

## Cytomegalovirus

# Imunoenzymatické soupravy k diagnostice cytomegalovirové infekce

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



## Úvod

Lidský cytomegalovirus (CMV, Human Herpesvirus 5, HHV 5) náleží do skupiny herpesvirů. K primární infekci lidským CMV dochází nejčastěji v dětství či adolescenci, a to různými způsoby přenosu (respirační, urogenitální). Klinický průběh je obvykle asymptomatický či mírný (zvýšená teplota, únava, symptomy mononukleózy). Po primární infekci CMV vstupuje virus do latentní fáze a následná reaktivace (sekundární infekce) nastupuje v závislosti na změnách ve vztazích mezi hostitelem a virem (těhotenství, vážné onemocnění, stres, imunosupresivní léčba). K reinfekci může dojít jiným kmenem CMV. Závažné riziko představuje primární infekce CMV v průběhu těhotenství. U imunokompromitovaných lidí (AIDS, transplantovaní apod.) se většinou vyvíjí symptomatické onemocnění s postižením různých orgánů, nezdědka s fatálními důsledky.

## Diagnostika onemocnění

Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obrazu a laboratorních testech.

Při laboratorní diagnostice CMV jsou nejčastěji využívány sérologické metody stanovení specifických protilátek třídy IgA, IgM, IgG a jejich avidity metodou ELISA.

### Diagnostický význam specifických protilátek

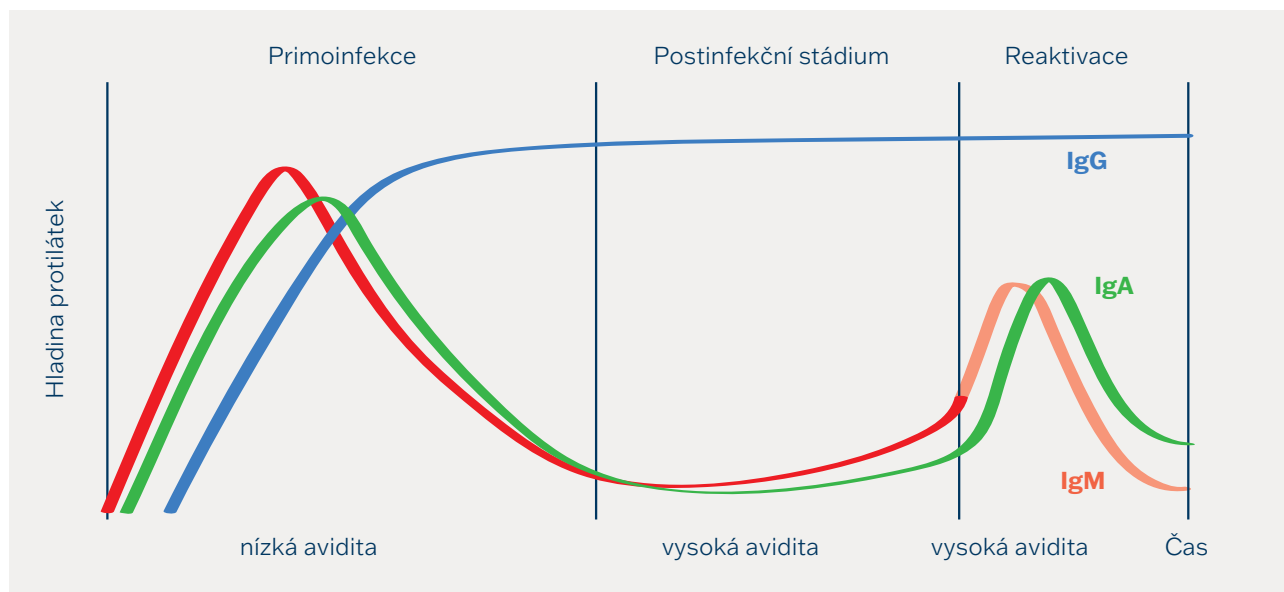
**IgA:** Protilátky třídy IgA jsou ukazatelem aktivní infekce, tj. primoinfekce a reaktivace. Při reaktivaci dochází k produkci protilátek tříd IgA, která může, ale často není provázena nálezem specifických IgM. Protilátky třídy IgA tak mají velký význam pro potvrzení reaktivace CMV při současném výskytu IgG protilátek.

