

	Јавна здравствена установа Болница „Свети Врачеви“ Бијељина Српске војске 53			МИ-10-027
<i>Доказивање присуства Helicobacter pylori антигена у узорку столице</i>				
Страна 1 од 4	Издање:	Важи од:	Одобрио	Копија број
	1	2021-04-02	др Санда Лазић руководилац Службе за микробиологију са паразитологијом	Е

1. СВРХА ИСПИТИВАЊА

Доказивање присуства *Helicobacter pylori* антигена у узорку столице.

2. ПРИНЦИП И МЕТОД ПРОЦЕДУРЕ КОЈА СЕ КОРИСТИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ

Брзи имунохроматографски тест за детекцију присуства *Helicobacter pylori* антигена (Artron One-step *Helicobacter pylori* Antigen Test; Veda-Lab Pylorigen –Check-1).

3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ПЕРФОРМАНСИ

Artron One-step *Helicobacter pylori* Antigen Test

Евалуација карактеристика перформанси је вршена респираторним тестом издисаја и CLO тестом (брзи уреаса тест) и компаративном студијом са водећим комерцијалним *Helicobacter pylori* антиген тестовима. Резултати су:

- У односу на респираторни и брзи уреаса тест:

Дијагностичка осјетљивост 94,1%

Дијагностичка специфичност 100%

- У односу на друге комерцијалне китове:

Дијагностичка осјетљивост 100%

Дијагностичка специфичност 96,8%

Veda-lab-pylorigen-check-1

Аналитичка сензитивност теста је утврђена анализом помоћу пурификованог антигена *Helicobacter pylori*, 10 ng/ml. Између 4 комерцијално доступна брза теста, само је један имао сензитивност сличну Pylorigen –check-1 тест. Сви тестирани узорци, позитивни и негативни, показали су исти резултат као и референтни материјал. „Hook effect“ није регистрован до нивоа 1000µг/мл антигена *Helicobacter pylori* код извођења Veda-lab pylorigen –check-1 теста.

Ограничења:

- тест је дизајниран искључиво за узорке столице,
- као и код осталих дијагностичких процедура, резултате теста клиничар мора сагледавати у контексту клиничке слике и осталих налаза пацијента,
- позитиван резултат не искључује присуство других патогена.

4. ВРСТА УЗОРКА

Столица/фецес.

5. ПРИПРЕМА ПАЦИЈЕНАТА

Узорак тестирати што раније од узимања. Узорак је стабилан 24 сата на температури фрижидера или на -20 за дужи период.

Болница Бијељина	Страна 2 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-027
		1	2021-04-02	

6. ВРСТА ПОСУДЕ И АДТИВИ

Узорак није прихватљив уколико је узет у посуду која садржи адитиве, детерцент, медијум, они могу интерферирати са тестом.

7. ОПРЕМА И РЕАГЕНСИ

Реагенси: Брзи имунохроматографски тест (произвођач Artron Laboratories Inc.; Veda-lab pylorigen –check-1)

Апарати: вортекс

8. УПРАВЉАЊЕ УСЛОВИМА СРЕДИНЕ И БЕЗБЈЕДНОШЋУ

Анализу спроводити у уобичајеним микроклиматским условим у лабораторији, 20-24° С, у складу са УП-10-142: *Мјере заштите на раду у служби за микробиологију са паразитологијом*, УП-10-023: *Употреба средстава личне заштите у служби за микробиологију са паразитологијом*. Све компоненте теста чувати на собној температури, односно у опсегу + 4-30°. под таквим условима кит је стабилан до рока истека назначеном на паковању. Препорука је да се тест изводи у биосигурносном кабинету. Након завршетка процедуре дезинфиковати радно мјесто. Сав материјал у контакту са узорком и узорак аутоклавирати.

9. ПРОЦЕДУРЕ КАЛИБРАЦИЈЕ (МЕТРОЛОШКА СЛЕДЉИВОСТ)

Није примјењиво.

10. КОРАЦИ ПРОЦЕДУРЕ

Обрада узорка Artron One-step Helicobacter pylori Antigen Test:

1. Обиљежити пластичну бочицу у којој је раствор за екстракцију са бројем протокола,
2. Одврнути поклопац посуде са екстракционим раствором и извадити штапић за сакупљање узорка,
3. а) Уколико је столица чврста, штапић убости у узорак столице на више мјеста, најмање 3, тако да се сакупи приближно 50 мг фецеса (приближно величина 1/4 зрна грашка). Узорак не треба заграбити!
б) За течне узорке столице, држати пипету усправно, аспирирати узорак столице, а потом пренијети 6 капи (приближно 300 μ л) у колекциону посуду за узорак са екстракционим пуфером
4. Убацити штапић за сакупљање узорка у бочицу и добро заврнути поклопац. Снажно промућкати бочицу да се садржај изједначи.

