

## **VIROTECH Helicobacter pylori IgG LINE Immunoblot**

**(H. pylori IgG LINE-32)**

**Uûsakymo Nr.: WE243G32**

**(H. pylori IgG LINE-96)**

**Uûsakymo Nr.: WE243G96**

## **VIROTECH Helicobacter pylori IgA LINE Immunoblot**

**(H. pylori IgA LINE-32)**

**Uûsakymo Nr.: WE243A32**

**(H. pylori IgA LINE-96)**

**Uûsakymo Nr.: WE243A96**

**TIK IN VITRO DIAGNOSTIKAI**

**VIROTECH Diagnostics GmbH**

**Löwenplatz 5**

**D- 65428 Rüsselsheim**

**Tel.: +49-6142-6909-0**

**Faksas: +49-6142-966613**

**<http://www.virotechdiagnostics.com>**



Freigabedatum: 31.10.2018

REV 3 / VIROTECH H. pylori IgG & IgA LINE Immunoblot LT

# Turinys

|                                                                                     |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>1. Naudojimo paskirtis.....</b>                                                  | <b>3</b> |
| <b>2. Testo veikimo principas .....</b>                                             | <b>3</b> |
| <b>3. Pakuotės turinys.....</b>                                                     | <b>3</b> |
| 3.1 Rinkinys 32 nustatymams .....                                                   | 3        |
| 3.2 Rinkinys 96 nustatymams .....                                                   | 3        |
| <b>4. Testavimo rinkinio ir reagentų laikymas ir tinkamumo laikas .....</b>         | <b>3</b> |
| <b>5. Atsargumo priemonės ir įspėjamosios nuorodos.....</b>                         | <b>4</b> |
| <b>6. Papildomai reikalingos medžiagos (neįskaitant tiekimo komplektacijų).....</b> | <b>4</b> |
| <b>7. Tiriamoji medžiaga .....</b>                                                  | <b>4</b> |
| <b>8. Testo atlikimas.....</b>                                                      | <b>5</b> |
| 8.1 MSginių paruošimas .....                                                        | 5        |
| 8.2 Reagentų paruošimas .....                                                       | 5        |
| 8.3 Imunobloto testo atlikimas.....                                                 | 5        |
| 8.4 Imunobloto procesorių naudojimas .....                                          | 6        |
| <b>9. Testo vertinimas .....</b>                                                    | <b>6</b> |
| 9.1 Ribinių vertės kontrolės naudojimas .....                                       | 6        |
| 9.2 Antigenų reikšmės.....                                                          | 6        |
| 9.3 Vertinimo kriterijai .....                                                      | 7        |
| 9.4 Testo ribos .....                                                               | 7        |
| <b>10. Literatūra.....</b>                                                          | <b>7</b> |
| <b>11. Testavimo schema.....</b>                                                    | <b>9</b> |

## 1. Naudojimo paskirtis

LINE testavimo rinkinys naudojamas kokybiniam *Helicobacter pylori* specifinį IgG ar IgA antikand žodymui žmogaus serume.

## 2. Testo veikimo principas

Specialiu metodu ligos sukūšio antigeno proteinai ušpurškiami ant nitroceliuliozės membranų. Tada nitroceliuliozės membrana supjaustoma atskiromis juostelėmis.

Inkubuojant antigenų padengtas nitroceliuliozės juosteles su žmogaus serumo (plazmos) mėginiais galima žodyti specifinį antikand buvimą. Šie antikanai sudaro imuninius kompleksus su ant testavimo juostelėse fiksuotais antigenais. Plovimo etapais pašalinus nesurigtus antikanus, atskiros nitroceliuliozės juostelės su žarine fosfataze konjuguotais prieš žmogų nukreiptais IgG ar IgA antikanais inkubuojamos. Kito plovimo etapo metu pašalinus nesurigtus konjuguotus antikanus, antigeno-antikano kompleksai (surigti antikanai) padaromi matomais pridodant nedažyto substrato, kuris jo fermentinės reakcijos metu sudaro mėlynai violetines spektro juostas (antigenų spektro juostas). Fermento (substrato) reakcija sustabdoma plaunant nitroceliuliozės juosteles dist. (dejonizuotu) vandeniu. Priklausomai nuo stebimos spektro juostų struktūros galima daryti išvadas apie specifinį IgG ar IgA antikand buvimą.

