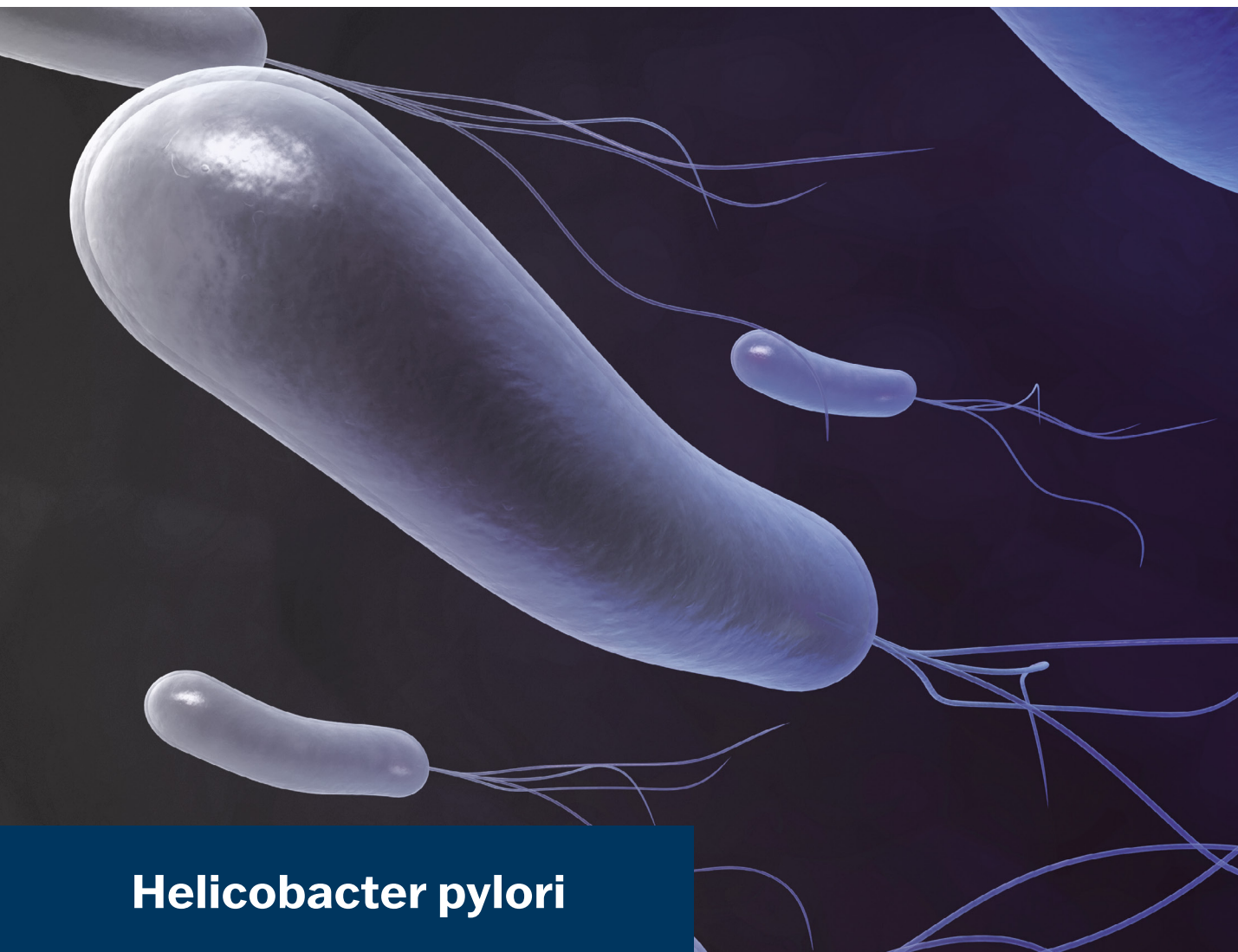




Helicobacter pylori

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



Diagnostické soupravy jsou určeny
pro profesionální použití v laboratoři.



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 biotického 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.

