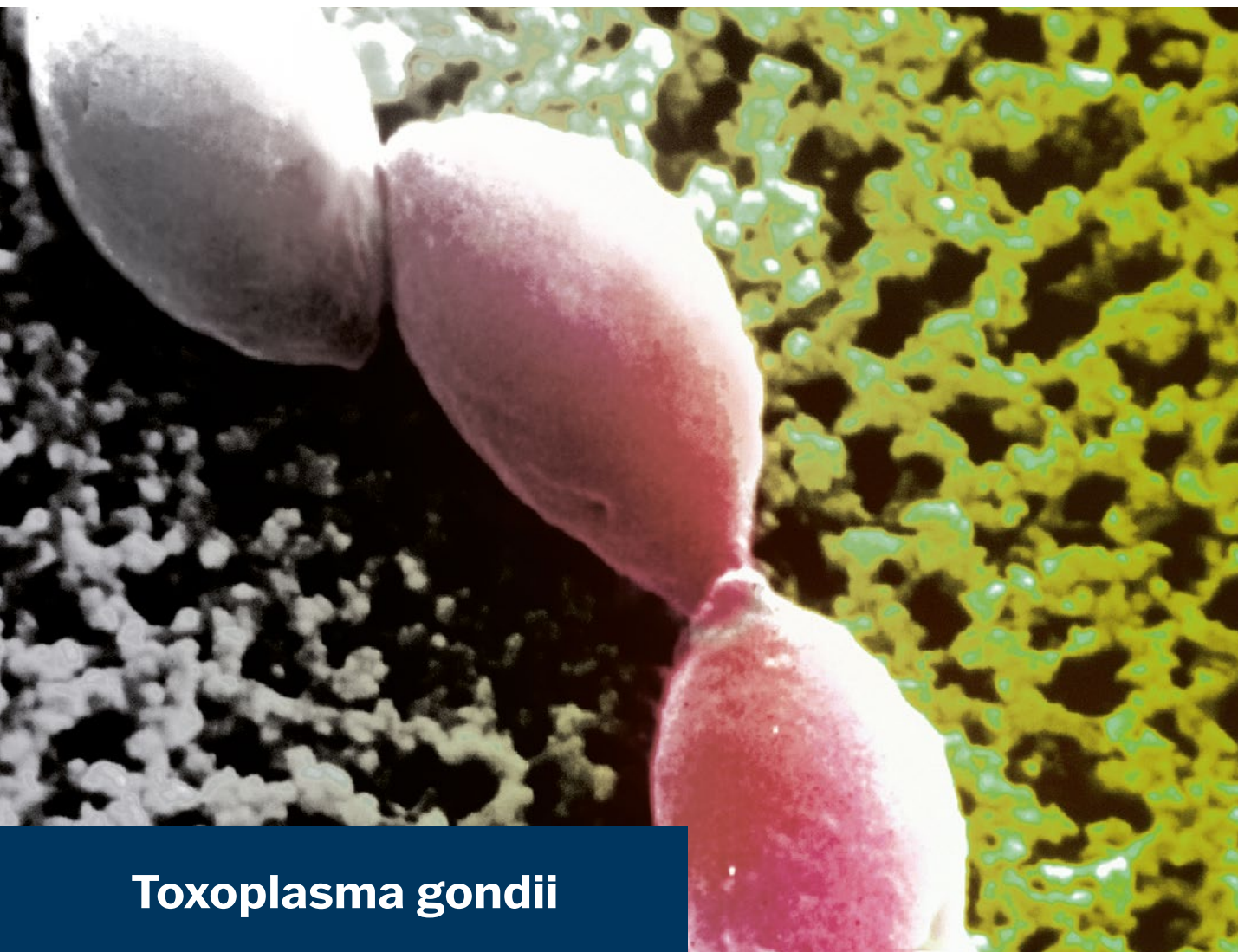




Toxoplasma gondii

Imunoenzymatické soupravy k diagnostice toxoplazmózy

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



Diagnostické soupravy jsou určeny
pro profesionální použití v laboratoři.