## 3. Pakuotės turinys

### 3.1 Rinkinys 32 nustatymams

- |                                                                                                                                                 |           |              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------------|
| 1. <b>IgG ar IgA nitroceliuliozės testavimo juostelės</b> su ušpurkštu antigenu, sustiprintos plėvele, suražiuotos paketuose, paruoštos naudoti | <b>1x</b> | 32 juostelės |
| 2. <b>IgG ar IgA ribinį verį iš kontrolės, žmogaus serumas, praskiestas</b>                                                                     | <b>1x</b> | 1,0 ml       |
| 3. <b>Skiedimo (plovimo) buferis</b> , pH 7,3 (10x konc.), su Atrisio konservantu                                                               | <b>2x</b> | 50 ml        |
| 4. <b>IgG ar IgA konjugatas</b> (100x konc.) prieš žmogų, (ofškos) žarminės fosfatazės, su konservantu                                          | <b>1x</b> | 0,7 ml       |
| 5. <b>Substratas</b> (BCIP/NBT), paruoštas naudoti                                                                                              | <b>1x</b> | 57 ml        |
| 6. <b>Vertinimo protokolo lapas</b> rezultatams protokoluoti ir archyvuoti                                                                      | <b>1x</b> | 1 vnt.       |

### 3.2 Rinkinys 96 nustatymams

- |                                                                                                                                                 |           |              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------------|
| 1. <b>IgG ar IgA nitroceliuliozės testavimo juostelės</b> su ušpurkštu antigenu, sustiprintos plėvele, suražiuotos paketuose, paruoštos naudoti | <b>3x</b> | 32 juostelės |
| 2. <b>IgG ar IgA ribinį verį iš kontrolės, žmogaus serumas, praskiestas</b>                                                                     | <b>2x</b> | 1,0 ml       |
| 3. <b>Skiedimo (plovimo) buferis</b> , pH 7,3 (10x konc.), su Atrisio konservantu                                                               | <b>4x</b> | 50 ml        |
| 4. <b>IgG ar IgA konjugatas</b> (100x konc.) prieš žmogų, (ofškos) žarminės fosfatazės, su konservantu                                          | <b>3x</b> | 0,7 ml       |
| 5. <b>Substratas</b> (BCIP/NBT), paruoštas naudoti                                                                                              | <b>3x</b> | 57 ml        |
| 6. <b>Vertinimo protokolo lapas</b> rezultatams protokoluoti ir archyvuoti                                                                      | <b>3x</b> | 1 vnt.       |

### Pasiteiravus galima žigyti papildomai:

IgG ar IgA teigiama kontrolė, žmogaus serumas, praskiestas, 0,5 ml.

Teigiamos spektro juostos > ribinį verį iš spektro juostas nurodytos kartu pristatomame sertifikate.

(Ušsakymo Nr.: IgG: WE243P60 ar IgA: WE243P40)

IgG / IgA neigiama kontrolė, žmogaus serumas, praskiestas, 0,5 ml.

Neigiamos kontrolės nerodo jokio arba rodo netinkamas vertimui > ribines vertes spektro juostas.

(Ušsak. Nr.: IgG/IgA: WE243N20)

## 4. Testavimo rinkinio ir reagentų laikymas ir tinkamumo laikas

Testavimo rinkinį laikyti 2-8 °C. Atskird komponentų tinkamumo laikas nurodytas atitinkamoje etiketėje; rinkinio tinkamumo laiką žr. kokybės kontrolės sertifikate.

- Atskird reagentų negalima ušgaldyti ir juos reikia saugoti nuo aukštos temperatūros poveikio.