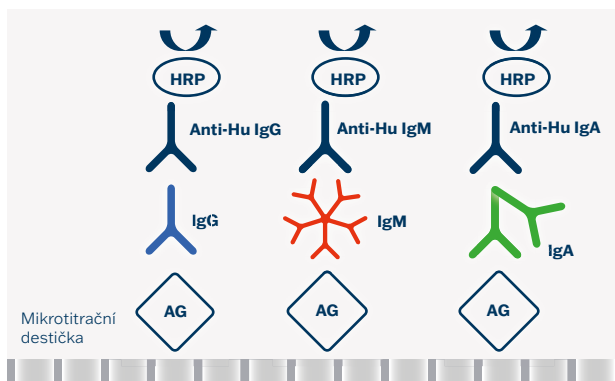
Stanovení ureázové aktivity v biotickém vzorku žaludeční sliznice

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

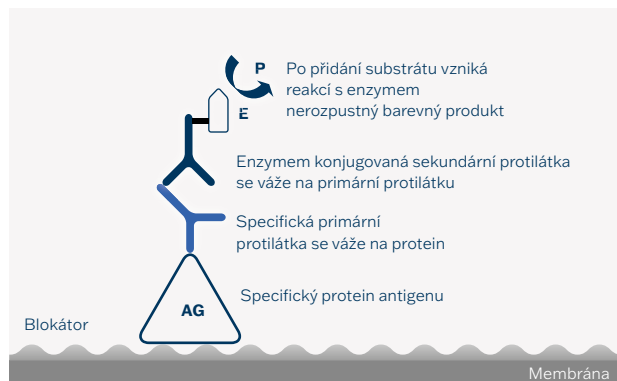
Charakteristiky souprav

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 %

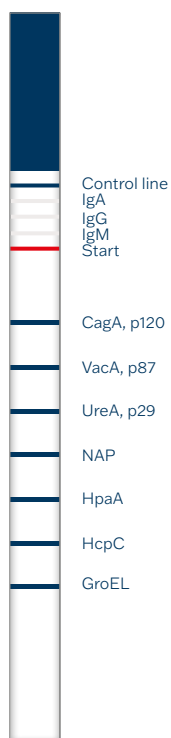
IMUNOBLLOT

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, potencionální bio-marker gastritidy

HpaA – Helicobacter pylori adhesin A, povrchový lipoprotein, potencionální 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 ředění
- Barevně odlišené reagentie
- 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 %

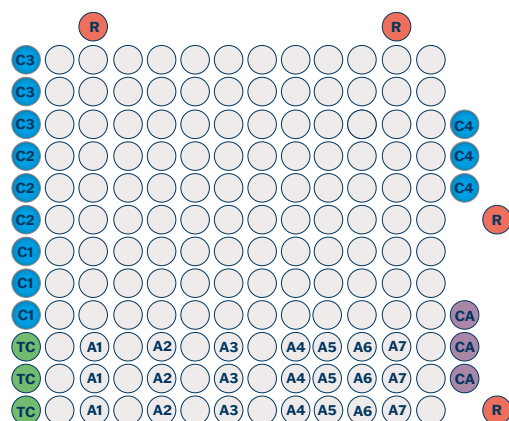
Klinická data

Korelace výsledků BLOT-LINE Helicobacter s ELISA a IMUNOBLOT testy

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

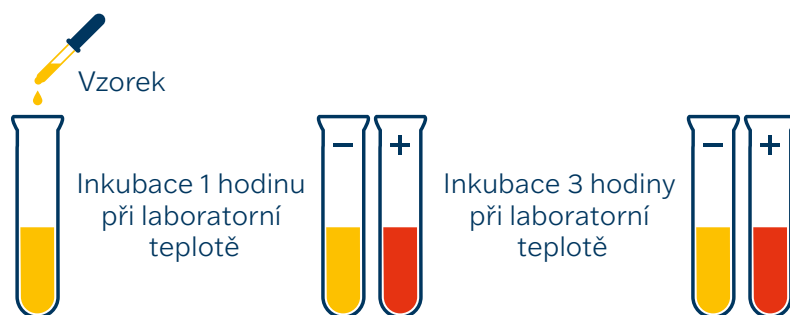


Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
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

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
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

Soupravy SmartEIA jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji Agility.

IMUNOBLLOT

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
HpAL20	BLOT-LINE Helicobacter IgA	20
HpGL20	BLOT-LINE Helicobacter IgG	20
SwIm03	Immunoblot Software	1 ks

MICROBLLOT-ARRAY

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

STANOVENÍ UREÁZOVÉ AKTIVITY

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
Ut0050	UREASAtest 50	50
Utb100	UREASAtest bulk	100

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

Křižíkova 188/68, 612 00 Brno, Česká republika
+420 549 121 205 (209, 238)
trade@testlinecd.com
www.testlinecd.cz



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