Извођење анализе:

1. Сви реагенси морају бити на собној температури,
2. Извадити тест из запечаћене врећице и искористити што прије. Упозорење: Не додиривати прозорчић за тест нити мембрану унутар њега!
3. Држећи бочицу у усправном положају, руком одломити врх. Окренути бочицу и укапати 3 пуне капи (120 μ л) узорка, без мјехурића, у бунарић за узорак на касети.
4. Тачно након 15 минута читати резултат. Напомена: Јако позитивни узорци могу дати позитиван резултат у периоду од 1 мин. Негативне резултате потврдити за 15-30 мин. Не тумачити резултат након 30 мин!

Болница Бијељина	Страна 3 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-027
		1	2021-04-02	

Напомена: Узорци инокулисани у бочици са екстракционим пуфером могу да се чувају 6 мјесеци на температури - 20° С уколико се тестирање не изврши у року од једног часа након припреме.

11. ОБРАДА УЗОРКА VEDA-LAB-PYLORIGEN-CHECK-1

1. Обиљежити пластичну бочицу у којој је раствор за екстракцију са бројем протокола,
2. Одврнути поклопац посуде са екстракционим раствором и извадити штапић за сакупљање узорка,
3. а) Уколико је столица чврста, штапић убости у узорак столице на више мјеста, најмање 3, тако да се сакупити приближно величина зрна грашка. Узорак не треба заgrabити!
б) За течне узорке столице, држати пипету усправно, аспирирати узорак столице, а потом пренијети 5 капи (приближно 200 μ л) у колекциону посуду за узорак са екстракционим пуфером.
4. Добро заврнути поклопац. Снажно промућкати бочицу да се садржај изједначи. Остави у усправном положају да се исталоже веће честице или центрифугирај на 500-1000 РПМ 1 минут.

Извођење анализе:

1. Сви реагенси морају бити на собној температури прије извођења теста,
2. Извади тест стрип из врећице,
3. Пластичном пипетом узми из тубе са екстрахованим узорком 5 капи (150 μ л) и пребаци у бунатарић на тест стрипу предвиђен за узорак,
4. Очитај резултате након 10 минута. Након 15 минута не очитавати, резултати више нису валидни!

12. ПРОЦЕДУРЕ КОНТРОЛЕ КВАЛИТЕТА

Када је доступна комерцијална позитивна контрола радити је према упутству за тест, као и узорак (за нови лот ураити позитивну контролу, уколико постоји уочен проблем у чувању теста, у резултатима тестирања).

Сваки тест стрип има интегрисану контролу којом контролишемо количину узорка и кретање узорка кроз стрип, у контролној зони (С) по завршетку теста увек треба да се појави контролна линија. Одсуство ружичасте контролне линије у контролној зони (С) упућује на неважећи резултат.

13. ИНТЕРФЕРЕНЦЕ

Узорак није прихватљив уколико је узет у посуду која садржи адитиве, детерцент, медијум, они могу интерферирати са тестом.

Veda-lab-pylorigen-check-1

Узорци који садрже аденовирус, ротавирус, хемоглобин, токсини А и Б *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* су тестирани и нису давали унакрсну реакцију.

14. ПРИНЦИПИ ПРОЦЕДУРЕ ЗА ИЗРАЧУНАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

Није примјењиво.

15. БИОЛОШКИ РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ И ВРИЈЕДНОСТИ КЛИНИЧКОГ ОДЛУЧИВАЊА

Није примјењиво.

Болница Бијељина	Страна 4 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-027
		1	2021-04-02	

16. ИНТЕРВАЛ ИЗВЈЕШТАВАЊА О РЕЗУЛТАТИМА ИСПИТИВАЊА

Није примјењиво

17. УПУТСТВА ЗА ОДРЕЂИВАЊА КВАНТИТАТИВНИХ РЕЗУЛТАТА

Није примјењиво.

18. АЛАРМАНТНЕ/КРИТИЧНЕ ВРИЈЕДНОСТИ

Није примјењиво.

19. КЛИНИЧКО ТУМАЧЕЊЕ ЛАБОРАТОРИЈЕ

- Негативан: присутна само једна обојена линија у контролној зони (C).
- Позитиван: Уз контролну црту присуство јасно присуство обојене црте у тест зони (T). Узорак садржи *Helicobacter pylori*.
- Неважећи: Уколико нема јасне обојене линије у контролној зони (C). Поновити са новим тестом. Уколико је тест опет неуспјешан, молимо да контактирате произвођача у вези броја лота.
- Као и за све друге резултате „in vitro“ испитивања, тумачити их у контексту клиничке слике и резултата осталих испитивања.

20. ПОТЕНЦИЈАЛНИ ИЗВОРИ ВАРИЈАЦИЈА

Лажно негативан резултат је могућ уколико се узорак не чува на одговарајући начин.

Узорци узети након акутне фазе болести могу садржавати низак ниво антигена, те дати лажно негативан резултат. Уколико тегобе перзистирају, анализу поновити.

21. РЕФЕРЕНЦЕ

Упутство произвођача теста (Artron *Helicobacter Pylori* (HP) Antigen Test Instructions for use, REF A02-11-422).