Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG
Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA

Imunoanalytický test v jednom běhu ke kvalitativnímu stanovení protilátek IgG nebo IgA proti specifickým antigenům *Helicobacter pylori* v lidském séru nebo plazmě.

REF	LIA-007-6 A	Σ	20
REF	LIA-007-6 G	Σ	20
IVD	Diagnostickým zdravotnickým prostředkem *in vitro*	CE	

Seramun Diagnostica GmbH • Spreenhagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •
T +49 33767 791-10 • info@seramun.com • www.seramun.com

UDI Jednoznačná identifikace produktu	IVD Diagnostickým zdravotnickým prostředkem *in vitro*	Výrobce
DE Země a datum výroby	Nepoužívejte opakovaně	SN Sériové číslo
Limit vlhkosti vzduchu	Chraňte před slunečním zářením	REF Číslo položky
Řiďte se návodem k použití	Datum spotřeby	LOT Číslo šarže
Σ Dostatečné množství pro *n* testů	Biologické riziko	Teplotní rozsah
		Upozornění

Úurčeným účelem

Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG a Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA jsou IVD testy pro kvalitativní stanovení protilátek izotypu IgG nebo IgA proti specifickým antigenům *Helicobacter pylori*, a to antigen asociovaný s cytotoxinem A (CagA), vakuolizační cytotoxin (VacA), alosterický proteinový chaperon (GroEL), ureázová podjednotka A (UreA), *Helicobacter* protein C bohatý na cystein (HcpC) a γ-glutamyltranspeptidáza (gGT), v séru nebo plazmě (citrát, EDTA, heparin) lidského původu odborným uživatelem v laboratorním prostředí.

Testy lze použít v kombinaci s příslušenstvím Seraline®scan (software).

Jsou určené k použití jako pomůcka při diagnostice překonané nebo přetrvávající infekce *Helicobacter pylori* ve vzorcích od pacientů s příznaky gastritidy spojené s *H. pylori*.

Testy se nesmějí používat s jinými vzorky než sérum nebo plazma (citrát, EDTA, heparin) lidského původu, pro sledování, screening (např. rakoviny žaludku), diagnostiku, predikci, prognózu, v rámci doprovodné diagnostiky, v prostředí v blízkosti pacienta ani laickými uživateli.

Princip testu

Testy Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG a Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA jsou Line imunotesty (membránové imunotesty).

Reakce k detekci specifických protilátek probíhá ve 3 krocích:

1. krok
Inkubace vzorků určených k analýze spolu s testovacími proužky při pokojové teplotě po dobu 45 minut v ředění 1 : 101. Odstranění nenavázaných složek vzorku odsátím a trojnásobným promytím testovacích proužků zředěným promývacím a inkubačním pufrem (WIB).

2. krok
Inkubace testovacích proužků po dobu 45 minut při pokojové teplotě s konjugovanými protilátkami s markery HRP. Odstranění nenavázaných konjugovaných protilátek odsátím a trojnásobným promytím testovacích proužků zředěným pufrem WIB.

3. krok
Inkubace testovacích proužků se substrátem při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Navázané molekuly HRP konjugátu přemění substrát a vzniknou modré usazeniny.

Zastavení reakce odsátím a trojnásobným promytím testovacích proužků deionizovanou vodou. Odstranění zbytkové kapaliny vysušením testovacích proužků mezi filtračním papírem. Zabarvení vyvinutých proužků je při skladování na tmavém místě stabilní.

Vyvinuté testovací proužky nalepte na vyhodnocovací šablonu. Funkční kontrolu testovacích proužků přitom umístěte přesně na předtištěnou dělicí čáru na vyhodnocovací šabloně.

Identifikace zbarvených proužků antigenu na vysušených testovacích proužcích přiložením vyhodnocovací šablony. Určení výsledku zkoušky podle vyhodnocovacích kritérií a dokumentace zjištěných proužků ve vyhodnocovací šabloně.

Alternativně lze pomocí běžného plochého skeneru pořídit snímky a analyzovat je pomocí vyhodnocovacího softwaru Seraline®scan.