2. Reagentą nenaudoti pasibaigus tinkamumo laikui.
3. Stenkitės nelaikyti reagentų skaislioje šviesoje.
4. BCIP/ NBT substrato tirpalas yra jautrus šviesai ir jį reikia laikyti tamsoje.
5. **Nitroceliuliozės testavimo juostelės:** Išimkite maišelį juosteles tuojau pat naudokite. Maišelis nereikalingomis juostelėmis visiškai uždarykite ir laikykite 2-8 °C temperatūroje. Rezultatą archyvuoti nitroceliuliozės testavimo juosteles, kad spektro juostos neįbluktų, batinai reikia saugoti nuo tiesioginės saulės spindulių.

| Medžiaga            | Basena                                       | Laikymas                                          | Tinkamumo laikas |
|---------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------|
| Tiriamieji mėginiai | neskiesti                                    | +2 iki +8 °C                                      | 1 savaitė        |
| Testavimo juostelės | atidarius                                    | +2 iki +8 °C (laikyti kartu tiekiamame maišelyje) | 3 mėnesiai       |
| Kontrolės           | atidarius                                    | +2 iki +8 °C                                      | 3 mėnesiai       |
| Konjugatas          | atidarius                                    | +2 iki +8 °C                                      | 3 mėnesiai       |
|                     | praskiestas                                  | +2 iki +8 °C                                      | apie 6 h         |
| Substratas          | atidarius                                    | +2 iki +8 °C (tamsioje vietoje)                   | 3 mėnesiai       |
| Ploviklis           | atidarius                                    | +2 iki +8 °C (tamsioje vietoje)                   | 3 mėnesiai       |
|                     | galutinai praskiestas (paruoštas naudojimui) | +2 iki +8 °C                                      | 4 savaitės       |
|                     | galutinai praskiestas (paruoštas naudojimui) | arba patalpa temperatūroje                        | 2 savaitės       |

## 5. Atsargumo priemonės ir įspėjamosios nuorodos

7. Kaip kontroliniai serumai naudojami tik serumai, kurie buvo patikrinti ir diagnozuoti kaip neigiami HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK ir hepatito B pavirginio antigeno požiūriu. Nepaisant to, kontrolinius serumus, mėginius, atskiestus mėginius, konjugatus ir nitroceliuliozės juosteles reikia laikyti potencialiai infekcinėmis medžiagomis ir elgtis su jomis atitinkamai atsargiai. Galioja atitinkamos laboratorijos darbo taisyklės.
8. Atliekant imunobloto tyrimą reikia naudoti vienkartinius pirštinius ir naudoti plastikinius pincetus.
9. Naudotos medžiagos utilizuojamos pagal galiojančias direktyvas.
10. Inkubavimo vonelės gamintojas numatė tik vienkartiniam naudojimui. Jeigu jos naudojamos pakartotinai, tai yra vien tik naudotojo atsakomybė. Jeigu jos būtų naudojamos keletą kartų, mes rekomenduojame inkubavimo vonelės po naudojimo keletą valandų dezinfekuoti 1 % natrio hipochlorido tirpale, išvalyti ir kruopščiai nuplauti vandentiekio vandeniu bei nuskalauti dist. (dejonizuotu) vandeniu.

## 6. Papildomai reikalingos medžiagos (neįskaitant tiekimo komplektacijų)

1. Inkubavimo vonelė (prireikus galima įsigyti užsak. Nr. WE300.08)
2. Purtytuvas (vertikalus, ne centrifuginis)
3. Ploviklio sustabdymui
4. Pipet arba rankinis plautuvas
5. 5 ml-1500 µl mikropipetės
6. Pipetės antgaliai
7. 20 ml tario mėgintuvėliai (vamzdiniai)
8. Plastikinis pincetas
9. Dist. arba dejonizuotas vanduo
10. Filtravimo popierius

## 7. Tiriamoji medžiaga

Kaip tiriamoji medžiaga gali būti naudojamas serumas ir plazma (čia antikoagulantų ragis nėra svarbi), nors šiame informaciniame lapelyje ir kalbama tik apie serumą.

