

## H. pylori

Экспресс тест для определения антител IgG к *H. pylori*  
в человеческой сыворотке, плазме или цельной крови

### Предназначение

Тест-система Cypress Diagnostics H. pylori test является одноразовым иммунохроматографическим тестом для выявления IgG антител к *Helicobacter Pylori* в человеческой сыворотке, плазме или крови. Тест должен быть использован в качестве вспомогательного средства диагностики инфекции *H. пилори*, ранее известной как *Campylobacter Pylori*, у пациентов с желудочно-кишечными симптомами. ТОЛЬКО ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO. ТОЛЬКО ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ.

### Краткая характеристика

*H. pylori* представляет собой спираль жгутиковых грамотрицательных бактерий. Он колонизирует эпителий желудка человека и играет причинную роль в различных желудочно-кишечных расстройствах, включая неязвенную диспепсию, язву двенадцатиперстной кишки и желудка, активный и хронический гастрита и, возможно, рак желудка [1-9].

ВОЗ определила его канцерогеном I класса [5]. У пациентов с признаками и симптомами гастрита, язвенной болезни двенадцатиперстной кишки или неязвенной диспепсии, уровни распространенности инфекции *H. Pylori* могут превышать 90 процентов. Среди пациентов с наследственной историей рака желудка распространенность хеликобактерной инфекции наблюдается значительно чаще. [6].

Обнаружение специфических антител IgG к *H. Pylori* показано как точный метод для обнаружения *H. Pylori* у симптоматических пациентов. Тем не менее, *H. Pylori* может колонизировать некоторые бессимптомные лица.

Несколько типов иммунологических тестов, таких как ИФА, Вестерн-блоттинг, анализ рекомбинантного иммуноблота и анализы на основе ДНК в настоящее время используются для обнаружения *H. Pylori* [9]. Этот тест Cypress Diagnostics H. pylori test является быстрым и удобным иммунохроматографическим тестом.

### Принцип теста

Тест Cypress H. pylori - это быстрый иммунохроматографический скрининг-тест для определения антител IgG к *H. pylori*. Он может быть использован на сыворотке, плазме или цельной крови. Тест устройство содержит полоску мембраны, которая предварительно покрыта антигенами *H.pylori* на тестовой области и *H.pylori* специфическими моноклональными антителами на контрольной области. Антигены *H.pylori*- конъюгат коллоидного золота помещается в конец мембраны. Когда *H.pylori* специфические IgG антитела присутствуют в образцах пациента, смесь конъюгата коллоидного золота, пробы пациента и буферный раствор перемещается вдоль мембраны хроматографически на тестовой зоне (Т) и формирует видимую красную линию в качестве антиген-антитело-антиген золотых частиц сложной формы. Поэтому формирование видимой линии в тестовой области (т) указывает на положительный результат для обнаружения *H.pylori* специфических IgG антител. Когда *H.pylori* специфические IgG антитела отсутствуют в образце, видимая красная линия не формируется в тестовой области (т). Таким образом, отсутствие видимой линии в тестовой области (т) указывает на отрицательный результат для обнаружения *H.pylori* специфических IgG антител. Красная линия всегда будет появляться в области контроля (с). Эта контрольная линия служит процессуальным показателем того, что: 1) достаточный объем был добавлен, 2) соответствующий поток был получен и 3) контроль реагента.

### Компоненты набора

Каждый набор содержит принадлежности для выполнения 20 тестов:  
- 20 индивидуально упакованных тестовых устройства с распределительной пипеткой.  
- Флакон буфера: 50 мМ Трис-HCl буфера с 0.02% натрия азиды.  
- 1 Инструкция.

### Приготовление

Все компоненты набора готовы к использованию.

### Необходимое дополнительное оборудование :

- секундомер  
- Вакутейнеры : обычный для сывороточной процедуры, ЭДТА, гепарин или цитрат для плазмы или цельной крови.  
- Стерильные одноразовые ланцеты (только для образцов цельной крови из пальца).