Úvod

Toxoplazmóza je parazitární onemocnění, jehož původcem je prvok *Toxoplasma gondii*. Jedná se o parazita se složitým vývojovým cyklem, který se vyskytuje v několika morfologicky odlišných stádiích. Primárním hostitelem jsou kočkovité šelmy. Člověk a ostatní teplokrevní obratlovci se mohou nakazit buď primárně infikovanou potravou (nedostatečně tepelně upravené maso) nebo pozřením oocyst (znečištěné prsty, předměty atd.).

Získaná toxoplazmóza probíhá u imunokompetentních jedinců obvykle asymptomaticky nebo jen s mírnými příznaky (lymfadenopatie, subfebrilie, únava) a bez následků. Závažnější projevy onemocnění (encefalitida, hepatitida, myokarditida, generalizovaná forma) mohou nastat u imunokompromitovaných jedinců, kteří jsou navíc ohroženi i reaktivací latentní infekce.

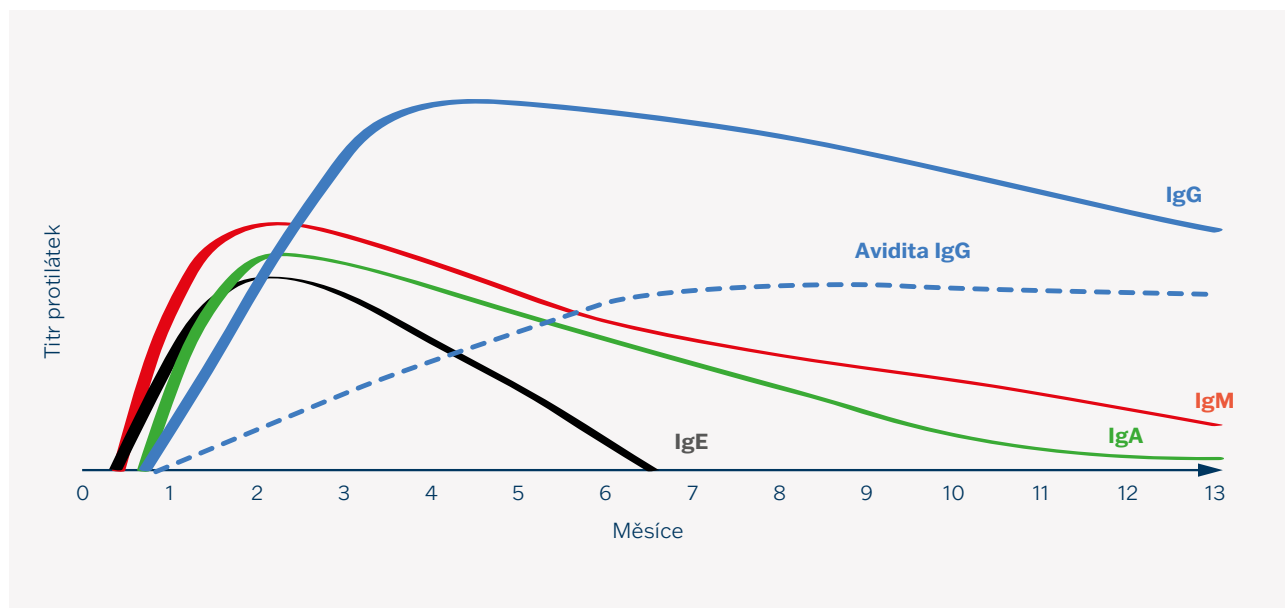
Vrozená toxoplazmóza je způsobena přenosem infekce z matky na plod. Primoinfekce matky krátce před otěhotněním nebo v graviditě může vést k abortu, porodu mrtvého dítěte nebo porodu dítěte s různým stupněm poškození (kalcifikace mozku, hydrocefalus, poruchy zraku, ovlivnění duševního vývoje).

Diagnostika onemocnění

Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obrazu, epidemiologické anamnéze a laboratorních testech. Přímá detekce parazita není dostupná pro rutinní diagnostiku. Významnou roli v diagnostice hraje sérologie.

Významnou roli v diagnostice hraje sérologie – stanovení specifických protilátek třídy IgA, IgE, IgM a IgG metodou ELISA, případně konfirmační metodou IMUNO-BLOT.