## 8. Testo atlikimas

Kad gautumėte teisingus rezultatus, batinai tiksliai laikykitės VIROTECH Diagnostics darbo taisyklę.

### 8.1 Mėginių paruošimas

1. Vienam pacientui mėginių reikia 15 µl serumo (plazmos) IgG tyrimui ir 30 µl serumo (plazmos) IgA tyrimui.
2. Kraujo mėginiai turi būti paimti iš venos aseptiškai su švirkščiuku. Visiškai sukrežę šius reikia atskirti serumą (nereikia plazmos atveju). Ilgesniam laikymui serumus reikia užšaldyti -20 °C temperatūroje.
3. Stenkitės nešaldyti ir neatitirpinti serumą keletą kartų.
4. Karščiau įgaktvintą, lipeminią, hemolizuotą arba mikrobiologiškai užterktą serumą rezultatai gali būti neteisingi, todėl tokią serumą reikėtų nenaudoti.
5. Nenaudokite drumstą serumą mėginių (ypač atitirpintą), prireikus juos centrifuguokite (5 min prie 1000 x g), pipete surinkite skaidrą skystį virgūje ir naudokite testavimui.

### 8.2 Reagentų paruošimas

1. Taikantis prie laboratorijos rutinos visus LINE ir EcoBlots testus galima sujungti 3vienų testavimo ciklų su vienoda inkubavimo trukme ir 3airių parametrų ir partijų komponentais. Ribinės vertės kontrolės naudojamos specifinės pagal parametrus ir partijas.
2. Prieš skiedami atitinkamus visų testavimo reagentų koncentratų sušildykite iki patalpų temperatūros. Naudokite tik aukštos kokybės ir patalpų temperatūros dist. (dejonizuotą) vandenį.
3. Prieš pradėdami testuoti skiedinius gerai išmaišykite.
4. **Skiedimo (plovimo) buferis**  
Skiedimo (plovimo) buferis yra 10 kartų koncentruotas. Skiedimo (plovimo) buferio koncentratą 1:10 atskieskite distiliuotu arba dejonizuotu vandeniu (10 ml / 50 ml / 100 ml koncentrato + 90 ml / 450 ml / 900 ml dist. (dejonizuoto) v.), gerai sumaišykite.  
Ir koncentruotas, ir praskiestas skiedimo (plovimo) buferis gali būti šiek tiek gelsvas. Ši gelsva spalva neturi jokios reikšmės nei skiedimo (plovimo) buferio tinkamumo laikui, nei testavimo ciklo veikimui ir diagnostiniam patikimumui.
5. **IgG ar IgA konjugatas**  
Konjugatą 1 + 100 praskieskite galutinai atskiestu skiedimo (plovimo) buferiu, gerai išmaišykite. Vienam serumo mėginiui reikia 1,5 ml paruošto naudoti konjugato tirpalo. Žr. konjugato skiedimo lentelę (punktą 4.1 testavimo schema).
6. **Substrato tirpalas**  
Substrato tirpalas pristatomas paruoštas naudoti.

### 8.3 Imunobloto testo atlikimas

**Dėmesio!** Nitroceliuliozės testavimo juostelės galima tirti tik leistoje Ig klasėje (žr. etiketę ant bloko paketo ir paaiškinimą ant kiekvienos atskiros bloko juostelės).

Kad *Helicobacter pylori* LINE'o tyrimas būtų atliekamas ir vertinamas teisingai, kiekviename testavimo cikle būtina kartu vykdyti ir parametrus ir partijai specifinį ribinį vertės kontrolę.

