

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پیشگامان در سنجش‌های تشخیصی و تشخیصی	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

آماده سازی	96 تستی	48 تستی	معرف
آماده مصرف	1×96 wells	1×48 wells	پلیت پوشیده شده با مخلوط آنتی ژنیک H.pylori کالیبراتور 1-5 (0، 10، 50، 100، 200 واحد قراردادی در میلی لیتر) (AU/mL) در بافر سازگار با سرم انسانی، همراه با نگهدارنده
آماده مصرف	5 ×2.5mL	5 ×1.5mL	نمونه کنترل cut-off در بافر سازگار با سرم انسانی همراه با نگهدارنده
آماده مصرف	1 ×2.5mL	1 ×1.5mL	نمونه کنترل بالا (High) در بافر سازگار با سرم انسانی همراه با نگهدارنده (بازه قابل قبول سرم کنترل بر روی برجسب قید شده است)
آماده مصرف	1 ×30 mL	1 ×12 mL	محلول رقیق کننده نمونه
آماده مصرف	1 ×12.0 mL	1 ×6 mL	کونژوگه (قرمز رنگ)
به نسبت 1 به 20 با آب مقطر یا آب دیونیزه رقیق کنید	1 ×30 mL	1 ×30 mL	محلول شستشو غلیظ
آماده مصرف	1 ×12.0 mL	1 ×6 mL	محلول سوبسترا-رنگ ز (تترامتیل بنزدین و آب اکسیژنه)
آماده مصرف	1 ×6.0 mL	1 ×6.0 mL	محلول توقف (اسید کلریدریک 1 مولار)

IVD-REF: PS - HPG	 <p>پیشگامان سنجش پیشگامان در تشخیص‌های تشخیصی و تست‌های</p>	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

کاربرد:

کیت آنتی هلیکوباکتر پیلوری-IgG شرکت پیشگامان سنجش برای اندازه گیری کمی و نیمه کمی آنتی بادی های اختصاصی از کلاس IgG علیه آنتی ژن های اختصاصی ارگانیسیم *Helicobacter.pylori* در سرم یا پلاسما طراحی گردیده است.

مقدمه :

اعضاء جنس هلیکوباکتر ارگانیسیم هایی میله ای شکل گرم منفی ، مارپیچی ، خمیده یا دوکی شکل هستند، که از مجاری گوارشی و کبدی- صفراوی بسیاری از پستانداران از جمله انسان جدا شده اند. هلیکوباکترهای مختلف به دو گروه طبقه بندی می شوند ، گونه هایی که در معده (هلیکوباکترهای معده ای) قرار دارند و گونه هایی که در روده ها (هلیکوباکترهای روده ای -کبدی) سکنی می گزینند. انسان مخزن اولیه هلیکوباکتر پیلوری محسوب شده و این ارگانیسیم در انسان با التهاب معده (گاستریت)، زخم معده و اثنی عشر، آدنوکارسینومای معده و تومورهای لنفاوی مربوطه به مخاطات (MALT) ارتباط دارد.

بعد از ورود ارگانیسیم به بدن، متعاقب دوره کوتاه حاد عفونت که با علائمی نظیر تهوع، درد و استفراغ و تب مشخص می شود، ارگانیسیم در دستگاه گوارش ساکن شده و این سکونت ممکن است، سالها ، دهه ها و حتی تا پایان عمر به طول بیانجامد. در غیاب زخم های القایی ناشی از داروهایی همچون ترکیبات ضدالتهابی غیراستروئیدی، 90درصد مبتلایان به زخم اثنی عشر عفونت هلیکوباکتر پیلوری دارند. در پنجاه تا هشتاد درصد زخم های خوش خیم معده ، هلیکوباکتر پیلوری حضور دارد. لانه گزینی طولانی مدت هلیکوباکتر که با گاستریت مزمن و دگربافتی(متاپلازی) و گاستریت آتروفیک همراه باشد، عامل مستعدکننده شناخته شده آدنوکارسینومای معده به شمار می رود.

