ---
КРОК 3	Внесіть по 100 мкл субстрату в кожну лунку --- Інкубуйте 15 хвилин при кімнатній температурі ---
КРОК 4	Внесіть по 100 мкл Стоп розчину в кожну лунку --- Зчитайте абсорбцію при 450 нм протягом 30 хвилин

#### ДОСТОВІРНІСТЬ ТЕСТУ

Віднімайте значення бланка ( $\leq 0.15$ ) із усіх інших зчитувань. Оптична щільність сироватки Cut-Off повинна бути в межах 25% відхилення від середнього значення оптичної щільності при аналізі в триплеті. Відкиньте будь-яке патологічне значення, і повторно обчисліть середнє. Позитивний контроль повинен бути, принаймні, в 1.5 рази вище Cut-off контролю. Відношення між Негативним Контролем і Cut-off контролем повинно бути менше, ніж 0.6.

**О.Щ. Cut-off повинна бути  $\geq 0.2$  при 450 нм і  $\geq 0.16$  при 450/620 нм.**

#### ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахуйте співвідношення між середньою оптичною щільністю зразка та оптичною щільністю Cut-Off (індекс). Зразки розглядаються як:

**Позитивний:** якщо відношення  $> 1.2$

**Сумнівний:**  $\pm 20\%$

**Негативний:** якщо відношення  $< 0.8$

Якщо результат сумнівний, повторіть тест. Якщо новий результат

також сумнівний, заберіть і проаналізуйте новий серологічний зразок.

#### ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ

Використання ліпемічних, іктеричних, гемолізованих зразків, або інактивованої тепловою обробкою сироватки може призвести до отримання неправильних результатів. Результати тесту повинні використовуватися в сукупності з інформацією, отриманою в інших діагностичних процедурах.

#### АНАЛІТИЧНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ

Аналітична специфічність цього набору оцінювалася в тесті інгібування. *Сampylobacter coli*, *Сampylobacter jejuni* і *E. coli* були внесені в зразки сироваток пацієнтів. Не було виявлено відмінностей між референсними зразками та зразками, в які були додані перераховані антигени. Отже, тест специфічний відносно специфічних анти-*Helicobacter pylori* IgA.

#### ДІАГНОСТИЧНА ЧУТЛИВІСТЬ ТА СПЕЦИФІЧНІСТЬ

У ході клінічного дослідження, проведеного в госпітальній лабораторії, був проаналізований 171 зразок сироватки, після ендоскопічної оцінки пацієнтів: 110 з цих зразків були визнані позитивними на присутність *Helicobacter pylori* за результатами біопсії шлунка.

		Референсний метод	
		+	-
Набір ВСМ	+	95	2
	-	15	59

Чутливість та специфічність склали відповідно 88% і 96.8%.

#### ВІДТВОРЮВАНІСТЬ

Всередині серії (три різних лота).

Cut Off n=16	Лот N. 31	Лот N. 32	Лот N. 33
ОЦ	0.267	0.472	0.494
CV%	10	14	12

Між серіями

Зразок	АУ/мл				
	I	II	III	Середнє	CV%
РУА1	0.2	0.3	0.3	0.3	17
РУА2	1.2	1.0	1.4	1.2	18
РУА3	2.5	2.0	2.8	2.4	18

#### ВИЯВЛЕННЯ МОЖЛИВИХ ПРОБЛЕМ

ПРОБЛЕМА	МОЖЛИВА ПРИЧИНА	РЕКОМЕНДОВАНІ ДІЇ
Результати недійсні (всі негативні)	Один або більше реагентів не додано, або доданий (і) в неправильній послідовності	Перевірте процедуру. Перевірте на предмет невикористаних розчинів. Повторіть тест.
	Інертний мікропланшет	Перевірте код на упаковці мікропланшетів (правильний код див. Пункт IV)
		Перевірте на вологість невикористаний мікропланшет (осушувач силікагель повинен бути блідо жовтого кольору). Повторіть тест.
Результати недійсні (всі позитивні)	Контамінація субстрату	Візьміть нову аліквоту субстрату
	Неякісна промивка	Переконайтеся в тому, що обладнання для промивки працює добре
	Неповна промивка лунок	Переконайтеся в тому, що обладнання для промивки працює добре
	Неякісна аспірація вмісту лунок	Переконайтеся в тому, що обладнання для промивки працює добре
	Помилки піпетування	Перевірте роботу піпеток
	Реагенти вносяться занадто повільно	Не допускайте висихання планшета після промивки. Вносьте реагенти негайно.
	Наявність бульбашок	Не допускайте появи пухирців повітря при піпетуванні.
	Перешкоди в оптичній системі	Перевірте на забруднення джерело світла і детектор приладу. Протріть дно мікропланшетів м'якою тканиною.
Неадекватне	Некоректний час інкубації	Проконтролюйте температуру і

забарвлення	або температура	час
		Зверніться до рекомендацій інструкції
	Неправильний об'єм внесеного субстрату	Перевірте роботу піпеток



#### ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»  
вул. Чорновола, 97  
м. Івано-Франківськ, 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)