

Lymeská borrelióza a anaplasmóza

Imunoenzymatické soupravy k diagnostice lymeské borreliózy a anaplasmózy

ELISA, IMUNOBLOT a MICROBLLOT-ARRAY soupravy ke stanovení specifických protilátek třídy IgG a IgM v lidském séru, plazmě, mozkomíšním moku nebo synoviální tekutině



Diagnostické soupravy jsou určeny
pro profesionální použití v laboratoři.



Úvod

Lymeská borrelióza je multisystémové infekční onemocnění vyvolané spirochetou *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Infekce je přenášena klíšťaty rodu Ixodes.

Klinické projevy lymeské borreliózy rozlišujeme na časné a pozdní.

Fáze lymeské borreliózy

Časná lokalizovaná fáze – trvá řádově dny až týdny. Charakteristickým projevem je erythema migrans (EM), které se vytváří pouze v 50 % případů. Nemoc se většinou na počátku projevuje chřipkovými příznaky, bolestmi hlavy, lymfadenitidou.

Časná diseminovaná fáze – trvá přibližně týdny až měsíce. Dochází k hematogenní a lymfogenní diseminaci borrelií (CNS, klouby, srdce, oko, kůže – sekundární EM). V této fázi jsou nejčastěji diagnostikovány neuroborrelióza, paresa neurofacialis, borreliový lymfocytom (vytváří se na ušních lalůčkách, kloubech prstů) a Bannwarthův syndrom.

Pozdní diseminovaná fáze – trvá měsíce až roky. Nastávají imunopatologické změny. Diagnosticky typické jsou acrodermatitis chronica atrophicans (chronická kožní léze – ACA), chronická neuroborrelióza, borreliová artritida.

Výsledky četných studií ukazují, že všechna genospecies *Borrelia burgdorferi* sensu lato se podílejí nejen na vzniku EM, ale také na celé šíři klinických manifestací. Avšak četnost izolací naznačuje, že *B. burgdorferi* sensu stricto má převážně vztah ke kloubním postižením, *B. garinii* je spojována s neurologickými symptomy a *B. afzelii* s chronickými kožními projevy, zejména ACA.

Lidská granulocytární anaplazmóza (HGA) je onemocnění vyvolané bakterií *Anaplasma phagocytophilum*. Přenašečem u nás je klíště obecné – *Ixodes ricinus*. Při sání krve klíštětem se bakterie dostane do krevního oběhu hostitele, kde napadá krevní buňky.

Klinické příznaky se obvykle rozvinou do jednoho týdne po napadení klíštětem. Onemocnění se může manifestovat od asymptomatických forem po závažné formy s komplikacemi respiračními, gastrointestinálními, renálními, neurologickými atd.

Projevuje se nejprve horečnatým stavem po kousnutí klíštětem trvajícím minimálně 3 až 7 dní.

Dalšími projevy pak mohou být kožní změny (asi ve 20 % případů) a nespecifické symptomy, které mohou být podobné lymeské borrelióze. Patří mezi ně zvětšené uzliny, bolesti hlavy, svalů, horečka, nevolnost, zvracení a abdominální potíže, časté bývají i parésy. K závažným stavům a komplikacím dochází především u imunodeficitních pacientů, u transplantovaných osob a pacientů bez sleziny.

Jde o onemocnění především akutní, některé těžší případy, neléčené včas, přechází do stavu chronického a mohou ohrožovat i život pacienta. Muži onemocní touto chorobou častěji než ženy (4:1).

Diagnostika onemocnění

Diagnostika borreliózy je založena na klinickém obraze, anamnéze a laboratorních testech. V současné době je nejvhodnější diagnostickou metodou screeningové stanovení hladiny specifických protilátek třídy IgG a IgM metodou ELISA a následná konfirmace přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům pomocí metody imunoblot. Přímý kultivační nebo elektronoprotický průkaz není vhodný pro rutinní praxi.

Serologická diagnostika borreliózy je složitá vzhledem k různým faktorům, jako je velká genetická diverzita druhu *Borrelia burgdorferi* s.l., možná zkřížená reaktivita s nepříbuznými antigeny jiných mikroorganismů, bohatost borrelií na heat shock proteiny. Diagnostiku komplikují rovněž velké rozdíly sérologické reaktivity různých jedinců a její ovlivnění antibiotickou terapií. Tvorba protilátek v časně fázi může být extrémně pomalá, na druhé straně IgG i IgM protilátky mohou přetrvávat deset i více let.