Součásti testu (dodávaný materiál)

			Na 20 určení:
1	TESTSTR	**Testovací proužky s vyhodnocovací šablonou** Specifické antigeny na nitrocelulózové membráně (viz použité antigeny)	**20** proužků s barevným kódováním: hnědá ve složené brožuře v uzavíratelném sáčku
2	WIB (5x)	**Promývací a inkubační pufr (5×)** Seramun® Wash and incubation buffer (5×) Vodný roztok pufru	**70 ml koncentrátu** na 350 ml zředěného roztoku, bezbarvý, černý uzávěr
3	CONJ HRP IgG nebo CONJ HRP IgA	**Anti-lidský IgG-HRP konjugát** anti-human IgG-HRP nebo **Anti-lidský IgA-HRP konjugát** anti-human IgA-HRP	**35 ml** připraveno k použití **IgG:** červené zbarvení, červený uzávěr **IgA:** fialové zbarvení, fialový uzávěr
4	SUBSTR	**Substrát** SeramunBlau® prec < 0,1% 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin	**35 ml** připraveno k použití, bezbarvý – světle žlutý, modrý uzávěr
5	INCUTRAY	**Inkubační miska s víčkem**	2 kusy
6	TEMPLATE	**Vyhodnocovací šablona**	1 kus
7		**Certifikát analýzy**	1 kus
8		**Návod k použití**	1 kus

Použité antigeny

Označení	Charakteristiky		Výskyt*
CagA	120–145 kDa	Antigen asociovaný s cytotoxinem A	Typ I (vysoce virulentní)
VacA	87–97 kDa	Vakuolizační cytotoxin	Typ I (vysoce virulentní)
GroEL	54–62 kDa	Chaperon GroEL	Typ II (virulentní)
UreA	26 kDa	Ureázová podjednotka α	Typ II
HcpC	28–32 kDa	Helicobacter protein C bohatý na cystein	Typ II
gGT	59–61 kDa	γ-glutamyltranspeptidáza	Typ II

* Typizace kmenů je možná pouze v případě detekce IgG

Další materiály a pomůcky nezbytné k provedení testu

Jednokanálová mikropipeta a pipetovací špičky na 15 µl a 1500 µl • Plastová pinzeta • Odměrné válce a kádinky • Zkumavky na ředění vzorků • Kolébková třepačka • Filtrační papír • Tyčinka lepidla • Sací systém se sběrnou nádobou na infekční roztoky • Deionizovaná voda • Stopky

Volitelně:
Plochý skener • Vyhodnocovací software Seraline®scan • Zařízení pro automatické zpracování

Důležité pokyny



Tato testová souprava je určena výhradně k diagnostickému použití *in-vitro* zaškolenými laboratorními speciality.

Striktně dodržujte návod k použití. Testové nástroje a otevřená činidla spotřebujte do uvedeného data spotřeby. Součásti z poškozených balení a lahviček je zakázáno používat. Kombinování otevřených testových nástrojů s činidly jiného výrobce je zakázáno.

Míchání složek testovací soupravy z různých šarží je povoleno pouze v případě promývacího a inkubačního pufru (5×) a substrátu.

Jakýkoli závažný incident související s přípravkem Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG nebo Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA musí být ohlášen výrobci a příslušnému orgánu členského státu EU, kde má uživatel a/nebo pacient bydliště.

Požadavky na pracoviště:
K provádění liniových imunoanalýz je nutné čisté pracoviště bez přítomnosti vláken. Vlákna, která ulpí na testovacích proužcích, vedou k nesprávným výsledkům. Pracoviště a součásti soupravy nesmí být vystaveny přímému slunečnímu záření.

Pokyny k provádění testu:
Skladovací teplota činidel až do použití je 2–8 °C. Všechny testové součásti před použitím zahřejte na pokojovou teplotu.

Substrát skladujte chráněný před světlem!

Dodržujte pořadí kroků pipetování a délky omývacích a inkubačních kroků.

Při pipetování se vyhněte tvorbě bublin, protože ty vedou k chybám při vyhodnocování.