- Стерильные спиртовые салфетки (только для образцов цельной крови из пальца).

### Хранение и стабильность

Набор *H. Pylori* test должен храниться при комнатной температуре (4-30°C) в оригинальной упаковке из фольги. Тест стабилен до даты, указанной на этикетке коробки и/или фольги. Не использовать по истечении срока годности. Не замораживать наборы тестов.

### Меры предосторожности

1. Тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального использования. Используйте тест только в соответствии с прилагаемыми к набору инструкциями.
2. Тестовые устройства предназначены для однократного использования. Не используйте повторно.
3. Тестовое устройство должно оставаться в фольге перед использованием. Не использовать после истечения срока годности.
4. Не смешивать реагенты из различных серий.
5. Не использовать образцы цельной крови, которые хранились более 3 дней
6. Термически обработанные и/или загрязненные сыворотки могут привести к ошибочному результату
7. Буфер содержит азид натрия, который может реагировать со свинцом или медью и формировать потенциально взрывоопасные азиды металлов. При утилизации этих растворов всегда промывайте его большим количеством воды, чтобы предотвратить взрыв азиды.
8. Стандартные рекомендации по работе с инфекционными агентами и химическими реактивами следует соблюдать на протяжении всей процедуры. Все загрязненные отходы, такие как пробы пациентов и использованные устройства, должны быть надлежащим образом утилизированы.

### Сбор образцов

Тест Cypress H. pylori test выполняется на цельной крови, сыворотке или плазме.

**Кровь из пальца :** Очистите область для прокалывания стерильным тампоном. Сожмите конец пальца и уколите палец стерильным ланцетом. Сотрите первую каплю крови. Используйте предоставленную пипетку, чтобы собрать достаточное количество образца (более 40µl) крови. Распределите две полные капли (около 40µl) свежей крови в ячейке для образца.

**Цельная кровь :** Соберите цельную кровь в пробирки, содержащие гепарин, ЭДТА или цитрат натрия венопункцией. Цельная кровь может быть использована для тестирования сразу или может храниться при температуре 2-8°C до трех дней.

**Сыворотка :** Сыворотка используется из цельной крови, взятой асептически венопункцией в чистую пробирку без антикоагулянта. Дайте возможность крови свернуться при комнатной температуре около 30 минут и отделите сыворотку центрифугированием. Осторожно извлеките сыворотку для тестирования, или храните при 2-8°C в течение 2 недель. Сыворотка может также быть заморожена при -20°C в течение до 1 года.

**Плазма :** Соберите цельную кровь с антикоагулянтами (гепарин, ЭДТА или цитрат натрия) венопункцией и отделите плазму путем центрифугирования. Осторожно извлеките плазму для тестирования, или храните при 2-8°C не более 3 дней.

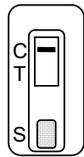
### Процедура

1. Дайте устройствам для тестирования, буферу, образцам пациента и контролям дойти до комнатной температуры (15-30°C).
2. Довести устройство до комнатной температуры (15-30°C), прежде чем открывать чехол, чтобы избежать конденсации влаги на мембране. Извлеките тестовое устройство из фольги, когда все готово, чтобы выполнить тест.
3. Пронумеруйте испытательное устройство именем пациента или идентификационным номером.
4. Добавьте образец на ячейку для образца при использовании прилагающейся пипетки.  
Сыворотка или плазма: по 1 капле (около 20µl)  
Цельной крови: 2 капли (около 40µl)  
Крови из пальца: 2 полные капли (около 40µl)  
Удерживайте пипетку в вертикальном положении при добавлении образца в ячейку для образца.



