

## Helicobacter pylori

# Imunoenzymatické soupravy k diagnostice infekce Helicobacter pylori

**ELISA, IMUNOBLOT** a **MICROBLOT-ARRAY** soupravy jsou určeny ke stanovení specifických protilátek třídy IgA, IgG a IgM v lidském séru nebo plazmě

Diagnostické médium pro rychlé stanovení ureázové aktivity v biotickém vzorku

## Úvod

*Helicobacter pylori* řadíme do rodu *Helicobacter*. Morfologicky se jedná o gramnegativní, aerobní mikroaerofilní tyčky. Jako patogen se uplatňuje při infekcích žaludeční sliznice, a to zejména v oblasti antra a duodena. Je původcem chronické gastritidy typu B, na jejímž podkladě se může později rozvinout vředová choroba. U tohoto onemocnění je *H. pylori* prokazován takřka ve 100% případů. Infekce *H. pylori* je často provázena dyspeptickými potížemi. Aktivní chronická gastritida může přejít ve formu atrofickou s rizikem vzniku žaludečního karcinomu.

Faktory patogenity *H. pylori* vycházejí jednak ze samotné morfologické struktury bakteriální buňky (spirální tvar, bičíky) a dále ze schopnosti produkce extracelulárních enzymů a cytotoxinů (např. ureáza, kataláza, proteázy, VacA, CagA).

Vyskytuje se řada patogenních a fakultativně patogenních kmenů. Jejich virulence se liší jednak zastoupením výše zmíněných faktorů, tak i jejich množstvím. Na patogenezi onemocnění se podílí i odpověď hostitele. Rezistentní kmeny se izolují hlavně od neúspěšně léčených osob.

## Diagnostika onemocnění

Metody k detekci lze rozdělit na invazivní a neinvazivní. K nejužívanějším invazivním metodám patří histologické a cytologické vyšetření z bioptického vzorku žaludeční sliznice a rychlý ureázový test. K neinvazivním metodám patří dechový test a sérologické metody (stanovení protilátek třídy IgA, IgG, IgM). Neinvazivní testy jsou vhodné pro sledování efektivity terapie, vyhledávání infekce a reinfekce. Eradikace mikroba je následována poklesem hladiny protilátek. Vysoce specifické a citlivé metody molekulární biologie (PCR) se provádějí pouze na specializovaných pracovištích.

### Diagnostický význam specifických protilátek

**IgM:** Jsou zvýšeny zejména v akutní fázi onemocnění, nevyskytují se však u všech nemocných.

**IgA:** Protilátky jsou přítomny nejen v akutní fázi onemocnění, ale i při chronické infekci žaludeční sliznice spolu s protilátkami třídy IgG. Jejich zvýšení je popsáno také u pacientů s rizikem karcinomu žaludku.

**IgG:** Přítomnost potvrzuje kontakt s *H. pylori*, není však indikátorem aktivity infekce. Sérokonverze nastává cca 2 měsíce po primoinfekci.

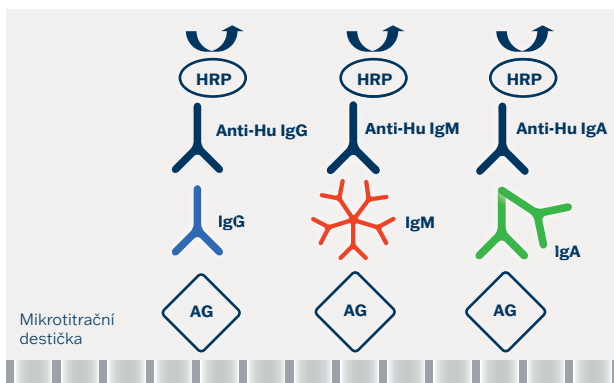
## Stanovení ureázové aktivity v bioptickém vzorku žaludeční sliznice

Vlivem ureázové aktivity většiny kmenů *H. pylori* dochází v diagnostickém médiu k hydrolýze močoviny za vzniku amoniaku vedoucí ke zvýšení pH, které je indikováno změnou zbarvení pH indikátoru z barvy žluté na červenou.