Bezpečnostní pokyny
Činidla je zakázáno požívat a nesmí přijít do kontaktu se sliznicemi.
Některá činidla mohou obsahovat biocidní látky jako konzervanty.
Při manipulaci s testovými nástroji i vzorky od pacienta dodržujte preventivní bezpečnostní opatření pro práci s potenciálně infekčním materiálem a nebezpečnými chemickými látkami.
Doplňkové informace k tomuto návodu k použití jsou uvedeny v bezpečnostním listu.

Produkt obsahuje následující nebezpečné látky:

TESTSTR	–	Obsahuje materiál živočišného a mikrobiologického původu.
WIB (5x)	EUH208	Obsahuje reakční směs 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3 : 1). Může vyvolat alergickou reakci.
	EUH210	Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list. Obsahuje materiál živočišného původu.
CONJ HRP	EUH210	Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list. Obsahuje materiál živočišného a mikrobiologického původu.
SUBSTR	EUH210	Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list.

Omezení metody

Výsledek by měl být interpretován pouze v úzké souvislosti s klinickými nálezy. V jednotlivých případech může být užitečné opakovat vyšetření v intervalu několika týdnů. V rané fázi infekce je možné, že protilátky ještě nejsou přítomny nebo jsou přítomny pouze v nezjistitelném množství. Kontaminace činidel nebo vzorků bakteriemi nebo plísněmi vede k nesprávným výsledkům.

Použití kontaminovaných vzorků může zvětšit zabarvení pozadí proužků a vést k nesprávným výsledkům.

Ve výjimečných případech, např. při hypergamaglobulinémii, přítomnosti cirkulujících imunokomplexů nebo protilátek proti mléčným bílkovinám, může pozadí proužků velmi rychle zmodrat. V takových případech je třeba barevnou změnu předčasně zastavit trojím opláchnutím deionizovanou vodou.

Manipulace se vzorkem

Odběr vzorku
Do vhodné nádoby odeberte sérum nebo plazmu (citrát, EDTA, heparin) lidského původu.

Životnost a skladování vzorků
Sérum nebo plazmu lidského původu skladujte maximálně 48 hodin při teplotě 2–8 °C. K delšímu skladování je třeba vzorky uchovávat při teplotě < –15 °C. Je třeba se vyhnout opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorků.

Je třeba vědět, že protilátky nemusí být v ředěních stabilní, což může vést ke ztrátě aktivity. Z tohoto důvodu by mělo být následné vyšetření provedeno ve stejný den s vyšším ředěním.

Příprava vzorku
Sérum/plazma:
Před použitím zahřejte vzorky na pokojovou teplotu. Krátkým protřepáním je třeba zajistit homogenitu.

Vzorky séra nebo plazmy v poměru 1 : 101 (v/v) (15 µl vzorku a 1500 µl ředěného promývacího a inkubačního pufru (připraveného z pufru WIB (5×)) v inkubační misce.

Manipulace s činidly

Trvanlivost a skladování činidel
Kompletní testová souprava s uzavřenou lahvičkou na činidla a testovacím proužkem je použitelná do data spotřeby při skladování při teplotě 2–8 °C. Všechny součásti otevřené testové soupravy budou při skladování dle pokynů při teplotě 2–8 °C použitelné po dobu až 2 měsíců. Naředěný omývací a inkubační pufr je při skladování při teplotě 2–8 °C použitelný až 1 měsíc.

Příprava činidel
Před použitím testu musí být všechna činidla zahřáta na pokojovou teplotu. Nepoužité testovací proužky vraťte do sáčku a ten uzavřete.

Promývací a inkubační pufr WIB (5×) nařeďte v poměru 1 : 5 (v/v) s deionizovanou vodou.
Příklad: 70 ml pufru WIB (5×) + 280 ml deionizované vody. Zředěný promývací a inkubační pufr je třeba před použitím důkladně promíchat, aby se netvořila pěna!

Substrát musí být chráněn před přímým světlem.

Provedení testu

Test se provádí při pokojové teplotě (18–25 °C). **Zahřejte** všechna testovací činidla připravená k použití a zředěný promývací pufr **na pokojovou teplotu**.

Plastovou pinzetou umístěte testovací proužky do inkubační misky tak, aby čísla, která jsou na nich vytištěná, směřovala nahoru.

