



Vitrotest®

Vitrotest Helicobacter-IgG

Імуноферментна тест-система для якісного та напівкількісного визначення антитіл класу IgG до білку *CagA Helicobacter pylori*

Інструкція з використання

1. Призначення
2. Клінічне значення
3. Принцип аналізу
4. Матеріали та обладнання
5. Застереження та техніка безпеки
6. Зберігання та стабільність
7. Підготовка зразків
8. Підготовка реагентів
9. Процедура аналізу
10. Облік результатів та їх інтерпретація
11. Діагностичні характеристики тесту
12. Обмеження аналізу

Література

Умовні позначення

IVD

Для in vitro діагностики

REF

TK046

«Vitrotest Helicobacter-IgG»

Імуноферментна тест-система для якісного та напівкількісного визначення антитіл класу IgG до білку CagA *Helicobacter pylori*

1. Призначення

Імуноферментна тест-система «Vitrotest Helicobacter-IgG» призначена для якісного та напівкількісного визначення антитіл класу IgG специфічних до білку CagA *Helicobacter pylori* у сироватці чи плазмі крові людини.

Імуноферментна тест-система «Vitrotest Helicobacter-IgG» може бути використана для кількісного визначення специфічних антитіл класу IgG специфічних до білку CagA *Helicobacter pylori* разом із комплектом калібраторів «Vitrotest Helicobacter-calibrators».

Тест-набір може бути застосований як для проведення ІФА з використанням автоматичних піпеток та стандартного обладнання, так і для постановки на автоматичному імуноферментному аналізаторі відкритого типу.

2. Клінічне значення

Helicobacter pylori – широко розповсюджений мікроорганізм, яким інфіковано половину населення земної кулі. Його поширеність надзвичайно висока в країнах, що розвиваються та досить низька в розвинених країнах світу. За даними Всесвітньої організації гастроентерологів у країнах Східної Європи та Азії інфікованість дорослого населення складає 70-80%.

Дослідження останніх десятиріч довели провідну роль бактерії *Helicobacter pylori* у патогенезі уражень шлунку та дванадцятипалої кишки. *H. pylori* виявляють майже у 100% дорослих пацієнтів з виразковою хворобою дванадцятипалої кишки, приблизно у 80% хворих на виразкову хворобу шлунку, у 92% хворих на рак шлунку та у 92% хворих з активним хронічним гастритом. Дослідженнями доведено, що елімінація хелікобактера призводить до зникнення гастриту та значно зменшує частоту повторення виразки дванадцятипалої кишки.

Хелікобактеріоз – хронічна інфекція з тривалим, часто безсимптомним перебігом. У разі виникнення - симптоми не відрізняються від клінічних проявів гастродуоденіту (зазвичай – постійні болі в області епігастрію). *H. pylori* дуже часто присутній у пацієнтів, які не мають клінічних проявів захворювання.

Штами *H. pylori* надзвичайно гетерогенні і розділяються на дві великі групи - штами, які експресують обидва антигени VacA та CagA (тип I) та штами, які не експресують ці антигени (тип II). Штами першої групи домінують у пацієнтів з виразковою хворобою та раком шлунку. Білок CagA проникає в клітини епітелію слизової оболонки, спричиняє порушення мітозу та індукує хромосомну нестабільність. При інфікуванні людини штамми *H. pylori*, які експресують білок CagA, в організмі людини продукуються антитіла специфічні до цього антигену. Антитіла до білку CagA виявляються у 80-100% пацієнтів з виразковою хворобою дванадцятипалої кишки та у 94% хворих на рак шлунку. Тож виявлення антитіл, специфічних до білку CagA є інформативним маркером у діагностиці виразкової хвороби дванадцятипалої кишки та раку шлунку.

Штами *H. pylori* II типу, які не експресують антигени CagA та VacA, не асоціюються з тяжкими ураженнями шлунку та дванадцятипалої кишки, зокрема, виразковою хворобою та раком.