# ELISA

## Princip testu

Soupravy jsou založeny na sendvičovém typu ELISA metody.



## Pracovní postup

Krok	Kroky testu
	<b>1.</b> Ředění vzorků – séra/plazmy 1:101 (10 µl + 1 ml)
	<b>2.</b> Dávkování kalibrátorů a ředěných vzorků 100 µl – blank = prázdná jamka
	<b>3.</b> Inkubace 30 min. při 37 °C
	<b>4.</b> Odsátí a promytí jamek 5 krát
	<b>5.</b> Dávkování Konjugátu 100 µl – blank = prázdná jamka
	<b>6.</b> Inkubace 30 min. při 37 °C
	<b>7.</b> Odsátí a promytí jamek 5 krát
	<b>8.</b> Dávkování substrátu 100 µl (TMB-Complete) – včetně blanku
	<b>9.</b> Inkubace 30 min. při 37 °C
	<b>10.</b> Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl – včetně blanku
	<b>11.</b> Fotometrické měření při 450 nm

## Antigeny

Klinicky signifikantní kmen *H. pylori* s vysokým obsahem proteinů CagA (120 kDa) a VacA (87 kDa)

## Použití souprav

- Vyhledávací test k průkazu specifických IgA, IgG a IgM protilátek v lidském séru nebo plazmě
- Semikvantitativní výsledky lze použít ke kontrole úspěšnosti terapie
- Diagnostika fáze onemocnění

## Uživatelský komfort

- Komponenty v pracovním ředění
- Barevně odlišené reagentie
- Zaměnitelnost komponent
- Barevně značené stripky s odlamovacími jamkami
- CUT-OFF kontrola a kalibrátory
- Semikvantitativní hodnocení výsledků (Index positivity-IP) nebo kvantitativní vyhodnocení výsledků (U/ml)

## Výhody souprav

- Vysoká diagnostická účinnost
- Dobrá reprodukovatelnost
- Vysoká dynamika testů
- Identický pracovní postup
- Celková doba vyšetření 1,5 hodiny
- Možnost nezávislé verifikace (CKS)
- Komplexní zákaznický servis

## Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
EIA Helicobacter MONO IgA	98,7 %	98,8 %
EIA Helicobacter MONO IgG	98,9 %	98,8 %
EIA Helicobacter MONO IgM	97,5 %	97,4 %

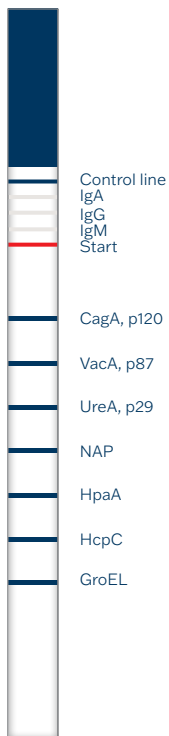
# IMUNOBLLOT

## Princip testu

Rekombinantní antigeny *H. pylori* jsou přeneseny na nitrocelulózovou membránu.



## Antigeny



**CagA, p120** – Cytotoxin associated gene A, vysoce specifický, faktor virulence

**VacA, p87** – Vacuolating cytotoxin A, vysoce specifický, faktor virulence

**UreA, p29** – lehká podjednotka ureázy, specifický, faktor virulence

**NAP** – Neutrophil-activating protein, faktor virulence, potenciační biomarker gastritidy

**HpaA** – *Helicobacter pylori* adhesin A, povrchový lipoprotein, potenciační marker gastritidy a žaludečních vředů

**HcpC** – *Helicobacter* cystein-rich protein, faktor virulence

**GroEL** – Chaperonin, protein teplotního šoku (Hsp 60), faktor virulence, je považován za marker chronické infekce

## Pracovní postup

Krok	Kroky testu
	1. Dávkování Univerzálního roztoku 2 ml
	2. Smáčení stripů 10 min. při laboratorní teplotě – třepačka
	3. Odsátí
	4. Ředění vzorků – séra/plazmy 1:51 (30 µl + 1,5 ml)
	5. Dávkování kontrol a ředěných vzorků 1,5 ml
	6. Inkubace 30 min. při lab. teplotě – třepačka
	7. Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 krát 1,5 ml po 5 min. – třepačka
	8. Dávkování Konjugátu 1,5 ml
	9. Inkubace 30 min. při lab. teplotě – třepačka
	10. Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 krát 1,5 ml po 5 min. – třepačka
	11. Dávkování substrátu (BCIP/NBT) 1,5 ml
	12. Inkubace 15 min. při laboratorní teplotě – třepačka
	13. Odsátí a promytí v destilované vodě 2 krát 2 ml po 5 min. – třepačka
	14. Nalepení a vyhodnocení stripů