**IgM:** Hladina IgM protilátek se obvykle zvyšuje několik týdnů po infekci a posléze pomalu klesá během 4 až 6 měsíců. U imunodeficientních pacientů se mohou vyskytovat v nízkých hladinách až dva roky po infekci. Samotným průkazem IgM protilátek nelze rozlišit primární a sekundární infekci, protože reaktivace může také indukovat jejich syntézu.

**IgG:** Specifické IgG protilátky jsou detekovatelné cca 1 týden po vzestupu IgM a IgA protilátek. Jejich sérokonverze (vzestup titru) indikuje primární infekci. K rozlišení primární infekce od reaktivace slouží stanovení avidity IgG protilátek, což je důležité pro posouzení rizika kongenitální nákazy.

Detekce IgG protilátek je také zavedena jako standardní metoda pro identifikaci CMV pozitivních osob u screeningu dárců.

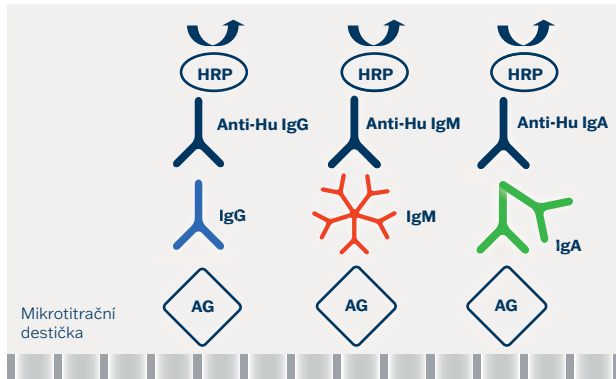
## Protilátková odpověď



# ELISA

## Princip testu

Soupravy jsou založeny na sendvičovém typu ELISA metody.



## Pracovní postup

Krok

Kroky testu

	<b>1.</b> Ředění vzorků – séra/plazmy 1:101 (10 µl + 1 ml) – mozkomíšní moky 1:3 (50 µl + 100 µl)
	<b>2.</b> Dávkování kontrol a ředěných vzorků 100 µl – blank = prázdná jamka
	<b>3.</b> Inkubace 30 min. při 37 °C
	<b>4.</b> Odsátí a promytí jamek 5 krát
	<b>5.</b> Dávkování Konjugátu 100 µl – blank = prázdná jamka
	<b>6.</b> Inkubace 30 min. při 37 °C
	<b>7.</b> Odsátí a promytí jamek 5 krát
	<b>8.</b> Dávkování substrátu (TMB-Complete) – včetně blanku
	<b>9.</b> Inkubace 30 min. při 37 °C
	<b>10.</b> Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl – včetně blanku
	<b>11.</b> Fotometrické měření při 450 nm

## Antigeny

Purifikovaný a inaktivovaný antigen z kmene AD 169 s vysokým obsahem specifických imunodominantních epitopů

## Použití souprav

- Vyhledávací vyšetření specifických IgA, IgG a IgM protilátek v lidském séru nebo plazmě
- Semikvantitativní vyhodnocení je vhodné pro sledování úspěšnosti terapie
- Diagnostika fáze onemocnění

## Uživatelský komfort

- Komponenty v pracovním ředění
- Barevně odlišené reagentie
- Zaměnitelnost komponent
- Barevně značené stripky s odlamovacími jamkami
- CUT-OFF kontrola a kalibrátory
- Semikvantitativní hodnocení výsledků (Index pozitivita-IP) nebo kvantitativní hodnocení výsledků (U/ml)

## Výhody souprav

- Vysoká diagnostická účinnost
- Dobrá reprodukovatelnost
- Vysoká dynamika testů
- Identický pracovní postup
- Celková doba vyšetření 1,5 hodiny
- Možnost stanovení v mozkomíšním moku
- Možnost kvantitativního stanovení (EIA CMV IgG)
- Aviditní test (EIA CMV IgG)
- Ředící roztok vzorků obsahuje RF sorb (EIA CMV IgM)
- Vhodné pro otevřené automatické systémy
- Možnost nezávislé verifikace (CKS)
- Komplexní zákaznický servis

## Charakteristiky souprav

ELISA	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
EIA CMV IgA	94,7 %	95,8 %
EIA CMV IgG	98,8 %	98,9 %
EIA CMV IgM	98,5 %	98,9 %

Soupravy jsou validovány na panelu společnosti BBI Diagnostic A Boston Biomedica Company, USA.