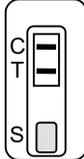
5. Сразу же добавьте 2 или 3 капли буфера  
 6. После добавления буфера, подождите, пока появятся окрашенные линии. В зависимости от концентрации присутствующих IgG антител, положительный результат может появиться через 1 минуту. Однако, чтобы подтвердить отрицательный результат, требуется полное время реакции 5 минут. Не интерпретируйте результаты после 8 минут.

#### Интерпретация результатов



##### Отрицательный

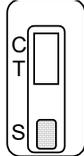
Только одна красная полоска в Контрольной области, без красной полоски в тестовой области, указывает на отрицательный результат.



##### Положительный

Две красные линии, одна в Тестовой области (Т) и одна в Контрольной области (С) указывают на положительный результат.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Даже очень слабая полоска в Тестовой области устройства в указанный период времени покажет положительный результат.



##### Недействительный

Красная линия должна всегда находиться в зоне контроля в течение 5 минут (не имеет значения, появится ли тестовая линия). Если нет четкой красной линии, видимой в контрольной области, тест недействителен или процедура не была соблюдена должным образом. Проверьте тестовую процедуру и повторите тест с новой кассетой.

#### Контроль качества

Красная линия должна всегда находиться в зоне контроля в случае, если тест был выполнен правильно, и устройство работает нормально. Она служит в качестве внутреннего контроля процесса тестирования. Четкий фон в тестовой зоне является внутренним негативным процедурным контролем. Однако, при титровании цельных проб крови, фон может быть слегка красноватым из-за низкого уровня гемолиза некоторых красных кровяных клеток. Это допустимо, пока он не будет мешать интерпретации результатов теста. Тест некорректный, если фон не ясен, и мешает чтению результатов.

Положительные и отрицательные сыворотки или плазмы на основе коммерческого контроля должны быть использованы для внешнего контроля качества. Используйте контроли в порядке, указанном в этой инструкции.

#### Ограничения процедуры

- Этот набор используется для качественного определения IgG антител к *H. pylori*.
- Этот тест-набор должен использоваться для симптоматических лиц, подозреваемых на желудочно-кишечные расстройства. Диагноз гастрита и/или язвенной болезни должен быть сделан в подтверждении с другими клиническими исследованиями.
- Положительный результат свидетельствует о наличии антител IgG к *H. pylori*, он не делает различия между активной инфекцией и перенесенной *H. pylori* и не обязательно указывает на наличие болезни желудочно-кишечного тракта.
- Отрицательный результат не исключает инфекции *H. pylori*, потому что наличие антител IgG к *H. pylori* может отсутствовать или не могут быть представлены в достаточном количестве, чтобы быть обнаруженными.

#### Характеристики выполнения

Чувствительность и специфичность: Сравнительное изучение

- Точность теста *Cypress H. pylori* была оценена по сравнению с коммерчески доступным тестом *H. Pylori* - одношаговым (Surestep) с использованием 108 образцов сыворотки/плазмы. Из 108 образцов, 105 дали те же результаты испытаний и 3 из них дали противоречивые результаты: отрицательные с набором *Cypress Diagnostics H. pylori kit* и положительные с набором Surestep.
- Коммерческий набор ИФА был использован для повторного анализа образцов с расхождением. Из 3 отрицательных результатов теста *Cypress H. pylori*, 2 были положительными и 1 был отрицательным при испытании набором ИФА.
- Результаты сравнения образцов приведены в таблице 1

Таблица 1

	Cypress положительные	Cypress отрицательные	Всего
SureStep положительные	45	3	48
SureStep отрицательные	0	60	60
Всего	45	63	108

- Эти результаты сравнительных исследований дали чувствительность 95.2% (60/63), специфичность 100% (45/45), и общее совпадение 97.2% (105/108).

#### Тест на Чувствительность:

Так как нет стандарта чувствительности, установленного для *H. pylori* IgG антител, были проведены следующие разведения (тест на чувствительность) для целей сравнения.