## Použití souprav

- Konfirmační metoda k ELISA testu
- Podrobné stanovení přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům *H. pylori*

## Uživatelský komfort

- Komponenty v pracovním řadě
- Barevně odlišené reagenty
- Zaměnitelnost komponent
- Negativní a Pozitivní kontrola
- Kontrolní linie na stripu
- Možnost softwarového vyhodnocení

## Výhody souprav

- Jednoduchá interpretace a reprodukovatelnost výsledků
- Vysoká diagnostická účinnost
- Vhodné pro automatické systémy
- Komplexní zákaznický servis

## Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE Helicobacter IgA	95,2 %	93,9 %
BLOT-LINE Helicobacter IgG	96,9 %	96,3 %

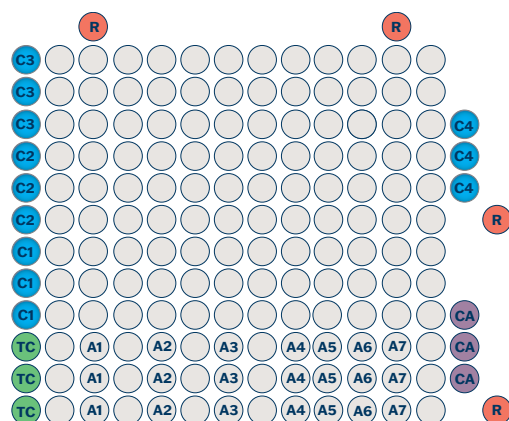
## Klinická data

Korelace výsledků BLOT-LINE Helicobacter s ELISA a IMUNOBLOT testy

<b>BLOT-LINE Helicobacter</b>	<b>shoda v %</b>			
	<b>IgG</b>	<b>počet vzorků</b>	<b>IgA</b>	<b>počet vzorků</b>
EIA (TestLine)	92,2	90	84,4	90
EIA (Chorus)	94,1	34	84,9	33
BLOT (competition 1)	97,8	15	87,5	15
BLOT (competition 2)	100,0	15	80,0	15

# MICROBLOT-ARRAY

## Rozložení antigenů a kontrolních spotů



### Popis antigenů

- A1** – CagA
- A2** – VacA
- A3** – UreA
- A4** – NAP
- A5** – HpaA
- A6** – HcpC
- A7** – GroEL

### Popis kontrolních spotů

- R** – Reference
- TC** – Test control
- CA** – Conjugate control IgA
- CG** – Conjugate control IgG
- CM** – Conjugate control IgM
- C1** – Calibration 1
- C2** – Calibration 2
- C3** – Calibration 3
- C4** – Calibration 4

## Pracovní postup

Krok	Kroky testu
	<b>1.</b> Dávkování Univerzálního roztoku 150 µl
	<b>2.</b> Smáčení 10 min při laboratorní teplotě
	<b>3.</b> Odsátí
	<b>4.</b> Ředění vzorků – séra/plazmy 1:51 (10 µl + 500 µl)
	<b>5.</b> Dávkování kontrol a ředěných vzorků 100 µl
	<b>6.</b> Inkubace 30 min při laboratorní teplotě
	<b>7.</b> Rychlé promytí Univerzálním roztokem*
	<b>8.</b> Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 krát 150 µl po 5 min
	<b>9.</b> Dávkování Konjugátu 100 µl
	<b>10.</b> Inkubace 30 min při laboratorní teplotě
	<b>11.</b> Rychlé promytí Univerzálním <roztokem*
	<b>12.</b> Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 krát 150 µl po 5 min
	<b>13.</b> Dávkování Substrátového roztoku (BCIP/NBT) 100 µl
	<b>14.</b> Inkubace 15 min při laboratorní teplotě
	<b>15.</b> Rychlé promytí destilovanou vodou*
	<b>16.</b> Odsátí a promytí v destilované vodě 2 krát 200 µl po 5 min
	<b>17.</b> Vysušení a vyhodnocení

