

کاربرد:

آزمون تشخیص سریع آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری یک روش ایمونوکروماتوگرافی است که برای تشخیص کیفی آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری در نمونه مدفوع انسان طراحی شده است. نتایج آزمایش برای کمک به تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری، نظارت بر اثربخشی درمان در بزرگسالان و کودکان در نظر گرفته شده است.

مقدمه:

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری گرم منفی و مارپیچی است که در مخاط معده یافت می‌شود. این باکتری عامل اصلی انواع بیماری‌های گوارشی از جمله زخم دوازدهه، معده و گاستریت فعال در نظر گرفته شده است (۱،۷) و با ایجاد سرطان معده مرتبط می‌باشد (۲،۳). عفونت با هلیکوباکتر پیلوری حدود ۲۰ درصد جمعیت کشورهای توسعه یافته و بیش از ۹۰ درصد کشورهای در حال توسعه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴،۶). در حال حاضر هر دو روش تهاجمی و غیرتهاجمی برای تشخیص عفونت در دسترس است (۱۰). روش‌های تهاجمی از جمله بیوپسی دوازدهه و به دنبال آن بررسی بافتی، کشت و تست اوره‌آز (Urease)، برای بیمار پرهزینه و وقت‌گیر است (۸،۹). از سوی دیگر، روش‌های غیرتهاجمی مانند تست تنفسی اوره (UBT) با اوره نشان‌دار، که پیچیده و پرهزینه هستند، یا روش‌های ELISA کلاسیک، در دسترس هستند (۱۱). آزمون UBT از صحت بالایی برخوردار است، اما به تجهیزات آزمایشگاهی گران قیمت و استفاده از معرف رادیواکتیو نیاز دارد.

روشی که معمولاً برای تشخیص آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری مورد استفاده قرار می‌گیرد، تشخیص سرولوژی آنتی‌بادی IgG علیه آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری است که قادر به تمیز دادن بین عفونت فعال و عفونت قبلی نمی‌باشد و ممکن است مدت‌ها پس از ریشه کن کردن ارگانیسم در سرم بیمار وجود داشته باشد (۱۲). آزمایش سریع آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری مدفوع یک روش سریع ایمنی است که با استفاده از یک واکنش آنتی‌بادی / آنتی‌ژن، آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری فعال را در نمونه‌های مدفوع تشخیص می‌دهد. حداقل میزان قابل اندازه‌گیری در این کیت 30 ng/ml است. این تست توسط کاربر متخصص به سادگی قابل استفاده بوده و می‌تواند بدون استفاده از ابزار خاصی در مدت زمان ۱۵ دقیقه نتیجه دقیق را ارائه بدهد.

اصول تست:

تست تشخیص سریع آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری یک روش تشخیص کیفی بر اساس ایمونوکروماتوگرافی جریان جانبی به روش ساندویچ است. هر نوار آزمون شامل آنتی‌بادی مونوکلونال اختصاصی علیه هلیکوباکتر پیلوری و همچنین Rabbit IgG به شکل کونژوگه به نانوذرات طلا بر روی پد کونژوگه می‌باشد.

همچنین آنتی‌بادی مونوکلونال اختصاصی دیگری علیه این آنتی‌ژن بر روی خط تست به منظور شناسایی آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری، Goat anti rabbit بر روی خط کنترل به منظور کنترل داخلی کیت کویت شده‌اند.

زمانی که نمونه مدفوع استخراج شده در جایگاه نمونه ریخته می‌شود، به سمت غشای نیتروسلولز حرکت می‌کند. وجود آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری در مدفوع سبب تشکیل خط تست می‌شود که نشان‌دهنده نتیجه مثبت آزمایش است. همچنین یک کنترل داخلی نیز برای بررسی صحت عملکرد تست وجود دارد که عدم تشکیل این خط نشان دهنده عدم صحت تست بوده و مستلزم به تکرار تست می‌باشد.