Protilátková odpověď



ELISA

IgM protilátky:

- Vysoce senzitivní marker akutní infekce
- Mohou přetrvávat déle než rok po prodělání akutní infekce

IgA protilátky:

- Senzitivní a specifický marker akutní infekce
- Přetrvávají 6-9 měsíců po prodělání akutní infekce

IgE protilátky:

- Vysoce specifický marker akutní infekce
- Přetrvávají méně než 6 měsíců po prodělání akutní infekce

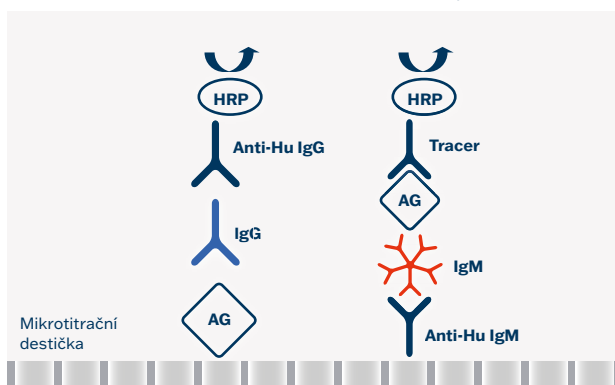
IgG protilátky:

- Přetrvávají dlouhodobě (mnoho let)
- Zajišťují ochranu před novou infekcí
- Stanovení avidity umožňuje přesnější určení fáze onemocnění

Princip testu

Sandwich ELISA

Capture ELISA



Antigeny

Purifikovaný a inaktivovaný nativní antigen
T. gondii (RH kmen)

Použití souprav

- Diagnostika toxoplazmózy: vhodná je kombinace stanovení celkových a specifických protilátek třídy IgA, IgE, IgM a IgG včetně testu avidity

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 60 min. při 37 °C
	4. Odsátí a promytí jamek 5 krát
	5. Dávkování Konjugátu nebo Traceru 100 µl - blank = prázdná jamka
	6. Inkubace 60 min. při 37 °C
	7. Odsátí a promytí jamek 5 krát
	8. Dávkování substrátu (TMB-Complete) 100 µl - včetně blanku
	9. Inkubace 30 min. při 37 °C
	10. Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl - včetně blanku
	11. Fotometrické měření při 450 nm

Uživatelský komfort

- Komponenty v pracovním ředění
- Barevně odlišené reagentie
- Zaměnitelnost komponent
- Barevně značené stripy s odlamovacími jamkami
- CUT-OFF kontrola
- Semikvantitativní hodnocení výsledků (Index pozitivity-IP)
- Kalibrátory (EIA Toxoplasma IgG)
- Kvantitativní hodnocení výsledků IgG (IU/ml)

Výhody souprav

- Vysoká diagnostická účinnost
- Dobrá reprodukovatelnost
- Vysoká dynamika testů
- Identický pracovní postup
- Celková doba vyšetření 1,5 hodiny
- Aviditní test (EIA Toxoplasma IgG)
- Capture metoda (EIA Toxoplasma IgA, IgE, IgM)
- Vhodné pro otevřené automatické systémy
- Možnost nezávislé verifikace (CKS)
- Komplexní zákaznický servis

Charakteristiky souprav

ELISA	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
EIA Toxoplasma IgA	96,9 %	99,0 %
EIA Toxoplasma IgE	96,9 %	99,0 %
EIA Toxoplasma IgG	98,9 %	99,2 %
EIA Toxoplasma IgM	96,4 %	97,9 %