\* v případě použití promývačky naplňte jamky po okraj a po naplnění poslední jamky ihned odsajte

## Uživatelský komfort

- Nízká spotřeba vzorku
- Antigeny spotovány v tripletu - minimalizace chyby provedení
- Možnost automatického zpracování a vyhodnocení výsledků pomocí intenzity spotů (AU), pomocí IP či kvantitativní (U/ml)
- Paralelní vyšetření více markerů současně
- Vysoká citlivost a specifita

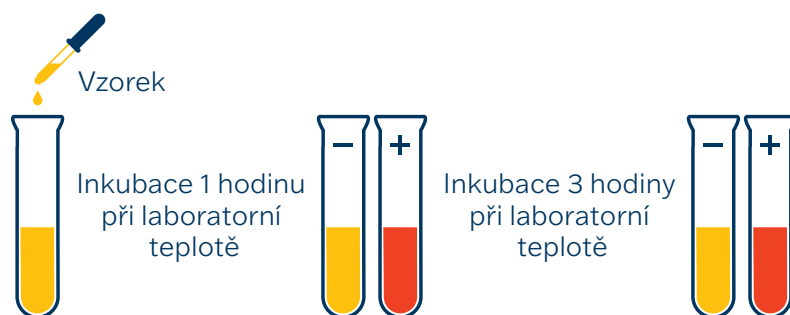


## Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
Microblot-Array Helicobacter IgA	96,5 %	99,1 %
Microblot-Array Helicobacter IgG	97,4 %	99,0 %

## STANOVENÍ UREÁZOVÉ AKTIVITY

### Pracovní postup a vyhodnocení





FOLLOW US

BIOVENDOR.GROUP

## Objednací údaje

### ELISA

<b>Kód</b>	<b>Název soupravy</b>	<b>Počet testů</b>
HMA096	EIA Helicobacter MONO IgA	96
HMG096	EIA Helicobacter MONO IgG	96
HMM096	EIA Helicobacter MONO IgM	96
SK-HMA096	SmartEIA Helicobacter MONO IgA	96
SK-HMG096	SmartEIA Helicobacter MONO IgG	96
SK-HMM096	SmartEIA Helicobacter MONO IgM	96
xxxTLN	CKS negativní (dle seznamu na <a href="http://www.testlinecd.cz">www.testlinecd.cz</a> )	3,5 ml
xxxTLP	CKS pozitivní (dle seznamu na <a href="http://www.testlinecd.cz">www.testlinecd.cz</a> )	3,5 ml

Soupravy SmartEIA jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji Agility.

### IMUNOBLLOT

<b>Kód</b>	<b>Název soupravy</b>	<b>Počet testů</b>
HpAL20	BLOT-LINE Helicobacter IgA	20
HpGL20	BLOT-LINE Helicobacter IgG	20
Swlm03	Immunoblot Software	1 ks

### MICROBLLOT-ARRAY

<b>Kód</b>	<b>Název soupravy</b>	<b>Počet testů</b>
HpAMA48	Microblot-Array Helicobacter IgA	48
HpGMA48	Microblot-Array Helicobacter IgG	48

### STANOVENÍ UREÁZOVÉ AKTIVITY

<b>Kód</b>	<b>Název soupravy</b>	<b>Počet testů</b>
Ut0050	UREASAtest 50	50
Ut100	UREASAtest bulk	100

**TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.**

Křižíkova 68, 612 00 Brno, Česká republika  
+420 549 121 205 (209, 238)  
[trade@testlinecd.com](mailto:trade@testlinecd.com)  
[www.testlinecd.cz](http://www.testlinecd.cz)



TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.  
je držitelem certifikátů  
ISO 9001 a ISO 13485