Інфікування пацієнта *H. pylori* може бути виявлено як інвазійними так і неінвазійними діагностичними методами. Інвазійні методи включають дослідження біоптатів слизової оболонки шлунково-кишкового тракту гістологічними, культуральними методами або швидким уреазним тестом, однак, неоднорідне поширення *H. pylori* в тканинах часто призводить до хибнонегативних результатів. До неінвазійних методів діагностики належать серологічні дослідження сироватки пацієнта на наявність специфічних до *H. pylori* антитіл та дихальний уреазний тест із застосуванням радіактивно міченої сечовини. Імуноферментний аналіз на виявлення специфічних антитіл класів IgG/IgA/IgM являється мінімально інвазійним, швидким, високочутливим та інформативним методом діагностики *H. pylori*-інфекції.

3. Принцип аналізу

Виявлення антитіл класу IgG до білку CagA *Helicobacter pylori* в тест-системі «Vitrotest Helicobacter-IgG» базується на принципі «непрямого» твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА).

Твердою фазою в тест-системі є стрипований ІФА-планшет з попередньо засорбованим в лунках рекомбінантним білком CagA *H. pylori*. Під час інкубації досліджуваних зразків в лунках ІФА-планшета відбувається зв'язування специфічних до білку CagA *H. pylori* антитіл з антигеном на твердій фазі. Після відмивання незв'язаних компонентів, в лунки додається кон'югат специфічних до антитіл класу IgG людини моноклональних антитіл з пероксидазою хрому, що зв'язується з імунними комплексами на твердій фазі. Незв'язані компоненти відмиваються. Візуалізація утворених імунних комплексів відбувається при внесенні в лунки розчину хромогену 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ). В результаті реакції розчин в лунках, де утворились імунні комплекси, забарвлюється в синій колір. Реакція зупиняється додаванням стоп-реагенту, при цьому синій колір забарвлених лунок змінюється на жовтий. Результат аналізу визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620 нм.

4. Матеріали та обладнання

4.1 Склад набору

ІФА-планшет – 12 стрипів по 8 лунок (з можливістю відокремлення лунок), з іммобілізованим рекомбінантним білком СаgА *H.pylori*.

Позитивний контроль – 1 мікропробірка, що містить 0,3 мл розчину імуноглобулінів людини, специфічних до *H.pylori* (рожевий).

Негативний контроль – 1 мікропробірка, що містить 0,5 мл негативної сироватки крові людини (жовтий).

Розчин для розведення сироваток РРС – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину з екстрактом молока, детергентом та консервантами (коричнево-зелений).

Розчин кон'югату РК – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину моноклональних антитіл до IgG людини, кон'югованих з пероксидазою хрому, із стабілізаторами та консервантом (зелений). Готовий до використання.

Розчин для промивання Tw20 (20x) – 1 флакон, що містить 50 мл 20-ти кратного концентрату фосфатного буферу з Твіном-20 (безбарвний).

Розчин ТМБ – 1 флакон, що містить 12 мл розчину ТМБ і перекису водню з стабілізатором та консервантом (безбарвний).

Стоп-реагент – 1 флакон, що містить 12 мл розчину 0,5 М сірчаної кислоти (безбарвний).

Клейка плівка – 2 аркуші плівки для заклеювання планшетів під час інкубації.

Бланк внесення проб – 1 аркуш для запису схеми внесення зразків.

Інструкція – 1 екземпляр інструкції з використання

4.2 Додаткові реактиви, матеріали та обладнання

Для постановки аналізу необхідні такі додаткові реактиви, матеріали та обладнання:

- деіонізована або дистильована вода;
- фільтрувальний папір;
- мірні циліндри на 10, 200 та 1000 мл;
- одноразові рукавички;
- розчин перекису водню 6%;
- одноразовий або чистий посуд для приготування реактивів (флакони та ванночки);
- таймер;
- одно- та багатоканальні автоматичні піпетки змінного об'єму на 20, 200 та 1000 мкл та наконечники до них;
- термостат на 37°C;
- контейнер для твердих відходів;
- контейнер для рідких відходів;
- ¹автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- ²одно- або багатоканальний спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 нм.