سنجش IgG اختصاصی علیه هلیکوباکتر پیلوری جهت تأیید تماس با ارگانیسیم، چه با اهداف همه گیرشناسی و چه برای ارزیابی بیماران علامت دار سودمند است. IgM طی مرحله گذرای حاد در سرم پدیدار و سریعاً نیز ناپدید می گردد و ارزش تشخیصی ناچیزی دارد. در خصوص سنجش IgA یافته های تأیید کننده زیادی در دسترس نیست و هم IgG و هم IgA اختصاصی در سرم افراد بهبود یافته تا مدت ها پایدار هستند. در هر صورت تفسیر نتایج آنتی بادی اختصاصی علیه هلیکوباکتر پیلوری هم از کلاس IgG و هم از کلاس IgA بایستی با نگاه به علائم بالینی صورت گیرد.

بیماری زای هلیکوباکتر پیلوری بیش از آنکه از طریق تهاجم بافتی صورت گیرد، از طریق ترشح سموم مختلف انجام می پذیرد. در میان سموم مترشحه دو سم Caga و Vaca بیش از بقیه سموم با بیماریزایی ارگانیسیم ارتباط دارند. مطالعات مختلف نشان داده است بین سوبه های مختلف شایع در نقاط مختلف جهان تفاوت چشمگیری از

IVD-REF: PS - HPG	 <p>پیشگامان سنجش پیشگامان در سنجش‌های تشخیصی و تشخیصی</p>	کیت الایزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

نظر بیان CagA وجود دارد و لذا تهیه آنتی ژن از سوش های بومی برای استفاده در کیت های تشخیصی نقش مهمی در انطباق نتایج با علائم بیمار در جمعیت های بومی منطقه دارد. در کیت آنتی هلیکوباکتر پیلوری شرکت پیشگامان سنجش از سویه های بومی در تهیه آنتی ژن استفاده شده است، لذا نتایج بیشترین انطباق را با علائم بالینی دارند.

اساس آزمایش :

مبنای کیت سنجش هلیکوباکتر پیلوری IgG شرکت تولیدی-تحقیقاتی پیشگامان سنجش بر پایه اصول الایزا غیرمستقیم می باشد. در این روش، نمونه های استاندارد یا کنترل/cut-off همراه با نمونه رقیق شده بیمار به فاز جامد پوشیده از مخلوط آنتی ژنیک هلیکوباکتر پیلوری که از سویه های بومی تهیه شده است، اضافه می شوند. در صورت حضور آنتی بادی اختصاصی در سرم بیمار، این آنتی بادی ها به آنتی ژن متصل می شوند. بعد از یک مرحله شستشو برای خارج کردن اجزاء اتصال نایافته، آنتی بادی اختصاصی علیه بخش ثابت IgG کونژوگه با آنزیم HRP به چاهک افزوده می شود، که در صورت اتصال آنتی بادی اختصاصی در مرحله پیشین، این آنتی بادی نیز به مجموعه اضافه می شود. پس از یک مرحله دیگر شستشو، با افزودن محلول سوبسترا - رنگزا و انکوباسیون بمدت 10 دقیقه رنگ آبی بوجود می آید. با افزودن محلول متوقف گر، واکنش آنزیمی متوقف می گردد. شدت جذب نوری در 450 نانومتر با مقدار آنتی هلیکوباکتر پیلوری از کلاس IgG موجود در سرم نسبت مستقیم دارد .

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نیست :

1. سمپلرهای 20، 50، 100 و 200 میکرولیتری دقیق. سمپلر 8 کاناله با قابلیت پیپتینگ 50 تا 100 میکرولیتر و یا دیسپنسر اتوماتیک، اگرچه ضروری نیست ولی باعث بهبود قابل توجه تکرارپذیری و صحت نتایج می گردد.
2. آب مقطر با هدایت کمتر از $1 \mu\text{S/cm}$
3. دستگاه الایزا ریدر دارای فیلتر 450 نانومتری و در صورت امکان 630 نانومتری بعنوان فیلتر فرانس.
4. کاغذ جاذب رطوبت
5. دستگاه و اشتر اتوماتیک یا هر تجهیز دیگر نظیر سمپلر 8 کاناله یا سرنگ که قادر به ریختن 350 میکرولیتر محلول شستشو باشد.