1. Testas atliekamas patalpų temperatūroje.
2. Kiekvienam mėginiui 30 min inkubavimo vonelės laukimas. Skite po 1 juostelę. Juostelės stenkitės imti tik už paaiškinimo virgutinio galo.
3. Pipete išginkite po 1,5 ml paruošto naudoti **skiedimo (plovimo) buferio** ir pastatykite ant purtytuvo. Atkreipkite dėmesį, kad nitroceliuliozės juostelės būtų tolygiai padengtos skysčiu, juostelės per visą testo atlikimo laiką turi būti neįdžiūti.
4. Sustiprintos nitroceliuliozės testavimo juostelės visiškai sudrėksta per vieną minutę ir gali būti inkubuojamos paguldytos ant nugaros, ant priekio arba ant šono.
5. Pipete išginkite po 15 µl **paciento serumo (plazmos) IgG tyrimui** ir 30 µl **paciento serumo (plazmos) IgA tyrimui**; ar 100 µl **ribinį vertės / teigiamos / neigiamos kontrolės**, geriausia ties virgutiniu, paaiškinimo juostelės galu. Paciento serumą ir kontrolę 30 min užkubiuokite purtytuve. Laikindami pipetę ir vėl nupildami atkreipkite dėmesį, kad kryžiai neužkrėstumėte atskirą pacientą mėginių.

6. Įsiurbkite arba atsargiai įpilkite į latakSlid visNskyst3 Nupilant skyst3nitroceliuliozSs testavimo juostelSs lieka prikibusios prie latakSlio dugno. Skysl'io likul'ius atsargiai nulažinkite ant sugeriamojo popieriaus.
7. Juostelid **plovimas**: kiekvienNkartNsu 1,5 ml paruožto naudoti skiedimo (plovimo) buferio **3 x 5 minutes** inkubuokite ant purtytuvo. Visada nusiurbkite arba nupilkite visNplovimo bufer3 Priež pasibaigiant paskutiniam plovimo etapui pasigaminkite reikalingNkiek3žviežio konjugato skiedinio (fr. lentelN).
8. Į latakSlio įsiurbkite arba įpilkite visNskyst3(fr. 6 punktN).
9. Pipete 3atitinkamus inkubavimo latakSlius 3ažinkite po 1,5 ml pasigaminto **konjugato skiedinio ir 30 minu!**id inkubuokite ant purtytuvo.
10. Įsiurbkite arba įpilkite į latakSlid visNskyst3
11. Juostelid **plovimas**: kiekvienNkartNsu 1,5 ml paruožto naudoti skiedimo (plovimo) buferio **3 x 5 minutes** inkubuokite ant purtytuvo. Visada nusiurbkite arba nupilkite visNplovimo bufer3 Po to **1 x 1 minut!**plaukite **dist. (dejonizuotu) vandeni**u.
12. Į latakSlio įsiurbkite arba įpilkite visNskyst3(fr. 6 punktN).
13. Pipete 3latakSlius 3ažinkite po 1,5 ml paruožto naudoti **substrato tirpalo ir 10 ± 3 minutes** ryžinkite ant purtytuvo.
14. Spalvos ryžkinimN**sustabdykite** nupildami substrato tirpalN. Po to juosteles be tarpinio inkubavimo **3 x** nuplaukite su po 1,5 ml **dist. (dejonizuoto) vandens**.
15. Nupilkite dist. (dejonizuotN) vanden3ir iždNiovinkite juosteles ant žvaraus, gerai sugerianl'io popieriaus. FoninS spalva, kuri gali matytis ant drSgnđ nitroceliuliozSs testavimo juostelid, juostelSms iždNiavus visižkai pradingsta. Sustiprintos nitroceliuliozSs testavimo juostelSs dhiasta žiek tiek ilgiau nei 3prastinSs nitroceliuliozSs testavimo juostelSs.
16. Vertinimui naudokite pridStNvertinimo protokolN. SufymSjus labai specifines spektro juostas protokolo lape Jums bus daug lengviau 3vertinti pacientđ mSginius.

### Testavimo schemNfr. paskutiniame puslapyje

#### 8.4 Imunobloto procesoriđ naudojimas

Automatizuotam blotđ ir LINE apdorojimui validuoti tokie prietaisai: Apollo6 ir Pprofiblot6 Principiniai tinkami naudoti yra visi 3prastiniai blotđ automatai.

