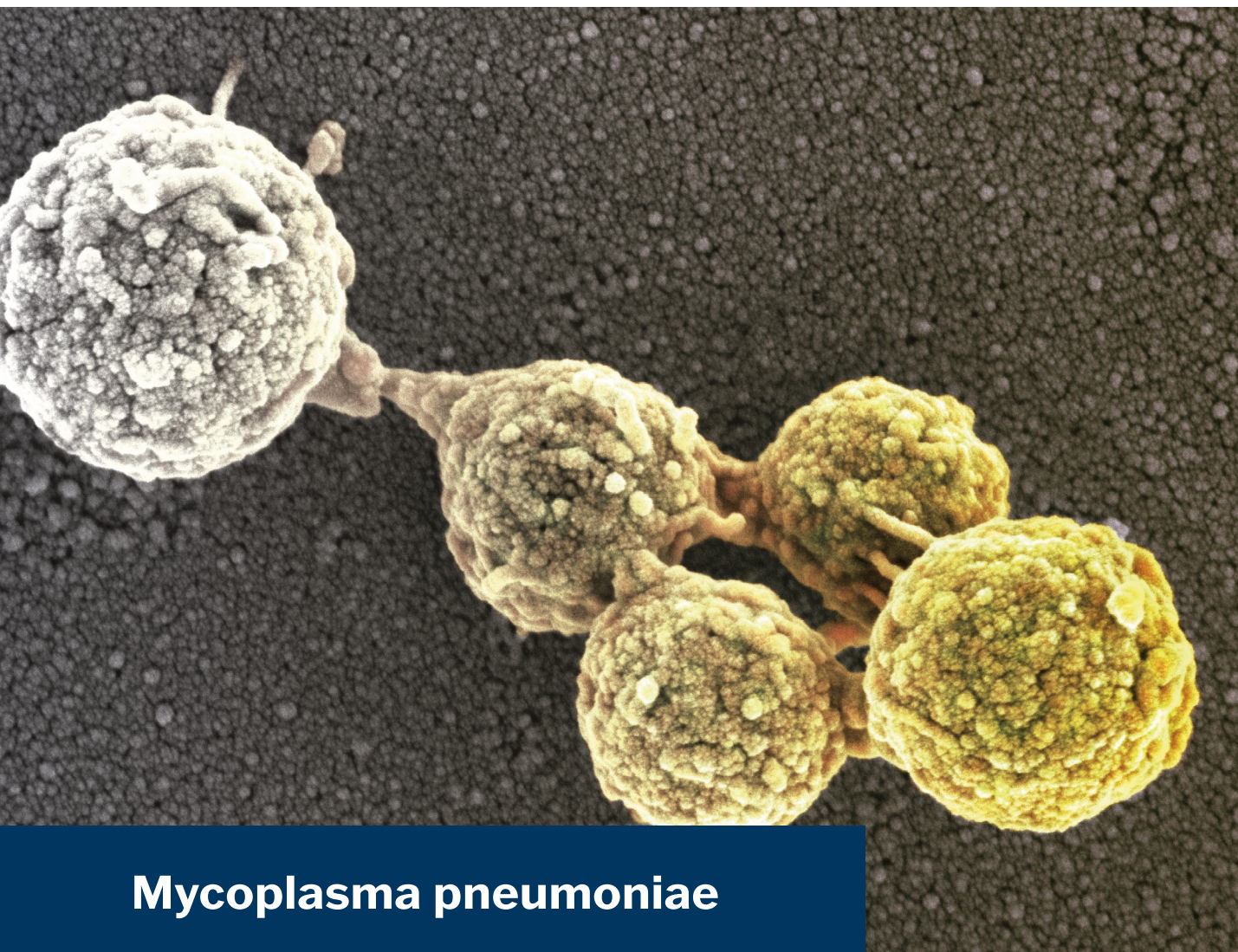




**Mycoplasma pneumoniae**

# Imunoenzymatické soupravy k diagnostice mykoplazmové infekce

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



Diagnostické soupravy jsou určeny  
pro profesionální použití v laboratoři.