IVD-REF: PS - HPG	 <p>پیشگامان سنجش پیشگامان در سنجش تشخیصی و تشخیصی</p>	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

نگهداری کیت :

1. کیت پس از تحویل باید در دمای 2-8 درجه سانتی گراد (یخچال) نگهداری شود. کلیه معرف ها و اجزاء کیت تا تاریخ انقضاء مندرج بر روی جعبه کیت به شرط نگهداری در دمای یادشده پایدار هستند. هرگز فراتر از تاریخ انقضاء مندرج بر روی جعبه از کیت استفاده نکنید.
2. غلظت کالیبراتورها و نیز دامنه قابل قبول نمونه های کنترل بر روی ویال درج شده است و ممکن است بین شناسه های مختلف ساخت تفاوت داشته باشد.
3. از انجماد کیت یا اجزاء کیت خودداری نمایید.
4. میکروپلیت باید در کیسه در بسته به همراه نمگیر نگهداری شود. در هنگام استفاده پس از رسیدن دمای کیسه میکروپلیت به دمای اتاق، تعداد لازم استریپ را از کیسه آلومینیومی خارج و مابقی همراه نم گیر بلافاصله به کیسه منتقل و درب کیسه با دقت بسته و به یخچال منتقل گردد.
5. محلول شستشو باید روزانه و تازه تهیه شود و در همان روز تهیه مصرف شود.
6. تغییر در خصوصیات فیزیکی معرف ها نظیر وجود ذرات معلق در آنها اغلب حاکی از آلودگی و خرابی معرف ها می باشد.
7. محلول سوبسترا-رنگ زا باید بی رنگ باشد. وجود رنگ آبی در این محلول نشان از خرابی و آلودگی آن دارد و باید دور ریخته شود.
8. کیت های باز شده اگر در شرایط توصیه شده در بالا نگهداری شوند، حداکثر به مدت 8 هفته پایدار خواهند بود.
9. اجزاء کیت ها با سری ساخت متفاوت را با یکدیگر مخلوط نسازید و از جابه جایی درب معرف ها جلوگیری شود.
10. استفاده از سر سمپلر یکبار مصرف برای دقت و صحت و پرهیز از آلودگی برای برداشتن نمونه ها استاندارد است و کنترل ها ضروری است.

جمع آوری و آماده سازی نمونه:

1. سرم یا پلاسما EDTA نمونه مناسب برای این آزمایش است.
2. از نمونه های با کدورت بالا، همولیز یا لیپمیک ترجیحاً استفاده نشود.

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پیشگامان در زمینه سنجش‌های تشخیصی و تشخیصی	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

3. در صورتی که انجام آزمایش در همان روز جمع آوری نمونه امکان پذیر نباشد، نمونه ها را می توان برای مدت 48 ساعت در دمای 2 تا 8 درجه سانتیگراد نگه داری کرد. برای مدت طولانی تر نمونه ها باید در 20°C - سانتیگراد نگهداری شود.

4. از ذوب و انجماد مکرر نمونه ها اجتناب شود. نمونه های منجمد باید قبل از آزمایش به آرامی، اما به طور کامل مخلوط شده تا کاملاً یکنواخت و همگن گردد.

احتیاطات و هشدارها

1. کیت فقط برای تشخیص طبی آزمایشگاهی کاربرد دارد.
2. کلیه معرف های کیت برای سنجش مستقیم آنتی هلیکوباکتر پیلوری-IgG در سرم یا پلاسما EDTA استاندارد شده اند و برای سنجش آنتی هلیکوباکتر پیلوری-IgG در سایر مایعات بیولوژیک یا پلاسما غیر EDTA مناسب نمی باشد.
3. قبل از آغاز سنجش، دستورالعمل پیش رو را بدقت مطالعه نموده و اطمینان حاصل کنید که تمامی نکات آن را بخوبی فرا گرفته اید. همواره از ویرایش معتبر و به روز دستورالعمل که همراه کیت بسته بندی شده است، استفاده کنید.
4. کلیه جوانب ایمنی در اجرای آزمایش رعایت شود. برای آگاهی از احتیاطات لازم به "راهنمای اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه (روش های صحیح میکروب شناسی و تکنیک های صحیح آزمایشگاهی)" تالیف دکتر شهلا فارسی از انتشارات کمیته ایمنی و امنیت زیست آزمایشگاهی اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت ویرایش 1393 مراجعه نمایید.
5. از تماس تمام معرف ها به ویژه محلول توقف که حاوی اسید کلریدریک است با پوست جلوگیری شود. در صورت تماس با آب و صابون شستشو داده شود.
6. در این کیت برای ساخت برخی اجزاء از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر آنتی بادی علیه HIV-1 and 2 و HCV و آنتی ژن سطحی ویروس هپاتیت B (HBsAg) ، منفی گزارش شده اند، ولی از آنجایی که هیچ آزمایشی نمی تواند به طور کامل ایمنی یک نمونه با منشاء انسانی را تضمین نماید، با آن همانند یک نمونه بالقوه عفونی رفتار نمایید.
7. با کلیه نمونه های بیمار به عنوان نمونه های بالقوه عفونی برخورد نمایید.
8. برخی از معرف ها حاوی سدیم آزاید به عنوان نگهدارنده می باشند. سدیم آزاید ممکن است با سرب و مس موجود در لوله کشی آب شهری واکنش داده و تولید آزیدهای فلزی قابل انفجار کند. جهت آگاهی از نحوه وارهایی