^{1,2} *Будь ласка, проконсультуйтеся з нами щодо адаптації Вашого обладнання.*

5. Застереження та техніка безпеки

5.1. Застереження:

– не використовуйте компоненти тест-системи після закінчення строку придатності;
– не використовуйте під час аналізу та не змішуйте компоненти різних серій та компоненти із тест-систем різних нозологій;

– не використовуйте реактиви інших виробників у поєднанні з наборами Vitrotest™;

Примітка: Розчин для промивання Tw20 (20x), Розчин ТМБ та Стоп-реагент допускається використовувати інших серій, які відрізняються від тих, що вкладені до тест-набору. Ці реактиви використовуються в інших тест-системах виробництва ТОВ „ІВК „Рамінтек“. Будь ласка, проконсультуйтеся з нами для отримання детальної інформації.

- після використання реагенту закривайте кожен флакон своєю кришкою;
- чітко дотримуйтеся режиму промивання планшетів, вказаного в пунктах інструкції;
- під час промивання контролюйте наповнення та повну аспірацію розчину з лунок;
- кожного разу використовуйте новий наконечник піпетки для внесення зразків або реагентів;
- уникайте потрапляння прямих сонячних променів на реактиви тест-системи;
- розчин ТМБ має бути безбарвним або світло блакитним перед використанням, якщо розчин забарвлений в синій або жовтий колір, його не можна використовувати. Уникайте контакту розчину ТМБ з металами або іонами металів. Для роботи використовуйте лише чистий, ретельно виполосканий дистильованою водою посуд;
- для внесення в лунки планшета ТМБ-субстрату використовуйте лише нові наконечники, що не були у використанні;
- ні в якому разі не використовуйте один й той же посуд для розчину кон'югату та хромогену.

5.2. Техніка безпеки:

- всі реактиви набору призначені лише для in vitro діагностики;
- постановку аналізу проводити лише у гумових рукавичках;
- не піпетувати розчини ротом;

– контролі тест-системи «Vitrotest Helicobacter-IgG» протестовано та знайдено негативними на HBsAg та антитіла до ВІЛ 1/2, ВГС, *Treponema pallidum*, однак працювати із контролями та досліджуваними сироватками слід як із потенційно небезпечним інфекційним матеріалом;

– рідкі відходи слід інактивувати, наприклад, розчином перекису водню у кінцевій концентрації 6% упродовж 3 годин при кімнатній температурі, або гіпохлоритом натрію у кінцевій концентрації 5% протягом 30 хвилин, або іншими дезінфікуючими агентами;

– тверді відходи слід інактивувати шляхом автоклавування при 121°C упродовж 1 години;

– не автоклауйте розчини, що містять азид натрію або гіпохлорит натрію;

– слід уникати розбризкування розчинів ТМБ та стоп-реагенту, а також їх контакту із слизовими оболонками та шкірою;

– у разі розбризкування розчинів, що не містять кислоти, наприклад, сироваток, обробити поверхню 6%-м перекисом водню, а потім витерти насухо фільтрувальним папером.

6. Зберігання та стабільність

Реагенти тест-системи стабільні протягом строку придатності вказаного на етикетці, якщо їх зберігати при 2-8°C.

Транспортувати набір при температурі 2-8°C. Допускається одноразове транспортування при температурі не вище 20°C протягом двох діб.

7. Підготовка зразків

Зразки сироватки чи плазми крові можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 3 діб після забору. Допускається більш тривале зберігання зразків замороженими при температурі від -20 до -70°C. Заморожені зразки перед використанням розморожують та витримують при кімнатній температурі упродовж 30 хвилин. Після розморожування зразки слід перемішати задля досягнення однорідності. Уникайте повторного заморожування-відтаювання досліджуваних зразків. У разі помутніння сироватки (чи плазми) звільняються від нерозчинних включень центрифугуванням при 3000 об./хв. протягом 10-15 хвилин. Не використовуйте зразки сироваток із вираженою ліпідемією, гемолізом, а також бактерійним проростом.

8. Підготовка реагентів

Дуже важливо витримати всі реагенти тест-системи «Vitrotest Helicobacter-IgG» при кімнатній температурі 18-25°C протягом 30 хвилин перед використанням.