#### 9. Testo vertinimas

Patikimam vertinimui kiekvienai LINE juostelei numatytos dvi kontrolSs:

1. **Serumo kontrolS** (= angl. *serum control*):

Tik inkubavus su paciento serumu po ėenklinimo linija (= angl. *markline*) pasirodo serumo inkubacijos spektro juosta.

2. **Konjugato kontrolS** (= angl. *conjugate control*):

LINE juostelSje yra kontrolinS konjugato spektro juosta, kuri pasirodo po inkubavimo su atitinkamu konjugatu.

Testo atlikimas yra galiojantis, jeigu ižryžkintoje nitroceliuliozSs testavimo juostelSje aižkiai matosi ir serumo kontrolS, ir vidinS konjugato kontrolS.

Kontroliniđ serumo ir konjugato spektro juostđ padStis nurodyta protokolo lape.

#### 9.1 RibinSs vertSs kontrolSs naudojimas

Spektro juostos, kuriđ intensyvumas maėesnis uė ribinSs vertSs kontrolSs ribinSs vertSs spektro juostN, nevertinamos.

IgG ir IgA ribinSs vertSs spektro juosta: Cag A

#### 9.2 Antigenđ reikėmS

| Antigenas/<br>pavadinimas                                | Molekulinis<br>svoris | Antigenđ reikėmS                                                                                                                                                                                 | Antikand<br>specifižkumas<br>LINE tyrime | Bana su<br><i>H. pylori</i> |
|----------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------|
| <b>CagA</b><br><br>(Cytotoxin-<br>associated-<br>gene A) | 140 kD                | CagA 3erpiamas 3geimininko lNstel!ir tokiu badu, be kitko, suardo raggt3gaminanl'ias skrandžio lNsteles. Tai savo ruožtu sudaro palankias sNnygas skrandžio opai arba skrandžio vSėiui vystytis. | Labai specifinis                         | I tipas                     |

|                                                 |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                  |                     |
|-------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------------|
|                                                 |       | Charakteringas ypatingai virulentiniams I tipo ūtamams, kai kuriuose maŕiau virulentiniuose II tipo ūtamuose nŖra.<br>Labai imunogeninis                                                                                                                                                        |                  |                     |
| <b>VacA</b><br><b>(Vacuolating Cytotoxin A)</b> | 87 kD | VacA iŕskiriamas Ŗaplinkinŭ terpŭ, ŕaloja skrandŕio gleivinŖs iŕŖteles ir veikia vietiniai imunosupresiniai (12).<br>Charakteringas ypatingai virulentiniams I tipo ūtamams, kai kuriuose maŕiau virulentiniuose II tipo ūtamuose nŖra.<br>Antikandŭ atsakas, lyginant su CagA, ne toks tolygus | Labai specifinis | I tipas             |
| <b>p30</b>                                      | 30 kD | Dar necharakterizuotas proteinas.                                                                                                                                                                                                                                                               | Labai specifinis | I tipas ir II tipas |
| <b>UreA</b><br><b>UreaseA Subvienetas</b>       | 26 kD | UreazŖA neturi jokio panaŕumo su kitŭ organizmŭ ureazŖmis, todŖl yra labai specifinis <i>Helicobacter pylori</i> infekcijos ŕymuo.                                                                                                                                                              | Labai specifinis | I tipas ir II tipas |
| <b>P25</b>                                      | 25 kD | Membraninis baltymas, sudarantis galimybŭ <i>Helicobacter pylori</i> prisiriŕti prie skrandŕio epitelio iŖŖtelidŭ (13).                                                                                                                                                                         | Labai specifinis | I tipas ir II tipas |
| <b>p19</b>                                      | 19 kD | Kol kas dar tiksliau necharakterizuotas membraninis baltymas                                                                                                                                                                                                                                    | Labai specifinis | I tipas ir II tipas |

### 9.3 Vertinimo kriterijai

Interpretuojant serologinius rezultatus visada reikia atsifŕvelgti ir Ŗbendrŭ klinikinŖ vaizdŭ, epidemiologinius duomenis ir kitŭ turimŭ laboratorinidŭ tyrimŭ rezultatus.