IVD-REF: PS - HPG	 <p>پیشگامان سنجش پیشگامان در زمینه تشخیص‌های تشخیصی و تست‌های آزمایشگاهی</p>	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

پس مانده‌های آزمایشگاهی به "دستورالعمل نحوه مدیریت پسماندهای آزمایشگاهی" تالیف دکتر شهلا فارسی از انتشارات کمیته ایمنی و امنیت زیست آزمایشگاهی اداره کل آزمایشگاه مرجع سلامت و ویرایش 1394 مراجعه نمایید.

آماده سازی معرف ها:

1. همه معرف ها باید قبل از استفاده به دمای اتاق ($20-27^{\circ}\text{C}$) برسند.
2. تهیه محلول شستشو: برای تهیه محلول شستشوی آماده مصرف، یک حجم از بافر شستشو غلیظ (20X) را با 19 حجم آب مقطر رقیق نمائید.

نکات مهم در انجام تست:

1. فرایند شستشو از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. شستشوی ناکافی باعث عدم جدا شدن پیوندهای غیراختصاصی و جذب نوری زمینه (Background) می گردد.
2. کیفیت آب مقطر مصرفی در کیفیت محلول شستشو و جدا کردن پیوندهای غیراختصاصی اهمیت زیادی دارد.
3. قبل از شروع کار اطمینان حاصل نمایید که دمای کلیه اجزاء کیت به دمای اتاق رسیده باشد.
4. دمای مطلوب محیط آزمایشگاه برای آزمایش های الیزا 20 تا 27 درجه سانتیگراد می باشد.
5. معرف ها و نمونه ها را قبل از آزمایش بخوبی مخلوط نمایید.
6. بهتر است استانداردها، کنترل ها و نمونه ها را به صورت دوتایی (Duplicate) و ترجیحاً در دو چاهک عمودی آزمایش کنید و میانگین جذب نوری دو چاهک جهت محاسبه نتایج مورد استفاده قرار گیرد.
7. جهت پیت کردن محلول سوبسترا-رنگ زا و محلول توقف از میکروپیت های حاوی قطعات فلزی استفاده نکنید.

8. زمان های انکوباسیون و دمای انکوباسیون را با دقت رعایت کنید.
9. اگر کل پلیت هم زمان ران می شود، برای پرهیز از خطای ناشی از اختلاف زمانی انکوباسیون بین چاهک ها (Drift)، از تجهیزاتی نظیر دیسپنسر اتوماتیک یا سمپلر هشت کاناله برای ریختن معرف ها استفاده شود یا بیش از شش استریپ در هر بار ران نشود.
10. در صورت تمایل به گزارش نتایج به صورت کمی، در هر بار انجام آزمایش منحنی کالیبراسیون را مجدد ترسیم نموده و برای محاسبه نتایج از منحنی ذخیره شده استفاده نکنید.
11. مراحل آزمایش را بدون وقفه انجام دهید. وقفه بین مراحل باعث نتایج کاذب می گردد.

IVD-REF: PS - HPG	 <p>پیشگامان سنجش پیشگامان در سنجش‌های تشخیصی و تشخیصی</p>	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

12. در کلیه مراحل انجام آزمایش و متعاقب هر مرحله پیپتینگ، چاهک‌ها از نظر وجود حباب بررسی شوند. در صورت وجود حباب با ضربه آهسته به پلیت از محیط خارج شوند.
13. هر نوع نمونه یا ماده کنترلی که حاوی سدیم آزاید یا تیمورسال باشد، با این کیت سازگار نبوده و آزمایش بروی آنها ممکن است به حصول پاسخ‌های کاذب بیانجامد.

