

Jednostopniowy test do wykrywania przeciwciał przeciwko *H.pylori*

1. Wprowadzenie i zasada metody

Helicobacter pylori (*H.pylori*) został wyizolowany przez Warren'a i Marshall'a w próbkach pobranych biopsyjnie od pacjentów cierpiących na przewlekłe zapalenie żołądka. Obecnie wiadomo już, że *H. pylori* jest głównym patogenem powodującym gastritis typu B (przewlekłe zapalenie żołądka), w którym wydaje się być czynnikiem wywołującym lub pogarszającym chorobę. *H. pylori* pełni fundamentalną rolę w chronicznych zapaleniach żołądka, wrzodach żołądka i dwunastnicy i ma ścisły związek z uszkodzeniami ściany żołądka. *H. pylori* jest izolowany z hodowli i określany mikroskopowo, po uprzednim barwieniu, lub wykrywany testami ureazowymi. Obie te metody są długotrwałe i pracochłonne, a ich czułość i specyficzność są jeszcze dopracowywane. Techniki immunochromatograficzne (szybkie testy) użyte do wykrywania przeciwciał specyficznych przeciwko *H. pylori* rozwiązują te problemy, umożliwiając w krótkim czasie, przy użyciu prostych wysoko specyficznych technologii, bez użycia technik inwazyjnych, monitorowanie metodami serologicznymi. Test do wykrywania *H. pylori* w próbkach krwi może być użyty do przeprowadzenia szybkiego screeningu wśród dużej populacji pacjentów i wczesnej diagnozy infekcji, gdyż odpowiedź immunologiczna często wyprzedza objawy kliniczne choroby. Z diagnostycznego punktu widzenia, wykrycie wysokiego poziomu specyficznych przeciwciał, powinno być interpretowane jako bezobjawowe zapalenie żołądka typu B.

SD BIOLINE *H. pylori* test zawiera pasek membrany z unieruchomionym w rejonie testowym antygenem *H. pylori*. Konjugat antygenu *H. pylori* i złotego koloidu wraz z próbką migruje wzdłuż membrany do pola testowego (T) i tworzy widoczną linię przez utworzenie kompleksu antygen-przeciwciało-antigen. [Zalecane zastosowanie] *H. pylori* Test jest szybkim testem kasetkowym do jakościowego wykrywania w surowicy, osoczu i krwi pełnej przeciwciał wszystkich typów (IgG, IgM, IgA i inne) przeciwko *H. pylori*.

Zalecany jest do diagnozowania infekcji *H. pylori* u pacjentów z objawami żołądkowo-jelitowymi. Test ten zaleca się stosować tylko jako wstępny screening i wyniki dodatnie powinny być potwierdzone innymi badaniami.

Test tylko do profesjonalnego użytku. Tylko do badań diagnostycznych in vitro.

2. Materiały dostarczone/ Czynne składniki głównych komponentów

- Zestaw zawiera następujące składniki konieczne do wykonania badania:
 - Kasetka testowa
 - Bufor do wykonania oznaczeń
 - Instrukcję użytkownika
- Czynne składniki:
 - ✓ 1 pasek testowy zawiera:
 - Złoty konjugat: *H.pylori* antygen, gold koloid 1 ± 0,2 µg
 - Linia testowa: antygen *H. pylori* 4 ± 0,8 µg
 - Linia kontrolna: Kozie przeciwciała przeciwko *H. pylori* 2 ± 0,4 µg
 - ✓ Bufor: 50mM bufor Tris-HCl (q.s.), Azydek sodu (0.02%)

3. Przechowywanie i stabilność:

- Testy powinny być przechowywane w temp. 2-30°C.
- Kasetki są czułe na zawilgocenie i na przegrzanie.
- Test należy wykonać bezpośrednio po wyjęciu kasetki z opakowania jednostkowego.
- Nie używać testów po upływie terminu ważności.
- Nie przechowywać w lodówce.
- Data ważności umieszczona jest na opakowaniu.

4. Zbieranie, przechowywanie i przygotowanie materiału:

- Zbieranie i przechowywanie materiału:
 - ✓ Do badania można użyć surowicy, osocza lub krwi pełnej
 - ✓ Próbkę traktować jako potencjalne źródło infekcji
 - ✓ Krew pełna
 - pobierać na odpowiedni antykoagulant, taki jak EDTA, cytrynian sodu, heparyna sodowa
 - próbki krwi pełnej powinny być poddane badaniu natychmiast, lub mogą być przechowywane do 3 dni w temp. 2-8°C
 - ✓ Surowica i osocze:
 - Odwirować krew pobraną na odpowiedni antykoagulant, taki jak EDTA, cytrynian sodu lub heparynę sodową, aby uzyskać osocze, lub krew pełną pobraną na skrzep, aby uzyskać surowicę.
 - Jeżeli oznaczenia nie zostaną wykonane natychmiast, to próbki surowicy i osocza można przechowywać do 7 dni w temp. 2-8°C lub dłużej po zamrożeniu do -20°C lub poniżej. Przed przystąpieniem do wykonania testu, materiał powinien być ogrzany do temperatury pokojowej.
 - próbki zawierające zmeńnienia mogą fałszować wyniki testu. Taki materiał powinien być oczyszczony przed przystąpieniem do wykonania testu.
- Środki ostrożności:
 - ✓ Antykoagulanty takie jak heparyna, EDTA i cytrynian nie wpływają na wynik badania
 - ✓ Próbkę z hemolizą, wysokim poziomem czynnika reumatoidalnego, lipemiczne i ikteryczne mogą dawać fałszywe wyniki.
 - ✓ Aby zapobiec kontaminacji między próbkami należy używać jednorazowych końcówek do pipet.