## Úvod

*Mycoplasma pneumoniae* je primárním patogenem dýchacího traktu. Způsobuje pneumonie doprovázené zvýšenou teplotou, nevolností, zimnicí, kašlem a únavou. Onemocnění je vleklé, ale dobře léčitelné antibiotiky. Nákaza je přenosná vzduchem, kapénkovou infekcí. K epidemiím dochází zpravidla ve velkých, zejména dětských kolektivech v jarních a podzimních měsících.

## Diagnostika onemocnění

Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obrazu, epidemiologické anamnéze a laboratorních testech. Vzhledem k obtížné kultivaci *Mycoplasma pneumoniae* je pro rutinní diagnostiku vhodnou možností stanovení specifických protilátek tříd IgA, IgG a IgM v séru nebo plazmě metodou ELISA.

## Diagnostický význam jednotlivých tříd protilátek

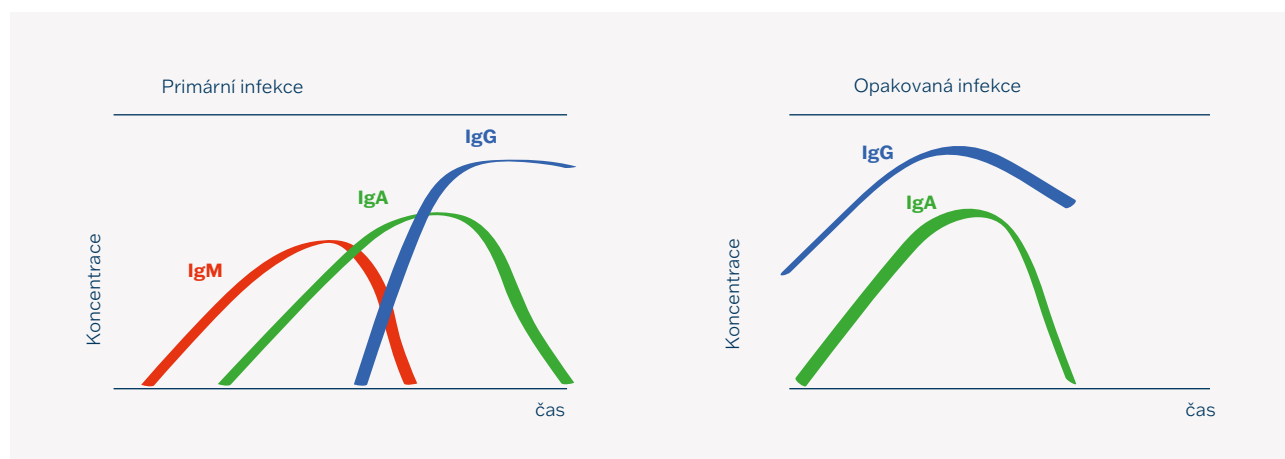
**IgM:** Při primoinfekci dochází k vzestupu protilátek třídy IgM 1.–2. týden po infekci, maxima dosahují cca 1 měsíc od začátku onemocnění a můžou perzistovat více než 1 rok. Výskyt specifických IgM protilátek u pacientů do 20 let je 80 %, u pacientů nad 20 let je 40 %. Při reinfekcích zpravidla nedochází k jejich vzestupu.

**IgA:** K vzestupu protilátek třídy IgA dochází obvykle později než u IgM, častý je jejich časnější pokles. Význam mají zejména v případě absence IgM u některých pacientů a dále u reinfekcí.

**IgG:** K vzestupu protilátek třídy IgG dochází někdy už po 2.–3. týdnu od začátku výskytu příznaků, maximálních hladin dosahují za delší dobu, někdy až za 6 měsíců. Perzistují déle než 1 rok, jsou známy případy přetrvávání i více než 4 roky. V případě reinfekcí je nutno hodnotit dynamiku protilátek u párových vzorků, odebraných s odstupem 1–2 týdny.

Pro hodnocení sérologických nálezů je optimální vyšetření vzorku ve všech 3 třídách protilátek, případně vyšetření párových vzorků.