روش انجام آزمایش:

- 1- تعداد چاهک‌های کوت شده برای استانداردها، کنترل‌ها و نمونه‌های بیمار را بصورت 2 تایی انتخاب کنید و مابقی چاهک‌ها را همراه ماده نمگیر درون کیسه مخصوص قرار داده و درب آنرا ببندید.
- 2- 200 میکرولیتر از محلول رقیق‌کننده نمونه داخل تمام چاهک‌های نمونه بریزید. چاهک‌های استانداردها و کنترل‌ها را در این مرحله، خالی بگذارید.
- 3- 200 میکرولیتر از استانداردها، و نمونه‌های cut-off و کنترل به داخل چاهک مربوطه بریزید.
- 4- 20 میکرولیتر از نمونه‌های بیمار را به چاهک‌های مربوطه که قبلاً به آن رقیق‌کننده نمونه افزوده اید، اضافه کرده و با چندبار پرو خالی کردن سمپلر بخوبی آن را مخلوط نمایید.
- 5- پلیت را بمدت 30 ثانیه به آرامی تکان دهید تا محتویات چاهک‌ها به خوبی مخلوط شوند. سپس درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده، آنرا بمدت بیست (20) دقیقه در دمای اتاق (27°C-20) انکوبه کنید.
- 6- محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و چاهک‌ها را طبق دستورالعمل زیر شستشو دهید:
 - برای شستشوی چاهک‌ها، ابتدا 350 میکرولیتر بافر شستشو را داخل چاهک بریزید، سپس چاهک‌ها را وارونه کرده و همراه با تکان دادن خالی کنید و عمل شستشو را چهاربار دیگر (جمعاً به مدت 5 بار) تکرار کنید. در انتهای شستشو، با ضربه زدن ملایم پلیت بر روی کاغذ یا پارچه جاذب الرطوبه تمامی مایع موجود در چاهک‌ها را تخلیه نمایید.
 - بهتر است برای شستشو از دستگاه‌های اتوماتیک و اشرفی که قابل برنامه‌ریزی است استفاده نمایید. که در این صورت به دستورالعمل دستگاه شستشو مراجعه نمایید.
- 7- 100 میکرولیتر از محلول کونژوگه، به تمام چاهک‌ها اضافه کنید.
- 8- درب چاهک‌ها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده، آنرا بمدت بیست (20) دقیقه در دمای اتاق (27°C-20) انکوبه کنید.
- 9- مطابق با بند 6 عمل شستشو را انجام دهید.

IVD-REF: PS - HPG	 <p>پیشگامان سنجش پیشگامان در زمینه تشخیص‌های و تست‌های آنتی‌جسم</p>	کیت الایزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

10- 100 میکرولیتر از سوبسترا-رنگ زا آماده مصرف به تمامی چاهک ها اضافه کنید و آنها را به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه نمایید.
 11- 50 میکرو لیتر از محلول متوقف کننده واکنش به همان ترتیبی که محلول سوبسترا-رنگ زا را اضافه نمودید، به همه چاهک ها اضافه کنید. سپس حداکثر ظرف مدت 5 دقیقه جذب نوری هر چاهک را در طول موج 450 نانومتر با دستگاه الایزا ریدر قرائت نمایید (در صورت امکان از طول موج 630 نانومتر بعنوان فیلتر رفرانس استفاده کنید).

محاسبه کمی نتایج:

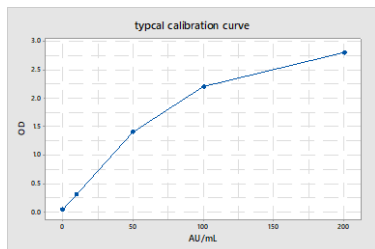
1. با استفاده از میانگین جذب نوری استاندارد‌ها بر روی محور عمودی (محور Y) و غلظت آنها بر حسب واحد قراردادی در میلی لیتر سرم (AU/mL) بر روی محور افقی (محور X) بر روی کاغذ میلی متری، منحنی استاندارد را از طریق ترسیم خطوطی که از تمامی نقاط تلاقی عبور کرده است، ترسیم کنید.
2. میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور Y جای آنرا پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل کنید. از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور X وارد کنید تا نقطه تلاقی که نشان دهنده غلظت نمونه است، بدست آید.
3. در صورتی از اسپکتروفتومتر مخصوص میکروپلیت که مجهز به سیستم پردازش داده های داخلی است استفاده می کنید، جهت محاسبه نتایج و ترسیم منحنی کالیبراسیون به دستوالعمل دستگاه مراجعه نمایید. برای محاسبه نتایج آنتی هلیکوباکتر پیلوری-IgG شرکت پیشگامان سنجش ایساتیس از مدل محاسباتی نقطه-به-نقطه (Point-to-point) استفاده کنید.