#### Rekomenduojamas IgG, IgA Ŗvertinimas

| Pasirodanti (-Ŗ ios) spektro juosta (-os)                                                      | Interpretavimas |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>Spektro juostŭ nŖra arba yra tik viena tokia spektro juosta:</b><br>p30, p19                | neigiamas       |
| <b>Tik viena tokia spektro juosta:</b><br>VacA, UreA, p25                                      | Ŗartinas        |
| <b>CagA</b><br>arba<br><b>Pasirodo Ŗ2 tokios spektro juostos:</b><br>VacA, p30, UreA, p25, p19 | teigiamas       |

### 9.4 Testo ribos

1. Retais atvejais pacientŭ serumai gali rodyti ŖnversinŖs Ŗ spektro juostas (tamsus fonas, baltos juostos); jŭ vertinti negalima, t. y., tokiu atveju imunobloto Ŗvertinti neŖmanoma. Serumŭ reikŖs ŭ dar kartŭ patikrinti kitokiais serologiniais metodais.
2. Po sŖkmingo gydymo IgA antikanai gali persistuoti nuo 6 mŖnesidŭ iki 3 metŭ. IgG antikanai paprastai persistuoja daug metŭ.

## 10. Literatara

17. *Helicobacter pylori* ŕ Von der Grundlage zur Therapie (1996) Herausgeber P. Malfertheiner, Thieme Verlag

18. Homepage, Nationales Referenzzentrum für *Helicobacter pylori*; Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Freiburg (2010)
19. Zöller et al (1993) Nachweis der *Helicobacter pylori*-Infektion: Rolle der Immundiagnostik. *Klin. Lab.* 39: 45-54
20. Epidemiologisches Bulletin, 2005, Nr. 24
21. Kist M., Glocker E., Suerbaum S., Pathogenese, Diagnostik und Therapie der *Helicobacter-pylori*-Infektion, Bundesgesundheitsblatt, 2005
22. *Helicobacter-pylori* und gastroduodenale Ulkuskrankheit, AWMF-Leitlinien-Register, Nr. 021/001, 2008
23. Figura N., *Helicobacter* exotoxins and gastroduodenal diseases associated with cytotoxic strain infection, *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1996;10, Suppl. I : 79-96
24. Xiang Z., et al., Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin., *Infect. Immun.* 1995 Jan., 63 (1):94-98
25. Covacci A.S. et al., Molecular characterisation of the 128 kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *PNAS*, 1993, 90:5791
26. Cover T.L. et al., Serologic detection of infection with cagA + *Helicobacter pylori* strains, *J. Clin. Microbiol.*, 1995, 33 (6), 1496-1500
27. Weel J.F.L., The interrelationship between cytotoxin-associated gene A, vacuolating cytotoxin and *Helicobacter pylori*-related diseases, *JID*, 1996, 173: 1171-5
28. Gebert B. et al., The *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin: from cellular vacuolating to immunosuppressive activities, *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2004; 152(1): 205-220
29. Moran Anthony P. et al., In vivo expression of the 25-kDa laminin-binding protein of *Helicobacter pylori*, *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 43 (2005) 331-337

## 11. Testavimo schema

### Testo atlikimas trumpai:

|                       |                                             |                                                                                                                                                                      |
|-----------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MSginių inkubavimas   | <b>30 minul'į</b>                           | 15 µl paciento serumo (plazmos) IgG tyrimui;<br>30 µl paciento serumo (plazmos) IgA tyrimui /<br>100 µl kontrolSkiekvienų kartų 1,5 ml skiedimo<br>(plovimo) buferio |
| Plovimas              | <b>3 x 5 minutes</b>                        | Kiekvienų kartų su 1,5 ml skiedimo (plovimo)<br>buferio                                                                                                              |
| Konjugato inkubavimas | <b>30 minul'į</b>                           | Su 1,5 ml paruošti naudoti skiedinio (1 + 100)                                                                                                                       |
| Plovimas              | <b>3 x 5 minutes</b><br><b>1 x 1 minutį</b> | Kiekvienų kartų su 1,5 ml skiedimo (plovimo)<br>buferio<br>Su dist. (dejonizuotu) vandeniu                                                                           |
| Substrato inkubavimas | <b>10 ± 3 minul'į</b>                       | Kiekvienų su 1,5 ml substrato tirpalo                                                                                                                                |
| Fiksavimas            | <b>3 x be tarpinio inkubavimo</b>           | Kiekvienų kartų su 1,5 ml dist. (dejonizuoto)<br>vandens                                                                                                             |