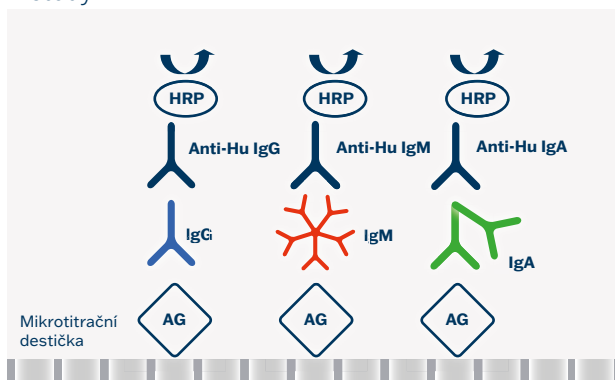
## Protilátková odpověď



# ELISA

## Princip testu

Soupravy jsou založeny na sendvičovém typu ELISA metody



## Pracovní postup

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

## Antigeny

### EIA Mycoplasma

Purifikovaný a inaktivovaný antigen *M. pneumoniae* obohacený o vysoce specifické imunodominantní epitopy

### EIA Mycoplasma REC

Směs vysoce specifických rekombinantních antigenů

## Použití souprav

- Vyhledávací test k průkazu mykoplazmové infekce u člověka
- Semikvantitativní či kvantitativní vyhodnocení je vhodné pro sledování úspěšnosti terapie

## Uživatelský komfort

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

## Výhody souprav

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



## Charakteristiky souprav

| Parametr               | Diagnostická citlivost | Diagnostická specifita |
|------------------------|------------------------|------------------------|
| EIA Mycoplasma IgA     | 99,9 %                 | 84,6 %                 |
| EIA Mycoplasma IgG     | 99,9 %                 | 85,7 %                 |
| EIA Mycoplasma IgM     | 96,7 %                 | 98,8 %                 |
| EIA Mycoplasma REC IgA | 95,0 %                 | 95,4 %                 |
| EIA Mycoplasma REC IgG | 95,4 %                 | 95,5 %                 |
| EIA Mycoplasma REC IgM | 99,0 %                 | 97,7 %                 |

### EIA



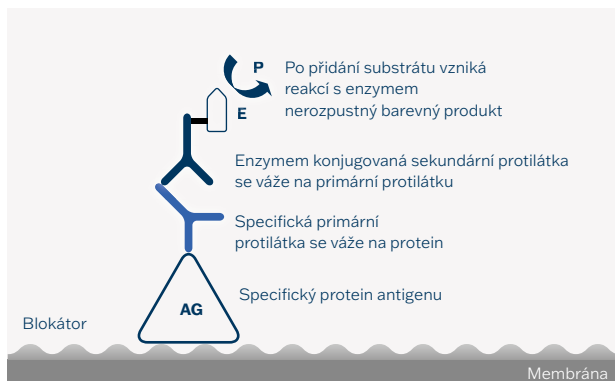
### SmartEIA



# IMUNOBLOT

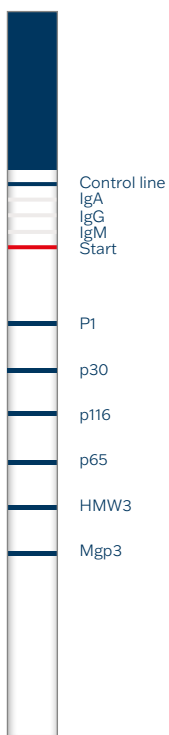
## Princip testu

Rekombinantní antigeny jsou naneseny na nitrocelulózovou membránu pomocí mikrodispensních metod.



## Antigeny

### BLOT-LINE Mycoplasma



**P1** – Adhezin; nejdůležitější protein, hlavní faktor virulence

**p30** – Cytadhezin p30; 2. nejdůležitější protein, hlavní faktor virulence

**p116** – Adhezin, hlavní faktor virulence

**p65** – Povrchový protein; Proline-rich P65 protein (p65)

**HMW3** – Cytadherence high molecular weight 3; protein podporující adhezi

**Mgp3** – Protein podporující adhesi; MPN142 (P40/P90)

## Pracovní postup

| Krok | Kroky testu                                                                |
|------|----------------------------------------------------------------------------|
| 1.   | Dávkování Univerzálního roztoku 2,5 ml                                     |
| 2.   | Smáčení stripů 10 min. při lab. teplotě – třepačka                         |
| 3.   | Odsátí                                                                     |
| 4.   | Ředění vzorků<br>– séra/plazmy 1:51 (30 µl + 1,5 ml)                       |
| 5.   | Dávkování kontrol a ředěných vzorků 1,5 ml                                 |
| 6.   | Inkubace 30 min. při laboratorní 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 laboratorní 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