داده های نمادین منحنی کالیبراسیون

مقادیر جذب نوری ارائه شده در جدول ذیل بعنوان داده های نمادین آورده شده است. لازم به یادآوری است این داده ها فقط جنبه راهنمایی داشته و هر آزمایشگاهی باید برای هر بار آزمایش یک منحنی استاندارد جدید براساس نتایج بدست آمده در آزمایشگاه خویش ترسیم نماید.

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پیشگامان در سنجش‌های تشخیصی و تست‌های آنتی‌ژن	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

ROW	Standards	OD
	AU/ml	450nm
1	0	0.03
2	10	0.3
3	50	1.4
4	100	2.2
5	200	2.8



محاسبه نیمه کمی نتایج

در هر کیت علاوه بر ویال‌های استاندارد یک ویال cut-off نیز وجود دارد، که اگر مایل به محاسبه نیمه کمی نتایج هستید، می‌توان از آن به عنوان معیار تفکیک پاسخ‌های مثبت از منفی استفاده نمود. برای این منظور می‌توانید از شاخص COI (Cut-off Index) استفاده نمایید. برای محاسبه COI کافی است جذب نوری بدست آمده از نمونه‌های بیمار را به جذب نوری نمونه cut-off تقسیم نمایید:

$$COI = \frac{OD \text{ sample}}{OD \text{ cut off control}}$$

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پیشگامان در زمینه تشخیص‌های و تست‌های آنتی	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

ایزوتایپ آنتی بادی و وضعیت عفونت:

اهمیت بالینی	سرولوژی
وجود آنتی بادی از کلاس IgG در سرم بیمار مشخصه پاسخ ایمنی ثانویه است. در صورت هم خوانی با تابلوی بالینی بیمار، تیتراهای بالا ممکن است بر عفونت فعال دلالت داشته باشند، ولی ممکن است حتی پس از درمان تا چندین سال بالا باقی بمانند. تیتراهای پایین ممکن است نشانه عفونت قبلی باشند.	IgG
این آنتی بادی در سطوح مخاطی سرتاسر بدن تولید شده و به عنوان سدی حفاظتی در برابر عفونت عمل می کند. این کلاس آنتی بادی معمولاً در مراحل آغازین عفونت تولید می شود. در صورت هم خوانی با تابلوی بالینی بیمار، تیتراهای بالا ممکن است بر عفونت فعال دلالت داشته باشد.	IgA

کنترل کیفی:

در هر کیت یک نمونه کنترل مثبت قوی وجود دارد که مقادیر موردانتظار آنتی بادی برحسب AU/mL بر روی برجسب ویال درج شده است. همچنین، در صورتی که از روش کمی برای تعیین تیترا آنتی بادی استفاده می کنید، نمونه cut-off نیز می تواند به عنوان نمونه کنترل مثبت ضعیف در هر ران کاری مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این آزمایشگاه می تواند در هر ران از نمونه های مثبت ران های پیشین، مشروط بر اطمینان از پایداری آنتی بادی در آن نیز استفاده نماید.

مقادیر موردانتظار:

نتایج نیمه کمی (COI)	نتایج کمی (AU/ml)	تفسیر کیفی نتایج
<0.8	<10	Negative
0.8-1.2	10-15 AU/mL	Gray zone
>1.2	>15 AU/ml	Positive

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پیشگامان در سنجش تشخیصی و تشخیص آنتی	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

نتایج سرولوژی هلیکوباکتر پیلوری نباید به عنوان تنها معیار برای تداخلات درمانی مبناء قرار گیرد و باید در کنار سایر معیارها نظیر تابلوی بالینی بیمار و نتایج تست اوره آز تنفسی تفسیر شود.

معیارهای صحه گذاری ران کاری:

در پایان هر ران کاری باید معیارهای زیر بدست آید، در غیراینصورت فرآیند انجام تست معتبر نبوده و باید پس از رفع مشکل ران کاری تکرار شود:

Reagent	OD
Standard Zero	< 0.1
Cut-off control	> 0.1
Standard 200	> 1.2

اختصاصیت تشخیصی:

اختصاصیت تشخیصی که با درصد (کسر عددی ضرب در 100) افراد با تفسیر منفی در عدم حضور آنتی بادی اختصاصی مشخص می شود، برای این کیت معادل 96.63% (بازه اطمینان 95% از 90.46% تا 99.30%) بدست آمد.