5. Ostrzeżenia:

- Tylko do diagnostyki in vitro. **Nie używać powtórnie** kasetek
- W celu uzyskania prawidłowych wyników należy przestrzegać procedury wykonania testu. Każdy wykonujący to badanie musi zostać przeszkolony w jego używaniu i musi być pracownikiem fachowym laboratorium.
- Nie jeść i nie palić w trakcie postępowania się materiałem biologicznym
- Używać rękawic ochronnych. Umyć ręce bezpośrednio po zakończeniu pracy
- Nie rozlewać i nie wytwarzać pyłu wodnego.
- W przypadku rozlania wytrzeć i zastosować środek dezynfekcyjny
- Odkazać i poddać utylizacji materiał badany, zużyte kasetki i cały sprzęt, który mógł ulec zanieczyszczeniu.

- Nie mieszać i nie przestawiać próbek.

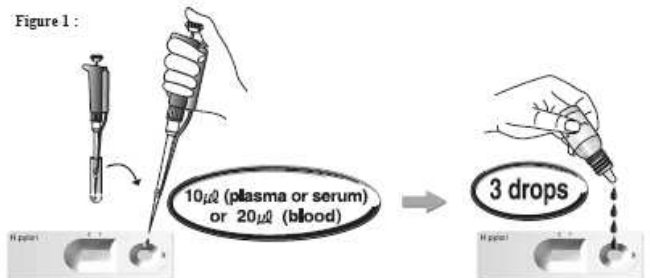
6. Środki ostrożności:

- W celu uzyskania jak najlepszych wyników zaleca się ściśle przestrzeganie tej instrukcji
- Cały materiał badany należy traktować jak materiał potencjalnie zakaźny
- Nie otwierać opakowań jednostkowych kasetek i nie wyjmować kasetek, jeżeli nie wykonuje się oznaczenia natychmiast.
- Nie używać kasetek powtórnie.
- Przed wykonaniem oznaczenia kasetkę, bufor i próbkę doprowadzić do tej samej temperatury (pokojowej).
- Nie używać po upływie terminu ważności podanego na etykiecie.
- Wszystkie składniki zestawu są poddawane kontroli jakości jako zestaw. Nie mieszać składników z różnych serii.
- Bufor zawiera niskie stężenie azydki sodu, który jest toksyczny. Nie spożywać, unikać kontaktu ze skórą.
- Nie używać testu jeżeli opakowanie jednostkowe jest uszkodzone lub kasetka pęknięta.

7. Wykonanie testu (Patrz rysunek):

W celu otrzymania dokładnych wyników należy ściśle przestrzegać poniższej instrukcji

- Kasetkę wyjąć z opakowania jednostkowego i ułożyć na suchej, poziomej powierzchni
- Przenieść do okienka (S) kasetki 10µl surowicy lub osocza, albo 20µl krwi pełnej, a następnie dodać 3 krople (około 110µl) i zacząć odczytywać czas. (Patrz rysunek poniżej)



- W momencie, kiedy test zaczyna działać można zauważyć purpurowy kolor przesuwający się przez pasek membrany.
- Odczytać wynik w ciągu 10 minut. Wynik dodatni uzyskany w ciągu 10 minut nie ulega zmianie w późniejszym czasie. Jeżeli temperatura otoczenia jest dużo niższa od 15°C czas odczytu należy przedłużyć do 15 minut.

8. Interpretacja wyników:

- W chwili, gdy test zacznie działać pojawia się kolorowa linia z lewej strony Okna Rezultatów, która wskazuje na prawidłowe działanie testu. Linia ta jest „Linia Kontrolna”.
- Prawa strona Okna Rezultatów wskazuje na wynik testu. Jeżeli dodatkowa kolorowa linia pojawia się z prawej strony Okna Rezultatów, to jest to „Linia Testowa”.

Wynik ujemny testu: Obecność tylko jednego paska kontrolnego (C) świadczy o negatywnym wyniku testu.



Wynik dodatni testu: Obecność dwu kolorowych pasków (T) i (C) w oknie rezultatu, bez względu na to, który z nich pojawi się pierwszy, oznacza wynik dodatni.



Wynik nieprawidłowy: Brak widocznego purpurowego paska w oknie rezultatów po wykonaniu testu oznacza nieprawidłowość. Oznacza to, że kierunek przepływu materiału nie był w pełni prawidłowy lub test uległ rozłożeniu. W tym wypadku zaleca się powtórzenie badania tej próbki.