8.1. Підготовка ІФА-планшета

Для попередження конденсації води в лунках відкривайте ІФА-планшет лише після витримання 30 хвилин при кімнатній температурі. Розкрийте вакуумну упаковку, відокремте необхідну кількість лунок, а решту відразу ж ретельно упакуйте та **зберігайте щільно закритим на замок (zip-lock)** при температурі 2-8°C. Зберігання в такий спосіб упакованого планшета забезпечує його стабільність протягом 3 місяців.

8.2. Розчин для промивання

Флакон містить 50 мл 20x концентрату буферу з детергентом. Для приготування розчину для промивання розведіть концентрат 1:20 (тобто, 1+19) дистильованою або деіонізованою водою, потім перемішайте. Наприклад: на 4 мл концентрату – 76 мл дистильованої води, що достатньо для одного стрипу. У випадку наявності кристалів в концентраті розчину для промивання прогрійте флакон при 37°C протягом 15-20 хвилин.

Розведений розчин можна зберігати при температурі 2-8°C не більше 7 діб.

9. Процедура аналізу

9.1. Підготувати необхідну кількість лунок для аналізу (кількість досліджуваних зразків та чотири лунки для контролів), вставити їх в рамку ІФА-планшета. Лунки з контролями обов'язково включати до кожної постановки аналізу.

9.2. Заповнити бланк внесення проб.

9.3. Приготувати розчин для промивання згідно пункту 8.2.

9.4. В лунки стрипів внести по 90 мкл розчину для розведення сироваток.

9.5. Внести в лунки по 10 мкл контролів та досліджуваних зразків: в лунку А1 – позитивний контроль, в лунки В1, С1 та D1 – негативний контроль, в решту лунок – по 10 мкл досліджуваних сироваток. Під час внесення сироваток та контролів обережно піпетуйте суміш – відбувається зміна кольору розчину для розведення сироваток з коричнево-зеленого на синій.

9.6. Заклеїти стрипи клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.

9.7. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів з використанням автоматичного промивача або 8-канальної піпетки наступним чином:

– видалити вміст лунок в контейнер для рідких відходів;

– наповнити лунки стрипів не менш ніж по 300 мкл розчином для промивання, залишити не менш як на 15 секунд;

– аспірувати розчин з лунок, залишковий об'єм розчину після аспірації на всіх етапах промивання має складати не більше 5 мкл;

- повторити процедуру промивання ще чотири рази;
- після останньої аспірації позбавитись зайвої вологи, постукуючи планшетом по фільтрувальному паперу.

9.8. В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату. Стрипи накрити новою клейкою плівкою та інкубувати протягом 30 хвилин при 37°C.

9.9. По закінченні інкубації обережно зняти клейку плівку та промити лунки п'ять разів, як описано в пункті 9.7.

9.10. «Розчин ТМБ» є готовим для використання розчином ТМБ-субстрату з перекисом водню. Розчин ТМБ має бути безбарвним, слід запобігати потраплянню сонячного проміння на розчин. Вносити розчин ТМБ слід чистим новим наконечником: обережно відібрати розчин ТМБ з флакону і, не торкаючись дна та стінок лунок планшета, внести по 100 мкл розчину ТМБ в лунки.

9.11. Інкубувати ІФА-планшет протягом 30 хвилин в темному місці при кімнатній температурі 18-25°C.

9.12. Для зупинення ферментативної реакції внести в лунки стрипів по 100 мкл стоп-реагенту, дотримуючись тієї ж послідовності, що і при внесенні розчину ТМБ.

9.13. Виміряти на рідері оптичну густину в кожній лунці стрипів при довжині хвилі 450/620 нм протягом 5 хвилин після зупинення реакції. Зверніть увагу на чистоту зовнішньої поверхні дна лунок.

Облік результатів аналізу можна проводити в одновхвильовому режимі при довжині хвилі 450 нм, в цьому випадку слід залишити лунку для встановлення бланку (в таку лунку вносити лише розчин ТМБ та стоп-реагент).