محتویات کیت:

- ۲۵ عدد تست کابستی
- ۲۵ عدد ویال استخراج
- ویال حاوی بافر استخراج (آماده مصرف)
- بروشور (دستورالعمل استفاده)
- ویال کنترل مثبت
- ویال کنترل منفی

مواد مورد نیاز که در کیت ارائه نشده است:

- * ساعت یا تایمر
- * ظرف جمع‌آوری نمونه
- * آپلیکاتور (Applicator)
- * سمپلر

هشدارها:

- از کاست‌های تست نباید پس از تاریخ انقضا استفاده نمود.
- هنگام کار با نمونه‌ها از دستکش استفاده شود.
- کیت باید دور از رطوبت نگهداشته شود.
- تمام معرف‌ها را قبل از استفاده در دمای اتاق (۲۲ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد) قرار دهید.
- رطوبت و دمای نامناسب می‌تواند بر نتایج تأثیر منفی بگذارد.
- از جابجایی و یا ترکیب با معرف‌های سایر کیت‌ها خودداری کنید.
- کاست تست باید تا قبل از استفاده در فویل آلومینیومی باقی بماند.

- پس از شروع تست و قرار دادن نمونه بر روی چاهک نمونه کاست، نتایج آزمایش باید پس از گذشت ۱۵ دقیقه خوانده شود. خوانش تست پس از ۲۰ دقیقه ممکن است نتایج نامعتبری به همراه داشته باشد.
- کاست تست و ویال‌های آزمایش فقط برای یک بار قابل استفاده هستند.
- با تمام نمونه‌ها باید طوری برخورد شوند که بالقوه توانایی انتقال بیماری را دارند. اقدامات احتیاطی مشخص در مورد خطرات میکروبیولوژیکی را در طول آزمایش رعایت کنید و روش‌های استاندارد را برای دفع مناسب نمونه‌ها دنبال کنید.
- مواد زائد باید مطابق آیین‌نامه‌ها و دستورالعمل‌های معتبر آزمایشگاه‌ها و مقررات کشور مربوطه دفع شوند.

شرایط نگهداری و پایداری:

- بافر استخراج در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ماه پایدار می‌باشد.
- کاست‌های آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری در دمای ۲-۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ماه می‌باشند.
- در صورت نگهداری کیت در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد، بایستی قبل از استفاده از کیت با قرار دادن در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه آن را به دمای اتاق برسانید.
- از فریز کردن کیت و نیز نگهداری در دمای بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد خودداری کنید.

کنترل کیفی:

دو روش کنترل کیفیت برای تست سریع آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری در نظر گرفته شده است: کنترل داخلی و کنترل‌های مثبت / منفی خارجی.

- کنترل داخلی نشان دهنده صحت آزمایش می‌باشد. عدم تشکیل خط C (کنترل) بیان‌گر نامعتبر بودن تست بوده و تست باید با کاست دیگر مجدداً تکرار شود.
- نمونه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی به عنوان کنترل‌های خارجی برای نشان دادن عملکرد درست معرف‌ها و روش سنجش در نظر گرفته شده‌اند. کنترل مثبت و کنترل منفی باید با استفاده از دستورالعمل‌های کیت آزمایش شوند.

آماده سازی نمونه:

هر ویال بافر استخراج بایستی محتوی ۲ میلی‌لیتر از بافر استخراج باشد.

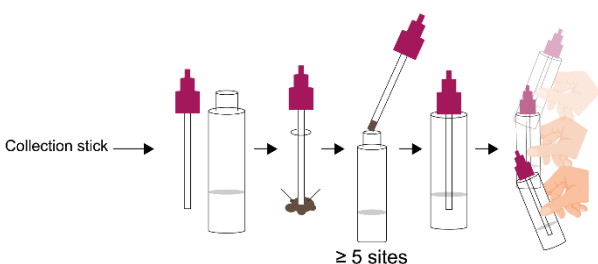
جمع‌آوری و نگهداری نمونه:

- برای تهیه نمونه از نمونه مدفوع جامد، روش A را دنبال کنید.
- برای تهیه نمونه از نمونه مدفوع آبکی، روش B را دنبال کنید.
- آزمایش باید حداکثر طی مدت ۶ ساعت پس از زمان نمونه‌گیری انجام شود. در صورت عدم انجام تست طی ۶ ساعت پس از زمان نمونه‌گیری، می‌توان نمونه مدفوع را ۳ روز در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد، و برای زمان طولانی‌تر در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد.
- نکته:** نمونه استخراج شده ۵ روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد پایدار است.
- توجه: از ذوب و انجماد مکرر نمونه‌ها در چند مرحله خودداری کنید.

روش A. نمونه‌های مدفوع جامد:

- مرحله ۱:** نمونه مدفوع را در یک ظرف خشک و تمیز جمع‌آوری کنید (حداقل ۱-۲ گرم).
- مرحله ۲:** درپوش ویال حاوی بافر را باز کنید و آپلیکاتور جمع‌آوری نمونه مدفوع را به طور تصادفی در ۵ مکان مختلف فرو کنید به گونه‌ای که تنها آپلیکاتور به نمونه مدفوع آغشته شود (حدود ۴۰ میلی‌گرم). نمونه جمع‌آوری شده را به ویال استخراج که حاوی ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج است اضافه کنید.
- احتیاط:** نباید نمونه را به صورت قاشقی برداشت. اطمینان حاصل کنید که نمونه مدفوع فقط در شیارهای آپلیکاتور جمع شده باشد. (نمونه‌گیری نادرست و اضافی ممکن است منجر به نتیجه نامعتبر آزمایش شود).

- مرحله ۳:** درپوش آپلیکاتوردار آغشته به مدفوع را در ویال بافر قرار داده، آن را محکم بسته و در حدود ۱ دقیقه تکان دهید تا سوسپانسیون یکنواخت هموزن و کاملاً بدون قطعات مدفوع تشکیل گردد. ۲ دقیقه پس از مخلوط کردن نمونه در بافر استخراج، نمونه برای آزمایش، حمل و نقل یا ذخیره‌سازی آماده است.



- مانند تمام تست‌های تشخیصی، تشخیص قطعی بالینی نباید بر اساس نتایج یک آزمایش واحد باشد، بلکه باید پس از ارزیابی تمام یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی توسط پزشک تشخیص نهایی انجام شود.
- با توجه به محدودیت روش تشخیص، نتیجه آزمایش منفی نمی‌تواند احتمال عفونت را رد کند.
- تست تشخیص سریع آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری محدود به تشخیص کیفی آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری در نمونه مدفوع انسانی است. شدت خط آزمایش با تیتراژ آنتی‌ژن موجود در نمونه هم‌بستگی خطی ندارد.

ارزیابی شاخص‌های اجرایی کیت:

(۱) اختصاصیت و حساسیت بالینی:

در مجموع ۱۴۸ نمونه مدفوع از بیماران علامت‌دار و سالم جمع‌آوری شد. نمونه‌ها همزمان با استفاده از تست سریع آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری با کیت تجاری معتبر مورد آزمایش قرار گرفتند. جزئیات تست‌های ارزیابی در جدول زیر نشان داده شده است.

کیت تجاری معتبر	H.pylori-Stool-Ag Rapid Test		
	مثبت	منفی	جمع کل
مثبت	۵۳	۰	۵۳
منفی	۲	۹۳	۹۵
جمع کل	۵۵	۹۳	۱۴۸

حساسیت: ۱۰۰٪ اختصاصیت: ۹۷/۸٪ همبستگی کل: ۹۸/۶٪

بررسی واکنش متقاطع:

این تست با ارگانیسم‌های زیر در میزان $10^7 \times 1$ ارگانیسم در میلی‌لیتر واکنش متقاطع ندارد.