- Podrobné stanovení přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům *Mycoplasma pneumoniae*
- Konfirmace sporných výsledků
- Konfirmační test ELISA vyšetření

## Uživatelský komfort

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

## Výhody souprav

- Identický pracovní postup
- Jednoduchá interpretace a reprodukovatelnost výsledků
- Sofistikovaný vyhodnocovací software
- 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<br>Mycoplasma IgA | 93,3 %                        | 93,7 %                        |
| BLOT-LINE<br>Mycoplasma IgG | 92,4 %                        | 96,0 %                        |
| BLOT-LINE<br>Mycoplasma IgM | 90,3 %                        | 95,1 %                        |

## IMUNOBLOT

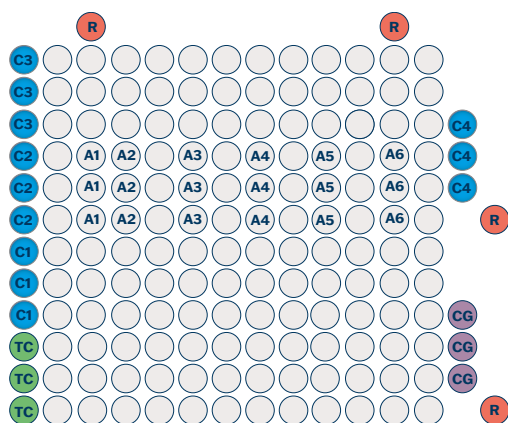


## Interpretace výsledků

| <u>IgG</u> | <u>IgA</u> | <u>IgM</u> | <u>Hodnocení</u>                                        |
|------------|------------|------------|---------------------------------------------------------|
| –          | –          | –          | Žádný sérologický průkaz infekce mycoplasmové pneumonie |
| –          | +          | +          | Časná fáze akutní infekce nebo reinfekce                |
| –          | +          | –          | Časná fáze akutní infekce nebo reinfekce                |
| +          | +          | +          | Akutní infekce                                          |
| +          | –          | +          | Akutní infekce (pozdní fáze)                            |
| +          | +          | –          | Reinfekce nebo infekce bez tvorby IgM                   |
| +          | –          | –          | Prodělaná infekce nebo reinfekce                        |
| –          | –          | +          | Časná fáze akutní infekce                               |

# MICROBLOT-ARRAY

## Rozložení antigenů a kontrolních spotů



### Popis antigenů

- A1** – P1
- A2** – P30
- A3** – P116
- A4** – P65
- A5** – HMW3
- A6** – Mgp3

### Popis kontrolních spotů

- R** – Reference
- TC** – Test control
- CA** – Conjugate control IgA
- CG** – Conjugate control IgG
- 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<br>– 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 kvantitativní vyhodnocení (U/ml)
- Paralelní vyšetření více markerů současně
- Vysoká citlivost

## Microblot-Array



## Charakteristiky souprav

| <u>Parametr</u>                | <u>Diagnostická citlivost</u> | <u>Diagnostická specifita</u> |
|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Microblot-Array Mycoplasma IgA | 97,1 %                        | 99,3 %                        |
| Microblot-Array Mycoplasma IgG | 95,7 %                        | 99,0 %                        |