Všechny inkubační kroky se musí provádět na kolébkové třepačce s doporučenou frekvencí 20 až 30 otáček za minutu.

Dodržujte pořadí kroků pipetování a časový takt při jejich provádění.

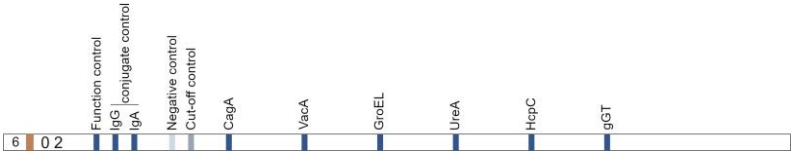
1. Na kolébkové třepačce po dobu **5 minut** inkubujte testovací proužek TESTSTR s **1,5 ml** ředěného promývacího a inkubačního pufru.
2. Přidejte **15 µl** vzorku.
3. Misku přikryjte víčkem INCUTRAY a na kolébkové třepačce inkubujte po dobu **45 minut**.
4. Nasajte roztoky a testovací proužky promývejte **3× 5 minut** vždy **1,5 ml** ředěného promývacího a inkubačního pufru.
5. Přidejte **1,5 ml** konjugátu CONJ HRP IgG nebo CONJ HRP IgA.
6. Misku přikryjte víčkem a na kolébkové třepačce inkubujte po dobu **45 minut**.
7. Nasajte roztoky a testovací proužky promývejte **3× 5 minut** vždy **1,5 ml** ředěného promývacího a inkubačního pufru.
8. Na kolébkové třepačce inkubujte testovací proužek s **1,5 ml** SUBSTR po dobu **10 minut**.
9. Odsajte substrát a testovací proužek **3×** propláchněte **1,5 ml** deionizované vody.

Vyhodnocení výsledků

Kritéria platnosti testu
Na každém testovacím proužku Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG a Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA je vyznačeno 5 kontrolních pásů:

1. Funkční kontrola musí být viditelná.
2. Musí být viditelné kontroly konjugátu IgG nebo IgA (pozitivní pásy pouze s použitým konjugátem anti-human IgG-HRP nebo anti-human IgA-HRP).
   Upozornění: U druhé kontroly konjugátu může být v závislosti na vzorku přítomen vybledlý, nespecifický pás.
3. Intenzita u negativní kontroly musí být menší než intenzita u kontroly cut-off.
4. Kontrola cut-off musí být viditelná (intenzita pásů se používá k vyhodnocení diagnostických pásů jako pozitivních nebo negativních).

Test lze vyhodnotit, pokud je viditelná funkční kontrola, očekávaná konjugovaná kontrola a kontrola cut-off.



Nejsou-li splněna uvedená kritéria platnosti, je nutné postup testu zopakovat. Zpracování musí být provedeno dle návodu k použití (správná příprava činidel, správné inkubační doby a teploty, důkladné promytí). Pokud nejsou kritéria splněna ani po opakovaném testování, kontaktujte výrobce.

Vyhodnocení testu provádějte pouze na suchých proužcích. Testovací proužky chraňte před přímým slunečním světlem. K přiřazení pásem použijte přiloženou vyhodnocovací šablonu. Identifikovaná pásma zdokumentujte ve vyhodnocovací šabloně.

Případně lze snímky pořídit běžným plochým skenerem a automaticky je analyzovat pomocí vyhodnocovacího softwaru Seraline®scan.

Interpretace výsledků

Jako pozitivní se vyhodnotí pouze pásy, které vykazují intenzitu ≥ kontrola cut-off.

Vyhodnocení	Kritéria hodnocení (platí pro IgG a IgA)
Pozitivní	1 proužek CagA, GroEL nebo VacA **nebo** ≥ 2 proužky
Hraniční	1 proužek gGT, HcpC nebo UreA
Negativní	Barevná intenzita pásů < kontrola cut-off

Funkční charakteristiky

Interferující látky
Všechny testované látky nemají významný vliv na výsledky testu, pokud jsou v séru přítomny ve vysoce zvýšených koncentracích: bilirubin C a F (simulace ikterických vzorků) 20 mg/dl každý, hemoglobin (simulace hemolytických vzorků) 500 mg/dl, lipidy (triglyceridy) (simulace lipemických vzorků) 1000 mg/dl a revmatoidní faktor 500 IU/ml.