Candida albicans, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis

References:

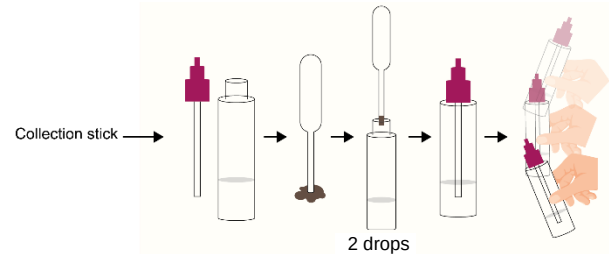
- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet. 1984;1:1311-5.
- Mattar R, Marques SB, Monteiro MS, dos Santos AF, Yriya K, Carrilho FJ. Helicobacter pylori cag pathogenicity island genes: clinical relevance for peptic ulcer disease development in Brazil. J Med Microbiol. 2007;56:9-14.
- Mattar R, Monteiro MS, Marques SB, Zilberstein B, Hashimoto CL, Carrilho FL. Association of LEC and tnpA Helicobacter pylori genes with gastric cancer in a Brazilian population. Infect Agents Cancer. 2010;5:1.
- B.V. Bonifácio, M.A. dos Santos Ramos, P.B. da Silva, T.M. Bauab. Antimicrobial activity of natural products against Helicobacter pylori: a review. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 13 (2014), pp. 54.
- S.K. Patel, C.B. Pratap, A.K. Jain, A.K. Gulati, G. Nath. Diagnosis of Helicobacter pylori: what should be the gold standard? World J Gastroenterol, 20 (2014), pp. 12847-12859.
- K.H. Rhee, J.S. Park, M.J. Cho. Helicobacter pylori: bacterial strategy for incipient stage and persistent colonization in human gastric niches. Yonsei Med J, 55 (2014), pp. 1453-1466.
- H. Osawa. Ghrelin and Helicobacter pylori infection. World J Gastroenterol, 14 (2008), pp. 6327-6333.
- M.R. Tamadon, M. Saberi Far, A. Soleimani, et al. Evaluation of noninvasive tests for diagnosis of Helicobacter pylori infection in hemodialysis patients. J Nephropathol, 2 (2013), pp. 249-253.
- B. Pourakbari, M. Ghazi, S. Mahmoudi, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection by invasive and noninvasive tests. Braz J Microbiol, 44 (2013), pp. 795-798.
- El-Zimaity HM, Al-Assi MT, Genta RM, Graham DY. Confirmation of successful therapy of Helicobacter pylori infection: number and site of biopsies or a rapid urease test. Am J Gastroenterol. 1995, 90, 1962-1964.
- T.A. Di Rienzo, G. D'Angelo, V. Ojetto, et al. 13C-Urea breath test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 17 (2013), pp. 51-58.
- Chey WD. American College of Gastroenterology guideline on the management of Helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol. 2007, 102, 1808-1825.

	Use by	تاریخ انقضاء
	Batch code	شماره سری ساخت
	Date of manufacture	تاریخ تولید
	Catalogue number	شماره کاتالوگ
	Caution, consult accompanying documents	توجه به مدارک همراه
	Manufacturer	تولیدکننده
	Contains sufficient for >n tests	محتویات برای n تست کافیست
	Temperature limitation	محدوده دمای نگهداری

آدرس: تهران، شهرک گلستان، بلوار گل‌ها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن، پلاک ۱
کد پستی: ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳ تلفن: ۰۲۱-۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه)
www.pishtazteb.com info@pishtazteb.com SMS: 300071402

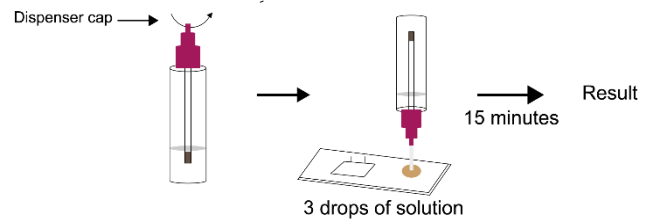
روش B. نمونه‌های مدفوع آبیکی:

- مرحله ۱:** نمونه مدفوع را در یک ظرف خشک و تمیز جمع‌آوری کنید.
- مرحله ۲:** با باز کردن پیچ مخروطی، ویال استخراج جمع‌آوری مدفوع را باز کنید.
- مرحله ۳:** با آپلیکاتور ۲ قطره (۵۰۰ میکرولیتر) از نمونه را در ویال محتوی ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج قرار دهید.
- مرحله ۴:** درپوش آپلیکاتوردار را در ویال بافر قرار داده، آن را محکم ببندید و در حدود ۱ دقیقه تکان دهید تا مدفوع در بافر سوسپانسیون یک‌نواخت هموزن و کاملاً بدون قطعات مدفوع شود. ۲ دقیقه پس از مخلوط کردن نمونه در بافر استخراج، نمونه برای آزمایش، حمل و نقل یا ذخیره‌سازی آماده است.



مراحل انجام آزمایش:

- قبل از آزمایش کاست تست، نمونه، بافر و کنترل‌ها را به دمای اتاق برسانید.
- کاست را از فویل آلومینیومی خارج کرده، و روی یک سطح تمیز قرار دهید.
- برای اطمینان از یکدست و هموزن شدن نمونه، آن را ورتکس کنید.
- ویال استخراج را ۲ دقیقه به صورت عمودی نگه دارید. قطعه بالای ویال را بشکند و ۳ قطره (۸۰ میکرولیتر) محلول در چاهک نمونه (علامت S بر روی کاست) بریزید.



احتیاط: از عدم ایجاد حباب در چاهک نمونه اطمینان حاصل کنید.

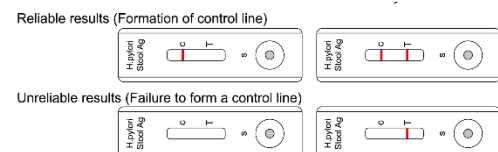
- تاثير را تنظیم کنید.
- پس از گذشت مدت زمان ۱۵ دقیقه نتایج را تفسیر کنید. نتایج پس از ۲۰ دقیقه قابل ارزیابی نیستند.
- * برای کنترل خارجی کیت ۳ قطره (۸۰ میکرولیتر) از کنترل مثبت و منفی را جداگانه در چاهک نمونه (علامت S بر روی کاست) بریزید و نتایج را بررسی کنید.
- * به منظور جلوگیری از تفسیر اشتباه، پس از خوانش تست در زمان تعیین شده، کاست را دور بیندازید.

تفسیر نتایج:

نتیجه منفی: یک خط رنگی در محل خط کنترل (علامت C روی کاست) ظاهر می‌شود اما هیچ‌گونه خط رنگی در محل خط تست مشاهده نمی‌شود.

نتیجه مثبت: اگر علاوه بر خط کنترل، خط تست (علامت T روی کاست) نیز تشکیل شود، به این معنی است که آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری در نمونه مدفوع وجود دارد و نشان دهنده مثبت بودن آزمایش است.

نتیجه نامعتبر: عدم تشکیل خط کنترل (علامت C روی کاست) بدون در نظر گرفتن هرگونه ایجاد رنگ در خط تست، به معنای نامعتبر بودن آزمایش و غیر قابل تفسیر بودن نتیجه است. در این صورت، تست نمونه باید با کاست دیگری تکرار شود.



محدودیت‌ها:

- به دنبال درمان‌های آنتی‌بیوتیکی خاص، غلظت آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری ممکن است به غلظت‌های کمتر از حداقل سطح تشخیص آزمایش کاهش یابد. بنابراین، در طول درمان آنتی‌بیوتیکی باید با احتیاط تشخیص داده شود.
- تست سریع آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری (مدفوع) برای استفاده افراد متخصص در آزمایشگاه تشخیصی است و فقط باید برای تشخیص کیفی هلیکوباکتر پیلوری استفاده شود.