6 *H. pylori* положительные человеческие образцы (сыворотка/плазма), приобретенные у поставщиков, разбавляли с *H. pylori* отрицательной сывороткой человека. Разведенные образцы были протестированы с *Cypress test H. pylori* и *SureStep One-Step test H. pylori*. Результаты теста на чувствительность исследования следующие:

1:160 все положительные

1:320, все *Cypress* положительные, 3 *SureStep* отрицательные

1:640 1 положительный, 5 отрицательных с двумя тестами

1:1280 все отрицательные

Эти результаты показали, что чувствительность *Cypress test H. pylori* сопоставима с коммерческим экспресс *One-Step test H. pylori*.

#### Специфичность:

##### Перекрестная реактивность

Не наблюдалось перекрестной реактивности с тестом *Cypress H. pylori* test при оценке с помощью анализа ингибирования. Основываясь на этих результатах, можно сделать заключение, что *Cypress H. pylori test* специфичен в отношении антител *H. pylori* IgG.

#### Неспецифические взаимодействия

Тест *Cypress H. pylori* оценивали на наличие возможных помех от явно гемолизированных, липемических и желтушных образцов. Результаты показывают, что нет никаких помех в исполнении *Cypress H. pylori* теста на триглицериды до 2370 мг/дл, гемоглобина до 10 мг/мл, билирубина до 0,5 мг/мл, альбумина до 100 мг/мл.

#### Образец Исследования Матрицы

Тест *Cypress H. pylori* test может быть использован в образцах сыворотки/плазмы и цельной крови. Сравнительное исследование было проведено с целью проверить производительность *Cypress test H. pylori* в трех типах образцов.

Результаты образца исследования матрицы показывают прекрасное соответствие, существующее между сывороткой/плазмой и венозной кровью в образцах, и между венозной кровью и капиллярной цельной кровью. Существенной разницы в производительности замечено не было.

#### Воспроизводимость/Сайт Исследование

Точность *Cypress H. pylori* теста была оценена на 4-х независимых сайтах.

Из 40 положительных проб с двумя уровнями антител *H. pylori*, результаты были все положительными. Результаты испытаний 20 образцов с отрицательными результатами нашли 100% соответствие с ожидаемыми результатами.

#### Справочная литература

1. Buck, G.E et al.(1986) Relation of *Campylobacter Pyloridis* to Gastritis and Peptic Ulcers. *J. Infect. Dis.* 153: 664-669.
2. Graham, D.Y. (1989) *Campylobacter* and Peptic Ulcer Disease. *Gastroenterology* 96: 615-625.
3. Peterson, W.L. (1991) *Helicobacter Pylori* and Peptic Ulcer Disease. *The New England Journal of Medicine* 324: 1043.
4. Tytgat, G.N.J. et al. (1991) *Helicobacter Pylori*: A Causal Agent in Peptic Ulcer Disease?. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 6: 103-140.
5. Barthel, J.S and Evertt, E.D. (1990) Diagnosis of *Campylobacter Pylori* Infections: The 'Gold Standard' and the Alternatives. *Rev. Infect. Dis.* 12: 107-114.
6. Lin, S.K. et al. (1992) A Comparison of Diagnostic Tests to Determine *Helicobacter Pylori* Infection. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 7: 203-209.
7. Newell, D.J. and Stacey, A.R. "The Serology of *Campylobacter Pylori* Infections" in B.J. Rathbone and R.V. Headly (ed.), *Campylobacter Pylori and Gastrointestinal Disease* (Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1989), p. 74-82.
8. Pronovost, A.D. et al. (1994) Evaluation of a New Immunodiagnostic Assay for *Helicobacter Pylori* Antibody Detection; Correlation with Histopathological and Microbiological Results. *J. Clin. Microbiol.* 32: 46.
9. Goodwin, C.S. et al. Immunoserological Assay for *Campylobacter Pyloridis*: Correlation with Presence of *C. Pyloridis* in Gastric.

12.2017, Rev. 7.1