Komparativní senzitivita a specificita
Kvůli stanovení komparativní senzitivity a specificity bylo vyšetřeno n = 174 předem charakterizovaných vzorků. Komparativní senzitivita a specificita byly stanoveny ve srovnání s referenčním testem v Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG. Hraniční vzorky byly vyhodnoceny kladně.

n = 174		Referenční test		
		pozitivní	hraniční	negativní
Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG	pozitivní	96	0	4
	hraniční	0	1	0
	negativní	3	0	70
Celkový počet vzorků		99	1	74

Soulad 96,0 %
Komparativní senzitivita: 97,0 %
Komparativní specificita: 94,6 %

Kvůli stanovení komparativní senzitivity a specificity bylo vyšetřeno n = 167 předem charakterizovaných vzorků. Komparativní senzitivita a specificita byly stanoveny ve srovnání s referenčním testem v Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA. Hraniční vzorky byly vyhodnoceny kladně.

n = 167		Referenční test		
		pozitivní	hraniční	negativní
Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA	pozitivní	50	1	13
	hraniční	1	6	0
	negativní	4	0	92
Celkový počet vzorků		55	7	105

Soulad 89,8 %
Komparativní senzitivita: 93,5 %
Komparativní specificita: 87,6 %

Přenos (prevalence infekce)
Byl vyšetřen soubor n = 400 sér dárců krve, aby se stanovila míra přenosu v testu Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG.

n = 400	Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG	
	Počet [n]	Počet [%]
pozitivní	131	32,75
hraniční	8	2,00
+negativní	261	65,25

Prevalence infekce: 34,8 %.

Byl vyšetřen soubor n = 400 sér dárců krve, aby se stanovila míra přenosu v testu Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA.

n = 400	Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA	
	Počet [n]	Počet [%]
pozitivní	67	16,75
hraniční	11	2,75
negativní	322	80,50

Prevalence infekce: 19,5 %.

Aplikace

Vyhodnocení podporované softwarem
Vyhodnocení se provádí vizuálně pomocí přiložené šablony. Alternativně lze pomocí běžného plochého skeneru pořídit snímky a analyzovat je pomocí vyhodnocovacího softwaru Seraline®scan.

Historie změn

Verze	Část	Změny
2022-08_v01_cs	Celý dokument	První překlad IFU do češtiny GAL_LIA-007-6-_GA_2022-08_DE_EN: Aktualizace určení účelu, Změna části, Vložení bezpečnostních pokynů

Odkazy

1. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ: Helicobacter pylori. Clinical Microbiology Reviews 1997; 10: 720-741.
2. Fischbach W et al.: Aktualisierte S2k-Leitlinie „*Helicobacter pylori* und gastroduodenale Ulkuskrankheit" der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS). AWMF-Registernummer: 021 – 001, 2022.
3. Gao L, Weck MN, Michel A et al.: Association between chronic atrophic gastritis and serum antibodies to 15 Helicobacter pylori proteins measured by multiplex serology. Cancer Res 2009; 69:2973-80.
4. Gao L, Michel A, Weck MN et al.: Helicobacter pylori Infection and Gastric Cancer Risk: Evaluation of 15 H. pylori proteins determined by novel multiplex serology. Cancer Res 2009; 69:2973-80.
5. Hahn H, Falke D, Ullmann U (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 3. Auflage 1999.
6. Hocker M. and Hohenberger P.: Helicobacter pylori virulence factors-one part of a big picture. Lancet 2003; 362:1231-3.
7. Huang JO, Zheng GF, Sumanac K et al.: Meta-analysis of the relationship between cagA seropositivity and gastric cancer. Gastroenterology 2003; 125:1636-44.
8. Malfertheiner P, Megraud F, O`Morain CO et al.: Management of Helicobacter pylori infection – the Maastricht V/ Florence Consensus Report. Gut 2017; 66:6-30.
9. Urita Y, Hike K, Torii N et al., Comparison of serum IgA and IgG antibodies for detecting Helicobacter pylori infection. 2004; 43(7): 548-552.