حساسیت تشخیصی:

حساسیت تشخیصی که با درصد افراد با تفسیر مثبت (کسر عددی ضرب در 100) در حضور آنتی بادی اختصاصی مشخص می شود، برای این کیت معادل 95.15% (بازه اطمینان 95% از 89.031% تا 98.41%) بدست آمد.

خصوصیات اجرایی کیت

1- دقت (Precision):

دقت روش با استفاده از کلیه معرف های کیت آنتی هلیکوباکتر پیلوری IgG شرکت پیشگامان سنجش و سه Pooled serum تهیه شده از نمونه های بیمار مطابق با راهنمای EP 05-A3 مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) بدست آمد.

طی 10 روزکاری، سه کاربر و هر یک روزانه سه ران اندازه گیری های تکراری به صورت دوتایی در هر ران بروی نمونه های یاد شده انجام دادند (2×3×3×10). نتایج به کمک یک نرم افزار صفحه گسترده و با روش آماری Fully nested ANOVA تحلیل گردید: خلاصه نتایج در جدول زیر آورده شده است:

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پژوهشگاه در زمینه تشخیص‌های و تست‌های آنتی‌بیوتیک	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

Sample Description	Mean (AU/mL)	Repeatability		Within-Laboratory Precision	
		SD(AU/mL)	%CV	SD(AU/mL)	%CV
Patient Pool	8.26	0.72	8.72	0.82	9.93
Patient Pool	39.82	2.31	5.80	3.56	8.94
Patient Pool	77.66	4.62	5.95	5.33	6.86

2- اختصاصیت آنالیتیک (Analytical Specificity):

در این کیت هموگلوبین تا 50 mg/dL، بیلیروبین تا 20 mg/dL، و تری گلیسریدها تا 1000 mg/mL تأثیری بر سنجش ندارند.

منابع و مراجع:

1. CLSI. Evaluation of precision of quantitative measurement procedures; approved guideline. CLSI document EP 05-A3. McEnroe R.J. Clinical and Laboratory Standard Institute, 2014.
2. CLSI. Interference Testing in clinical chemistry; approved guideline. 2nd ed. CLSI document EP07-A23. McEnroe R.J. Clinical and Laboratory Standard Institute, 2005.
3. Kao C.Y, Sheu B, Wu J-J. Helicobacter pylori infection an overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. Biomed J(2016); 39(1) 14-23
4. Kasper D.L. et al. (2015). Harrison's principles of internal medicine. 19th ed. (pp. 1038-1041) Mc Graw Hill Education
5. Pagana K.D. et al. (2018). Mosby's Manual of diagnostic and Laboratory tests. 6th ed. (pp. 1049-1051). Elsevier Inc.
6. Stefan Reidel. et al. (2019). Jawetz, Melnick, & Adalbert's, Medical Microbiology. 28th ed. (pp. 268-272). Mc Graw Hill (LANGE Medical Book)

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پیشگامان در سنجش تشخیصی و تشخیصی	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

خطایابی در آزمایش های الیزا

نوع مشکل	علت مشکل	راه حل
پایین بودن OD استاندارد ها و نمونه ها	افت و یا آلودگی کونژوگه	تکرار تست با کونژوگه جدید
	پایین بودن دما و یا کوتاه بودن زمان انکوباسیون، به دما نرسیدن محلولهای کیت و نمونه بیماران	1. دمای آزمایشگاه و تایمر را چک کرده و تست را تکرار کنید. 2. قبل از شروع آزمایش کیت و نمونه بیماران به دمای اتاق برسد.
	PH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer. شستشوی نامناسب و یا خشک شدن چاهک ها	1. PH آب مقطر را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید. 2. پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک ها بلافاصله تست را ادامه دهید.
	نگهداری نامناسب کیت و عدم رعایت زنجیره سرد	1. پس از باز کردن کیت تاریخ را ثبت کنید و به تاریخ انقضا توجه کنید. 2. پس از هر بار مصرف پلیت را با چسب بپوشانید و کیت را در یخچال نگهداری کنید.
	طول موج خوانش نامناسب (405 nm بجای 450nm)	1. تست را با دستگاه کالیبر شده بخوانید. 2. طول موج دستگاه را دوباره چک کنید.
صحیح نبودن نمودار استاندارد ها	آلودگی استاندارد ها	از سری استاندارد جدید استفاده کنید.
	پیپتینگ نامناسب	1. استفاده از نوک سمپلر یکبار مصرف 2. از سمپلرهای تک کاناله یا چند کاناله کالیبر شده استفاده کنید. 3. توجه کنید نوک سمپلر محکم به سمپلر متصل باشد.