## Interpretace výsledků

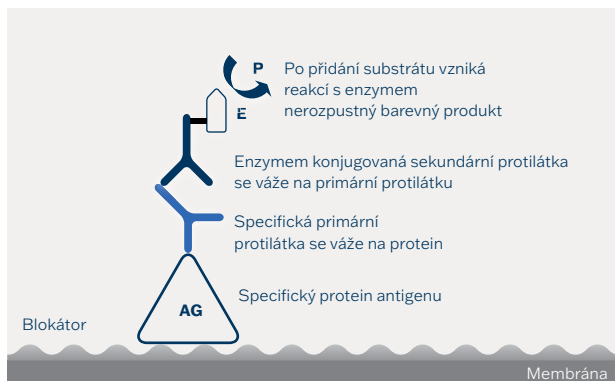
IgA	IgM	IgG	Avidita	Interpretation
-	-	-	Nestanovuje se	Negativní výsledek
+	+	-	Nestanovuje se	Primoinfekce
+	+	+	Nízká	Primoinfekce
+	(+)	+	Vysoká	Postakutní stádium nebo reaktivace
-	-	+	Vysoká	Dříve prodělaná infekce



# IMUNOBLLOT

## Princip testu

Rekombinantní a vysoce purifikované antigeny jsou naneseny na nitrocelulózovou membránu.



## Antigeny



### **p150** Tegument protein UL32

Silný imunogen pozdní fáze infekce (late antigen), nevyskytuje se v časně fázi. V IgG třídě detekovatelný ve vyšších titrech i u reaktivace

### **p65** Tegument protein UL83

V IgM třídě – jeden z markerů časně fáze infekce

V IgG třídě – spíše typický pro pozdní fázi, případně reaktivaci infekce

### **p52** CM2 protein; UL44

V IgM – významný marker časně fáze primoinfekce

V IgG třídě – reaktivita spíše v pozdní fázi, případně reaktivaci infekce

### **p28** Tegument protein UL99

Silný imunogen, může se vyskytovat v pozdních fázích infekce

## 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 – séra/plazmy 1:51 (30 $\mu$ l + 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

- Podrobné stanovení přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům Cytomegaloviru
- Konfirmace sporných výsledků
- Konfirmační test ELISA vyšetření

## Uživatelský komfort

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

## Interpretace výsledků

	<u>IgM</u>				<u>IgG</u>			
	p150	p65	p52	p28	p150	p65	p52	p28
Časná primoinfekce	-	+	+	-	-	-	-	-
Primoinfekce	(+)	+	+/-	(+)	-	(+)	(+)	(+)
Pozdní primoinfekce	+	+/-	+/-	(+)	+	+	+	(+)
Perzistence infekce	-	-	-	-	+	+	+	(+)
Reaktivace	+/-	+	+	(+)	+	+	+	(+)

## Charakteristiky souprav

<u>Imunoblot</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
CMV IgG	95,9 %	99,0 %
CMV IgM	96,5 %	99,0 %

## Výhody souprav

- Identický pracovní postup
- Jednoduchá interpretace a reprodukovatelnost výsledků
- Sofistikovaný vyhodnocovací software
- Vysoká diagnostická účinnost
- Vhodné pro automatické systémy
- Komplexní zákaznický servis



FOLLOW US

BIOVENDOR.GROUP

## Objednací údaje

### ELISA

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
CMA096	EIA CMV IgA	96
CMG096	EIA CMV IgG	96
CMM096	EIA CMV IgM	96
SK-CMA096	SmartEIA CMV IgA	96
SK-CMG096	SmartEIA CMV IgG	96
SK-CMM096	SmartEIA CMV IgM	96
xxxTLN	CKS negativní (dle seznamu na <a href="http://www.testlinecd.cz">www.testlinecd.cz</a> )	3,5 ml
xxxTLP	CKS pozitivní (dle seznamu na <a href="http://www.testlinecd.cz">www.testlinecd.cz</a> )	3,5 ml

Soupravy SmartEIA jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji Agility.

### IMUNOBLOT

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
CMGL20	BLOT-LINE CMV IgG	20
CMML20	BLOT-LINE CMV IgM	20

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

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



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