10. Облік результатів та їх інтерпретація

10.1. Достовірність результатів аналізу:

Розрахувати середнє значення негативного контролю

$$ОГ K_{-середнє} = (ОГ K_{-1} + ОГ K_{-2} + ОГ K_{-3})/3.$$

Результати аналізу вважати достовірними, якщо:

– оптична густина (ОГ) позитивного контролю не нижче 1,2 оптичних одиниць (ОО),

– ОГ в лунках з негативним контролем (ОГ K-) не вище 0,15 ОО.

– оптична густина кожного значення негативного контролю відрізняється не більше ніж в два рази від середнього значення негативного контролю, тобто

$$ОГ K_{-середнє} \times 0,5 \leq ОГ K_{-n} \leq ОГ K_{-середнє} \times 2,0.$$

Якщо одне із значень негативного контролю виходить за межі цього інтервалу, його відкидають і розраховують середнє значення K- за рештою значень негативного контролю.

10.2. Облік результатів аналізу.

Рівень граничного значення (Cut off) розрахувати додаючи до середнього значення негативного контролю величину 0,300, тобто

$$Граничне значення = ОГ K_{-середнє} + 0,300.$$

Для кожного досліджуваного зразка розрахувати індекс позитивності (ІП)

$$ІП = \frac{ОГ досліджуваного зразка}{Граничне значення}.$$

10.3. Інтерпретація результатів

Досліджувані зразки із значенням ІП **вище 1,1** вважати **позитивними** (ІП > 1,1).

Зразки із значенням ІП **нижче 0,9** вважати **негативними** (ІП < 0,9).

Зразки із значенням ІП **в межах 0,9-1,1** вважати **невизначеними** (0,9 ≤ ІП ≤ 1,1). Такі сироватки рекомендується дослідити повторно в двох лунках тест-системи. Якщо результати знову будуть в межах невизначених слід провести тестування сироватки, отриманої через 2-4 тижні. В разі одержання невизначених результатів вважати, що сироватка не містить специфічних антитіл класу IgG до білку *CagA H.pylori*.

При інтерпретації результатів досліджень дитячих сироваток рівень граничного значення має бути зниженим на 10%.

Результат дослідження дитячих сироваток		Результат дослідження сироваток дорослих	
ІП зразка > 0,9	позитивний	ІП зразка > 1,1	позитивний
0,8 ≤ ІП зразка ≤ 0,9	невизначений	0,9 ≤ ІП зразка ≤ 1,1	невизначений
ІП зразка < 0,8	негативний	ІП зразка < 0,9	негативний

Використання індексу позитивності дозволяє проводити напівкількісний порівняльний аналіз рівня специфічних антитіл в парних сироватках крові. ІП в межах 1,1 – 7,0 пропорційний вмісту специфічних антитіл класу IgG. Це дозволяє проводити дослідження парних сироваток отриманих від пацієнтів з інтервалом у 2-4 тижні.

Якщо ІП зразка становить вище 7,0 для коректної оцінки щодо вмісту специфічних антитіл рекомендується провести повторний аналіз зразка попередньо розведеного розчином для розведення сироваток у 10 разів, при визначенні індексу позитивності в такому разі слід перемножити отримане значення ІП на 10.

Такий спосіб інтерпретації результатів аналізу дозволяє порівнювати рівень специфічних антитіл до *Helicobacter pylori* в динаміці.

Інтерпретація результатів визначення антитіл класів IgG, IgA та IgM специфічних до білку CagA *H.pylori*

Результат визначення антитіл до білку CagA <i>H.pylori</i>			Інтерпретація результату
IgG*	IgA**	IgM	
Негативний	Негативний	Негативний	Зразок не містить специфічних антитіл до білку CagA <i>H.pylori</i> , або їх концентрація нижче межі чутливості аналізу
Негативний	Позитивний	Позитивний	Ймовірна рання стадія інфекції, рекомендується провести повторні дослідження через три тижні
Негативний	Позитивний	Негативний	
Негативний	Негативний	Позитивний	
Позитивний	Негативний	Негативний	Зразок містить специфічні антитіла до білку CagA <i>H.pylori</i> , рекомендується провести комплекс додаткових обстежень: ендоскопія, уреазний тест, бактеріологія.
Позитивний	Позитивний	Позитивний або Негативний	

* - Дослідженнями доведено, що зниження титрів специфічних антитіл класу IgG є достовірним показником ефективності терапії та ерадикації *H.pylori* (7).