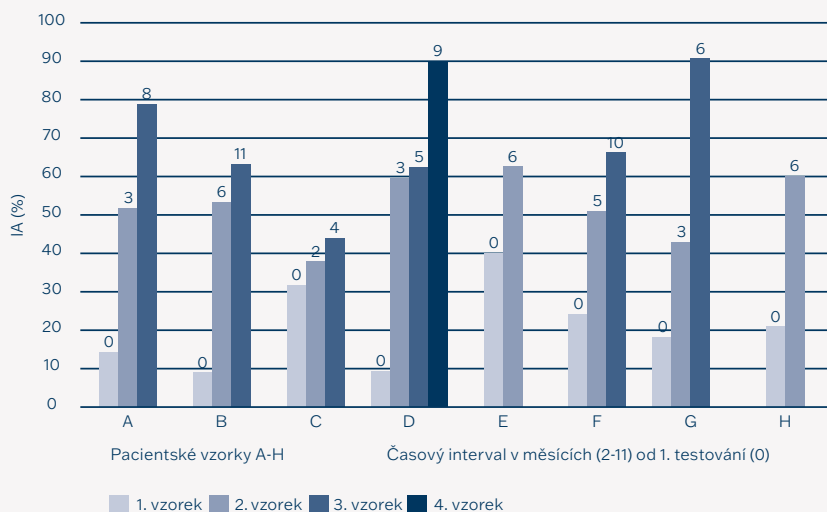
Avidita

Stanovení avidity protilátek IgG

Avidita protilátek vyjadřuje pevnost vazby mezi antigenem a protilátkou. Při primární infekci se tvoří nejprve protilátky s nízkou aviditou. V průběhu infekce imunitní odpověď organismu vyvrstává a avidita protilátek narůstá. V latentní fázi onemocnění jsou protilátky vysoce

avidní a při sekundární infekci nebo reaktivaci produkují paměťové B-buňky ihned IgG protilátky s vysokou aviditou.

Stanovení avidity protilátek IgG umožňuje přesnější určení fáze nákazy.



Klinická data

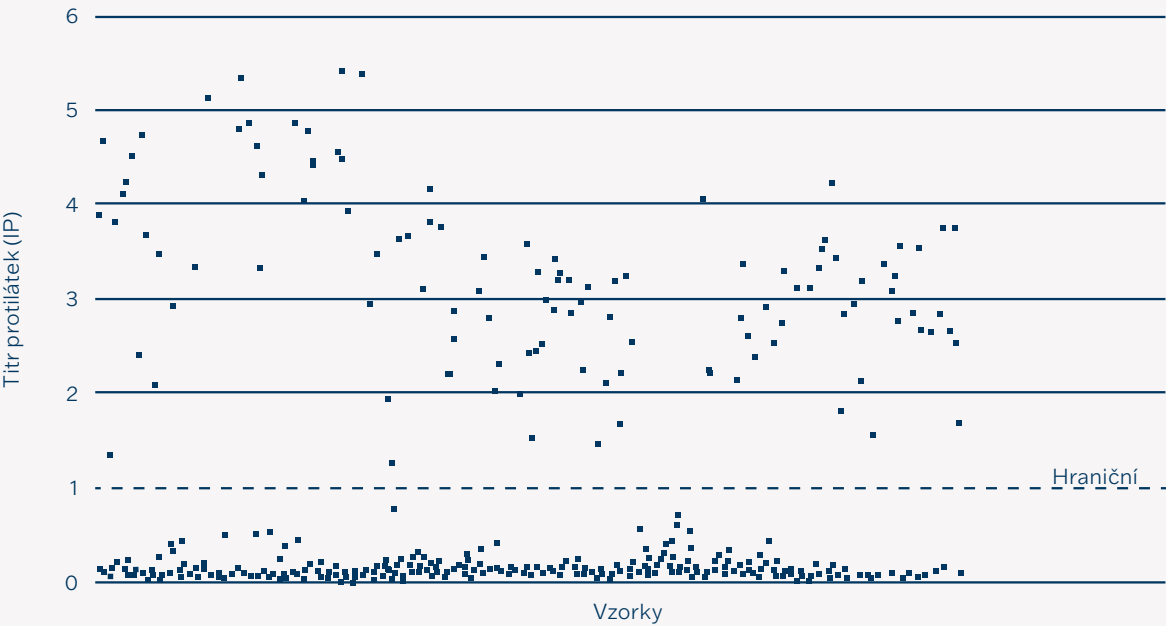
Séroprevalence a dynamika protilátek třídy IgG u dárců krve (ČR)

Dárci krve (n = 483)

Pozitivní (n = 119) (séroprevalence)	Negativní (n = 364)
---	------------------------