## Zkřížená reaktivita

soupravy *Mycoplasma* IgA na panelu potenciálně zkříženě reagujících vzorků

| <u>Kategorie</u>       | <u>n</u> | <u>Pozitivní<br/>výsledek</u> | <u>Negativní<br/>výsledek</u> | <u>Zkřížená<br/>reaktivita</u> |
|------------------------|----------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| RF                     | 22       | 1                             | 21                            | 4,6 %                          |
| EBV                    | 21       | 0                             | 21                            | 0,0 %                          |
| ANA                    | 22       | 1                             | 21                            | 4,6 %                          |
| Chlamydia pneumoniae   | 23       | 1                             | 22                            | 4,4 %                          |
| Bordetella pertussis   | 16       | 0                             | 16                            | 0,0 %                          |
| CMV                    | 15       | 0                             | 15                            | 0,0 %                          |
| Legionella pneumophila | 3        | 0                             | 3                             | 0,0 %                          |

soupravy *Mycoplasma* IgG na panelu potenciálně zkříženě reagujících vzorků

| <u>Kategorie</u>       | <u>n</u> | <u>Pozitivní<br/>výsledek</u> | <u>Negativní<br/>výsledek</u> | <u>Zkřížená<br/>reaktivita</u> |
|------------------------|----------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| RF                     | 16       | 0                             | 21                            | 0,0 %                          |
| EBV                    | 18       | 0                             | 21                            | 0,0 %                          |
| ANA                    | 22       | 0                             | 21                            | 0,0 %                          |
| Chlamydia pneumoniae   | 17       | 0                             | 22                            | 0,0 %                          |
| Bordetella pertussis   | 15       | 0                             | 16                            | 0,0 %                          |
| CMV                    | 15       | 0                             | 15                            | 0,0 %                          |
| Legionella pneumophila | 4        | 0                             | 3                             | 0,0 %                          |

Potenciální zkřížená reaktivita s jinými příbuznými patogeny a faktory je nevýznamná (méně než 5 %).



## Objednací údaje

### ELISA

| <u>Kód</u>   | <u>Název soupravy</u>       | <u>Počet testů</u> |
|--------------|-----------------------------|--------------------|
| MyA096       | EIA Mycoplasma IgA          | 96                 |
| MyG096       | EIA Mycoplasma IgG          | 96                 |
| MyM096       | EIA Mycoplasma IgM          | 96                 |
| MyAR96       | EIA Mycoplasma REC IgA      | 96                 |
| MyGR96       | EIA Mycoplasma REC IgG      | 96                 |
| MyMR96       | EIA Mycoplasma REC IgM      | 96                 |
| SK-MyA096    | SmartEIA Mycoplasma IgA     | 96                 |
| SK-MyG096    | SmartEIA Mycoplasma IgG     | 96                 |
| SK-MyM096    | SmartEIA Mycoplasma IgM     | 96                 |
| SK-MyAR96    | SmartEIA Mycoplasma REC IgA | 96                 |
| SK-SK-MyGR96 | SmartEIA Mycoplasma REC IgG | 96                 |
| SK-MyMR96    | SmartEIA Mycoplasma REC IgM | 96                 |

Soupravy SmartEIA jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji Agility.

### IMUNOBLOT

| <u>Kód</u> | <u>Název soupravy</u>        | <u>Počet testů</u> |
|------------|------------------------------|--------------------|
| MyAL20     | BLOT-LINE Mycoplasma IgA     | 20                 |
| MyGL20     | BLOT-LINE Mycoplasma IgG     | 20                 |
| MyML20     | BLOT-LINE Mycoplasma IgM     | 20                 |
| BD-MyAL24  | BlueBLOT-LINE Mycoplasma IgA | 24                 |
| BD-MyGL24  | BlueBLOT-LINE Mycoplasma IgG | 24                 |
| BD-MyML24  | BlueBLOT-LINE Mycoplasma IgM | 24                 |
| SwIm03     | Immunoblot Software          | 1                  |

Soupravy BlueBLOT-LINE jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji BlueDiver



FOLLOW US

BIOVENDOR.GROUP

## Objednací údaje

MICROBLOT-ARRAY

| <u>Kód</u> | <u>Název soupravy</u>          | <u>Počet testů</u> |
|------------|--------------------------------|--------------------|
| MyAMA48    | Microblot-Array Mycoplasma IgA | 48                 |
| MyGMA48    | Microblot-Array Mycoplasma IgG | 48                 |
| MyMMA48    | Microblot-Array Mycoplasma IgM | 48                 |

**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