** - Специфічні антитіла класу IgA при інфікуванні *H.pylori* значно частіше виявляються у хворих на рак та виразку шлунку ніж у пацієнтів з хронічними гастритами (6).

Для кількісного визначення антитіл класу IgG специфічних до білку CagA *Helicobacter pylori* рекомендується досліджувати сироватки на наявність специфічних антитіл в тест-системі «Vitrotest Helicobacter-IgG» разом з комплектом калібраторів «Vitrotest Helicobacter-calibrators» згідно з інструкцією до набору калібраторів.

11. Діагностичні характеристики тесту

11.1. Специфічність та чутливість

149 зразків сироваток крові пацієнтів були досліджені в тест-системі «Vitrotest Helicobacter-IgG» та в іншій імуноферментній тест-системі для визначення антитіл до білку CagA *H.pylori*. В обох тестах позитивними були виявлені 75 сироваток, а негативними – 67. Співпадаючі результати були отримані для 95% досліджених зразків.

12. Обмеження аналізу

Позитивний результат в тест-системі «Vitrotest Helicobacter-IgG» є свідченням наявності у пацієнта антитіл класу IgG, специфічних до білку CagA *Helicobacter pylori*. Ці антитіла продукуються організмом при інфікуванні людини штамми *H.pylori*, які експресують білок CagA.

Негативний результат у тест-системі «Vitrotest Helicobacter-IgG» свідчить про відсутність у сироватці крові обстежуваної людини антитіл класу IgG, специфічних до білку CagA *H.pylori*. Ці антитіла не визначаються також у пацієнтів, які інфіковані штамми *H.pylori*, що не експресують білок CagA.

Слід зауважити, що у випадку ранньої інфекції *H.pylori* результат ІФА може бути негативний через відсутність антитіл. При наявності клінічних проявів захворювання рекомендується провести повторне тестування не менш ніж через два тижня.

Для всебічної серологічної діагностики *H.pylori*-інфекції рекомендується, також, проводити дослідження на наявність специфічних до білку CagA антитіл класів IgA та IgM з використанням тест-систем «Vitrotest Helicobacter-IgA» та «Vitrotest Helicobacter-IgM».

Остаточний діагноз не може бути встановлений лише на підставі результатів серологічного тесту. При встановленні діагнозу слід враховувати результати комплексу лабораторних та інструментальних досліджень, а також клінічні прояви захворювання.












Для контролю ефективності проведеної терапії та ерадикації збудника рекомендується провести дослідження на наявність специфічних антитіл сироваток, отриманих через 6-12 місяців після проведеної терапії.

Література

1. Кожанова М.Г. *Helicobacter pylori*: роль в развитии гастродуоденальных заболеваний и методы диагностики // Клиническая лабораторная диагностика. - 1999. - № 11. - С. 52-55.
2. Кучерявый Ю.А. Инфекция *Helicobacter pylori* и заболевания поджелудочной железы // Клиническая фармакология и терапия. – 2004. - Т. 13, № 1. - С. 40-43.
3. Bermejo F., Boixeda D., Gisbert J.P. et al. Concordance between noninvasive tests in detecting *Helicobacter pylori* and potential use of serology for monitoring eradication in gastric ulcer // J Clin Gastroenterol. – 2000. – V.31 N.2 – P.137-41.
4. Holtmann G., Talley N.J., Mitchell H., Hazell S. Antibody response to specific *H. pylori* antigens in functional dyspepsia, duodenal ulcer disease, and health // Am. J. Gastroenterol. – 1998. – Vol.93 N.8 – P.1222-1227.
5. Klaamas K., Held M., Wadström T., Lipping A., Kurtenkov O. IgG immune response to *Helicobacter pylori* antigens in patients with gastric cancer as defined by ELISA and immunoblotting. // Int. J. Cancer. – 1996 – Vol.67, N.1 – P.1-5.
6. Kosunen T.U., Seppala K., Saran S. Association of *Helicobacter pylori* IgA antibodies with the risk of peptic ulcer disease and gastric cancer // World J Gastroenterol. – 2005. – V.11, N.43 – P.6871-6874.
7. Kosunen T.U., Seppälä K., Sarna S., Sipponen P. // Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. - Lancet. – 1992. – V.339 N.8798 – P.893-895.
8. Me'graud F., Lehours P. *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. // Clin. Microbiol. Rev. – 2007. - Vol. 20, No. 2. - p. 280–322.
9. Umeda M., Murata-Kamiya N., Saito Y. et al. *Helicobacter pylori* CagA Causes Mitotic Impairment and Induces Chromosomal Instability // J. of Bio. Chem. - 2009 - No. 284 – P.22166-22172
10. WGO Practice Guideline - *Helicobacter Pylori* in developing countries. – 2005. – p.54