25%

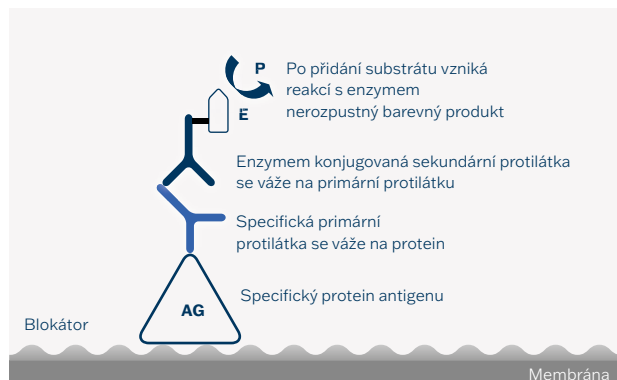
75%



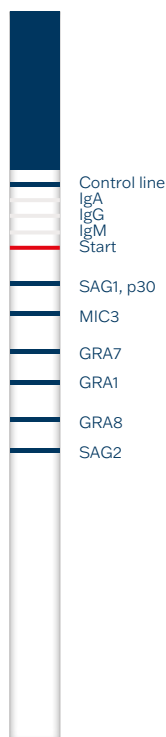
IMUNOBLOT

Princip testu

Rekombinantní a vysoce purifikované antigeny jsou naneseny na nitrocelulózovou membránu.



Antigeny



SAG1 p30; vysoce imunogenní povrchový antigen, který se účastní aktivace silné imunitní odpovědi tachyzoitů během akutní fáze toxoplazmózy.

Dobrý serologický marker anti-T. gondii protilátek v akutní a chronické fázi infekce; vysoké titry IgG, IgM a IgA.

MIC3 p90; silný adhezín a patří k významným vakcinačním kandidátům. Jde o dimerický 90 kDa mikronemální protein bohatý na cystein. Je exprimován v tachyzoitu, bradyzoitu a sporozoitu a má skvělé imunitní vlastnosti.

GRA1 p24; vysoce imunogenní protein, jehož reaktivita do značné míry koreluje s chronickou fází onemocnění.

GRA7 p29; exprimován ve všech infekčních formách toxoplazmy. Vyvolává silnou protilátkovou odpověď akutní fáze infekce. Je považován za významný diagnostický nástroj, vhodný i pro chronickou fázi infekce.

GRA8 p35; vysoce imunogenní protein, vhodnější pro diagnostiku akutní toxoplazmózy než chronické infekce.

SAG2 p22; hlavní povrchový protein, známý jako vazebný ligand, který se vyznačuje dobrou antigenicitou a imunogenitou. Efektivní při detekci IgG protilátek u pacientů s akutní toxoplazmózou.

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 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

- Diagnostika toxoplazmové infekce; konfirmační test ELISA vyšetření
- Podrobné stanovení přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům T. gondii
- Stanovení kongenitální toxoplazmózy
 - porovnání imunitního profilu sér matky a dítěte

Uživatelský komfort

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

Interpretace výsledků

<u>IgE</u>	<u>IgA</u>	<u>IgM</u>	<u>IgG</u>	<u>Hodnocení</u>
-	-	+	-	Akutní infekce (zřídka)
+	+	+	slabě +	Akutní infekce
+	+	+	+	Akutní infekce
-	+	+	+	Akutní infekce nebo postakutní stav
-	slabě +	+	+	Postakutní stav
-	-	+	+	Postakutní stav nebo latentní infekce
-	-	-	+	Latentní infekce
-	-	-	-	Přítomnost protilátek neprokázána

Charakteristiky souprav

<u>Imunoblot</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE Toxoplasma IgA	95,2 %	99,1 %
BLOT-LINE Toxoplasma IgG	95,6 %	98,0 %
BLOT-LINE Toxoplasma IgM	95,6 %	98,0 %

Výhody souprav

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

Objednací údaje

ELISA

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
TgA096	EIA Toxoplasma IgA	96
TgE096	EIA Toxoplasma IgE	96
TgG096	EIA Toxoplasma IgG	96
TgM096	EIA Toxoplasma IgM	96
SK-TgA096	SmartEIA Toxoplasma IgA	96
SK-TgE096	SmartEIA Toxoplasma IgE	96
SK-TgG096	SmartEIA Toxoplasma IgG	96
SK-TgM096	SmartEIA Toxoplasma IgM	96

Soupravy SmartEIA jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji Agility®.

IMUNOBLOT

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
TgAL20	BLOT-LINE Toxoplasma IgA	20
TgGL20	BLOT-LINE Toxoplasma IgG	20
TgML20	BLOT-LINE Toxoplasma IgM	20

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

Křižíkova 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