### Konjugato skiedimo lentelės: (suapvalinta)

|                            |         |        |         |        |         |        |         |         |         |         |
|----------------------------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|
| Juostelių skaičius         | 1       | 2      | 3       | 4      | 5       | 6      | 7       | 8       | 9       | 10      |
| Skiedimo (plovimo) buferis | 1,5ml   | 3,0ml  | 4,5ml   | 6,0ml  | 7,5ml   | 9,0ml  | 11,0ml  | 12,0ml  | 14,0ml  | 15,0ml  |
| Konjugato koncentratas     | 15 µl   | 30 µl  | 45 µl   | 60 µl  | 75 µl   | 90 µl  | 110 µl  | 120 µl  | 140 µl  | 150 µl  |
| Galutinis taris            | 1,515ml | 3,03ml | 4,545ml | 6,06ml | 7,575ml | 9,09ml | 11,11ml | 12,12ml | 14,14ml | 15,15ml |

|                            |         |         |        |         |         |         |         |         |         |        |
|----------------------------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|
| Juostelių skaičius         | 11      | 12      | 13     | 14      | 15      | 16      | 17      | 18      | 19      | 20     |
| Skiedimo (plovimo) buferis | 17,0ml  | 18,0ml  | 20,0ml | 21,0ml  | 23,0ml  | 24,0ml  | 26,0ml  | 27,0ml  | 29,0ml  | 30,0ml |
| Konjugato koncentratas     | 170 µl  | 180 µl  | 200 µl | 210 µl  | 230 µl  | 240 µl  | 260 µl  | 270 µl  | 290 µl  | 300 µl |
| Galutinis taris            | 17,17ml | 18,18ml | 20,2ml | 21,21ml | 23,23ml | 24,24ml | 26,26ml | 27,27ml | 29,29ml | 30,3ml |

|                            |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |
|----------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Juostelių skaičius         | 21      | 22      | 23      | 24      | 25      | 26      | 27      | 28      | 29      | 30      |
| Skiedimo (plovimo) buferis | 32,0ml  | 33,0ml  | 35,0ml  | 36,0ml  | 38,0ml  | 39,0ml  | 41,0ml  | 42,0ml  | 44,0ml  | 45,0ml  |
| Konjugato koncentratas     | 320 µl  | 330 µl  | 350 µl  | 360 µl  | 380 µl  | 390 µl  | 410 µl  | 420 µl  | 440 µl  | 450 µl  |
| Galutinis taris            | 32,32ml | 33,33ml | 35,35ml | 36,36ml | 38,38ml | 39,39ml | 41,41ml | 42,42ml | 44,44ml | 45,45ml |

|                            |         |         |        |         |         |         |         |         |         |         |
|----------------------------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Juostelių skaičius         | 31      | 32      | 33     | 34      | 35      | 36      | 37      | 38      | 39      | 40      |
| Skiedimo (plovimo) buferis | 47,0ml  | 48,0ml  | 50,0ml | 51,0ml  | 53,0ml  | 54,0ml  | 56,0ml  | 57,0ml  | 59,0ml  | 60,0ml  |
| Konjugato koncentratas     | 470 µl  | 480 µl  | 500 µl | 510 µl  | 530 µl  | 540 µl  | 560 µl  | 570 µl  | 590 µl  | 600 µl  |
| Galutinis taris            | 47,47ml | 48,48ml | 50,5ml | 51,51ml | 53,53ml | 54,54ml | 56,56ml | 57,57ml | 59,59ml | 60,6 ml |