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پیشگامان در سنجش تشخیصی و تشخیصی مولکولی	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

4. توجه کنید در هنگام پیپتینگ حباب وارد نوک سمپلر نشود.		
1. PH آب مقطر را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید.	PH نامناسب و یا غلظت بالای Wash Buffer.	
2. پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک ها بلافاصله تست را ادامه دهید.	شستشوی نامناسب و یا خشک شدن چاهک ها	
تکرار تست با استاندارد های جدید	آلودگی استاندارد صفر	بالا بودن رنگ زمینه، بالا بودن OD
استفاده از محلول رنگزا جدید	آلودگی محلول رنگزا	
1. عدم آلودگی آب مقطر با موادی مانند وایتکس را چک کنید و تست را با Wash Buffer جدید تکرار کنید.	آلودگی و یا غلظت پایین Wash Buffer، شستشوی نامناسب	بالا بودن رنگ زمینه، بالا بودن OD
2. تمام سوزن های دستگاه واش را چک کنید.		
1. تست را با دستگاه کالیبر شده بخوانید.	طول موج نامناسب در خوانش	بالا بودن رنگ زمینه، بالا بودن OD
2. طول موج دستگاه را دوباره چک کنید.		
3. از فیلتر 630 نانومتر بعنوان فیلتر رفرانس استفاده کنید.		
تکرار تست با محلول Stop جدید	آلودگی محلول Stop	عدم تولید رنگ در چاهک ها
تکرار تست با مواد همان کیت	استفاده از مواد سایر کیت ها	
تکرار تست	انجام نشدن مرحله ای از تست	
تکرار تست با محلول رنگزا جدید	آلودگی محلول رنگزا	
تکرار تست با محلول کونزوگه جدید	آلودگی محلول کونزوگه با سدیم آزاید	

IVD-REF: PS - HPG	 پیشگامان سنجش پیشگامان در زمینه تشخیص‌های و تست‌های آنتی‌بادی	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT

1. استفاده از نوک سمپلر یکبار مصرف 2. از سمپلرهای تک کاناله یا چند کاناله کالیبر شده استفاده کنید 3. توجه کنید نوک سمپلر محکم به سمپلر متصل باشد. 4. توجه کنید در هنگام پیپتینگ حباب وارد نشود. 5. توجه کنید جداره خارجی نوک سمپلر حاوی محلول نباشد. 6. کالیبراسیون و تمیز کردن ادواری سمپلر ها	پیپتینگ نامناسب، گرفتگی لوله داخلی سمپلر بواسطه آلودگی	عدم تکرار پذیری مناسب
فاصله زمانی بین اضافه کردن استاندارد ها و نمونه نباید بیشتر از 10 دقیقه باشد. در این صورت نتایج قابل اعتماد نیست.	طولانی شدن زمان انجام تست	
پس از باز کردن کیت تاریخ را ثبت کنید و به تاریخ انقضا توجه کنید.	نگهداری نامناسب کیت و عدم رعایت زنجیره سرد	
پیپتینگ صحیح و شستشوی مناسب، پس از شستشوی کامل و تخلیه چاهک ها بلافاصله تست را ادامه دهید.	باقی ماندن کونژوگه در لبه چاهکها و عدم شستشوی مناسب و یا خشک شدن چاهک ها	
در حین انکوباسیون و بعد از Stop کردن واکنش توجه کنید حباب در چاهک ها نباشد.	وجود حباب در چاهک ها	
کف چاهکها را با دستمال نرم و مرطوب، تمیز کنید.	کثیف بودن کف چاهکها	
قبل از استفاده، ویال محلول ها را به آرامی تکان دهید.	مخلوط نشدن محلول های کیت	

IVD-REF: PS - HPG	 <p>پیشگامان سنجش پژوهشگاه در زمینه تشخیص‌های و تست‌های آنتی</p>	کیت الیزا Anti-H.pylori-IgG
Ver. No: 04		Anti-H.pylori-IgG ELISA KIT