Умовні позначення

Інтерпретація умовних символів:

	«Медичний виріб для діагностики <i>in vitro</i> »
	«Код партії»
	«Номер за каталогом»
	«Дата виготовлення»
	«Використати до»
	«Температурне обмеження»
	«Містить достатньо для (n-) випробувань»
	«Берегти від прямих сонячних променів»
	«Увага, дивись інструкцію з використання»
	«Виробник»
	«Ознайомлення з інструкціями для застосування»

З питаннями та побажаннями щодо роботи набору звертайтеся до виробника:



Товариство з обмеженою відповідальністю «Іноваційно-виробнича компанія «Рамінтек»
03039 Україна, м. Київ, пр-т 40-річчя Жовтня, 7, оф. 227 (юридична адреса)
07300 м. Вишгород, Київська обл., вул. Шолуденка, 19 (фактична адреса)
тел. +380 44 222-76-72

Схема проведення аналізу в тест-системі «Vitrotest Helicobacter-IgG»

Витримати реагенти 30 хв. при 18-25°C

Приготувати розчин для промивання планшета, розвести 20х концентрат розчину для промивання *TW20* очищеною водою 1:20 (тобто, 1+19). Наприклад, 4 мл розчину + 76 мл води

Заповнити бланк внесення проб для аналізу

В лунки планшета внести по 90 мкл розчину для розведення сироваток

Внести по 10 мкл контролів та досліджуваних зразків в лунки:

A1 – позитивний контроль,

B1, C1, D1 – негативний контроль,

E1 та решта лунок – досліджувані зразки

Під час внесення сироваток відбувається зміна кольору розчину в лунках з коричнево-зеленого на синій

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при 37°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину кон'югату (зелений)

Заклеїти стрипи плівкою, інкубувати 30 хв. при 37°C

Промити лунки 5 разів

В лунки стрипів внести по 100 мкл розчину ТМБ-субстрату

Інкубувати планшет 30 хв. в темряві при кімнатній температурі (18-25°C)

В лунки стрипів внести по 100 мкл стоп-реагенту

Виміряти оптичну густина в лунках на спектрофотометрі при 450/620 нм

Розрахувати граничне значення (ГЗ) в тест-системі «Vitrotest Helicobacter-IgG» за формулою:

$$ГЗ = ОГ \text{ К-середнє} + 0,300$$

Розрахувати індекс позитивності (ІП) для досліджуваних зразків: $ІП = \frac{ОГ \text{ досліджуваного зразка}}{\text{граничне значення}}$

Провести облік результатів аналізу згідно таблиці:

Результат дослідження дитячих сироваток		Результат дослідження сироваток дорослих	
ІП зразка > 0,9	позитивний	ІП зразка > 1,1	позитивний
$0,8 \leq ІП_{\text{зразка}} \leq 0,9$	невизначений	$0,9 \leq ІП_{\text{зразка}} \leq 1,1$	невизначений
ІП зразка < 0,8	негативний	ІП зразка < 0,9	негативний