9. Ograniczenia:

- Wynik ujemny nie wyklucza infekcji *H. pylori*. Wykonanie innych dostępnych testów jest konieczne do postawienia prawidłowej diagnozy.
- Jak we wszystkich diagnostycznych testach, wyniki muszą być rozważone w powiązaniu z innymi klinicznymi informacjami dostępnymi lekarzowi. Należy także odnotować, że pojedynczy rezultat nie może być użyty do definitywnego zdiagnozowania i każdy wynik powinien być zweryfikowany przy użyciu innych metod diagnostycznych.
- W czasie wykonywania testu należy przestrzegać jego procedury, środków ostrożności i sposobu interpretacji wyników.

Jednostopniowy test do wykrywania przeciwciał przeciwko *H.pylori*

10. Wewnętrzna kontrola jakości:

Kasetka posiada „Linie Testową „ i „Linie Kontrolną”. Żadna z nich nie jest widoczna przed dodaniem materiału badanego. Linia kontrolna pojawiająca się na pasku membrany jest kontrolą prawidłowego działania testu. Musi ona pojawiać się w każdym teście i świadczy o prawidłowym wykonaniu testu i odpowiednim działaniu składników aktywnych.

11. Charakterystyka testu:

1. Spodziewane wartości:

U większości osób narażonych na działanie *H. pylori* powstają przeciwciała klasy IgG skierowane przeciwko tym organizmom. Raporty donoszą, że 50% populacji ludności jest zkolonizowane przez *H. pylori*. Relatywnie wysoki odsetek pacjentów z wysokim poziomem przeciwciał klasy IgG nie wykazuje objawów choroby nawet, jeżeli są zkolonizowani. Dlatego też wysoki poziom przeciwciał klasy IgG nie zawsze jest związany z poważnymi objawami klinicznymi.

2. Czulość i specyficzność

W celu oceny jakości testów SD BIOLINE *H. pylori*, przeprowadzono badania kliniczne.

Odniesienie		SD BIOLINE <i>H.pylori</i>		Wyniki końcowe
Metoda	Wynik	Dodatni	Ujemny	
Popularny test <i>H.pylori</i> ELISA	Dodatni	71	3	74
	Ujemny	5	43	48
Wyniki końcowe		76	46	122

Porównanie wyników testu SD BIOLINE *H.pylori* z popularnym testem ELISA *H.pylori* IgG wskazuje na czulość 95,9% (71/74), i specyficzność 89,6% (43/48), zaś całkowita zgodność wynosi 93,4 % (114/122).

3. Precyzja

- ✓ Precyzję w serii określono poprzez 10- krotne powtórzenie oznaczeń 5 próbek zawierających różne stężenie przeciwciał. 100 procent wyników dodatnich i ujemnych pokrywało się.
 - ✓ Precyzję między seryjną określono używając 4 próbek materiału badanego o różnym stężeniu przeciwciał i wykonując po 3 oznaczenia 3 różnymi seriami testu. Wyniki były zgodne w 100%.
4. Czulość analityczna: limit detekcji; najmniejsza ilość markera, która jest wykrywalna, jest adekwatna do czulości wiodących popularnych testów przesiewowych do wykrywania przeciwciał przeciwko *H. pylori*.

12. Zalecana bibliografia:

1. Marshall B.J. et al. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med.J.Aust. 142:439-444 (1985)
2. Varia, D and Holton, J. Serum immunoglobulin G antibody levels for Campylobacter pylori diagnosis, Gastroenterology, 97: 1069-1071 (1989)
3. Lambert, J.r., Lin, S.K. and Aranda-Michel, J. Helicobacter pylori, Scand. J. Gastroenterol. 30 suppl 208: 33-46 (1995)
4. Evans, D.J., Evans, D.G., Graham, D.Y. and Klein, P.D.A sensitive and specific serologic test for detection of Campylobacter pylori infection. Gastroenterology. 96 : 1004-1008 (1989)

Wydanie: 2007.03

04FK10-02-5

Wersja polska:

Obowiązuje od 11.02.2008; Rev No:3

Importer i dystrybutor:

ALPHA DIAGNOSTICS Sp. z o.o.

01-347 Warszawa ul. Gabriela 2

Dział handlowy – tel. (022) 632 75 13; centrala – tel. (022) 631 40 13

Fax. (022) 632 42 11

Produkcja, Magazyn, Kontrola Jakości, Serwis:

00-739 Warszawa ul. Stępińska 22/30

Tel. (022) 631 42 27, fax. (022) 631 48 23

e-mail: ad@alphadiag.com.pl

www.alphadiag.com.pl



STANDARD DIAGNOSTICS, INC.

156-68 Hagal-dong, Giheung-gu, Yongin-si, Kyonggi-do, Korea
TEL:82-31-899-9700 FAX:82-31-899-9740 <http://www.standardia.com>



Authorized Representative

MT Promed Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80 D-66386 St. Ingbert Germany
Phone : +49 6894 581020, Fax : +49 6894 581021