Diagnostika HGA pouze na základě klinických příznaků je velmi obtížná. Proto je nezbytné celkové zhodnocení jak klinických příznaků, tak i laboratorních nálezů. Charakteristickými laboratorními nálezy jsou leukopenie, trombocytopenie a zvýšení jaterních transamináz. Specifické protilátky se začínají tvořit 2 týdny od začátku onemocnění, v akutní fázi onemocnění jsou však detekovatelné pouze u 30–60 % pacientů. V průběhu rekonvalescence je pozitivních 70–90 % vzorků.

Dvoustupňové stanovení anti-borreliových protilátek

Protilátky třídy IgM a IgG se stanovují ve dvou stupních testů. V 1. stupni nejprve ELISA metoda rozdělí vzorky dle pozitivních či negativních výsledků. Pozitivní a hraniční výsledky jsou doporučeny confirmovat imunoblotem. Pokud je výsledek testu negativní a příznaky infekce přetrvávají, následuje kontrolní odběr za 2–3 týdny. Sérologický nález je vhodné interpretovat v kontextu s výsledky ostatních laboratorních testů a s klinickým obrazem pacienta.

Jestliže je ve vstupním testu použita souprava třetí generace, dochází díky vysoké specifitě rekombinantních souprav ke snížení počtu negativních výsledků imunoblotů.

1. stupeň: Vstupní test protilátek třídy IgM a IgG metodou ELISA

Pozitivní nebo hraniční výsledek testu

Negativní výsledek

2. stupeň: Konfirmace imunoblotem ve třídě IgM, IgG

Pozitivní výsledek
testu

Hraniční výsledek
testu

Negativní výsledek
testu

- Neprokázána přítomnost protilátek v testovaném vzorku.
- V případě trvání příznaků infekce provést kontrolní odběr za 2-3 týdny.

Diagnózu určuje lékař na základě **celkového klinického nálezu pacienta**, nikoli pouze ze sérologického výsledku testu odebraného vzorku.

Dvoustupňové stanovení protilátek (upraveno dle MiQ 12 2000 Lyme borreliosis, B. Wilske et al.)



Erythema migrans



Borreliový lymfocytom

Senzitivita sérologie pro různé fáze lymeské borreliózy

<u>Fáze lymeské borreliózy</u>	<u>Forma</u>	<u>Senzitivita dle MIQ</u>
Časná lokalizovaná	Erythema migrans	20–50 %
	Borreliový lymfocytom	
Časná diseminovaná	Erythema migrans multiple	70–90 %
	Neuroborrelióza	
	Lymeská artritida a kardiitida	
Pozdní diseminovaná	Acrodermatitis chronica atrophicans	90–100 %
	Late Chronická neuroborrelióza	

Specifické antigeny Borrelia

<u>Antigen</u>	<u>Popis</u>
VlsE Ba VlsE Bg VlsE Bs	Variable major protein-like sequence, expressed; signifikantní pro IgG protilátkovou odpověď, druhově specifický antigen
p83	Hlavní extracelulární protein (produkt rozpadu p100)
p58	OppA-2 (Oligopeptidová permeáza 2) – membránový transportér, je považovaný za marker diseminovaného stadia Lymeské borreliózy
p41 Ba p41 Bs	Vnitřní část flagelinu, vysoce specifický antigen rané protilátkové odpovědi
p39	BmpA (glykosaminopeptidový receptor) – marker pozdní IgG protilátkové odpovědi
OspB	Vnější povrchový protein B, marker pozdní fáze infekce, považován za marker Lymeské arthritidy
OspA Ba OspA Bg OspA Bs	Vnější povrchový protein A, vysoce specifický marker infekce Borrelie v IgG třídě
OspC Ba OspC Bg OspC Bs OspC Bsp	Vnější povrchový protein C, hlavní antigen časně protilátkové odpovědi, imunodominantní marker IgM protilátkové odpovědi
OspE	Vnější povrchový protein E
NapA	Neutrofilní aktivační protein A – silný imunogen, hlavní marker patogeneze Lymeské arthritidy
p17	DbpA (decorin-binding protein A) - vnější membránový protein

Ba – B. afzelii, Bg – B. garinii, Bs – B. burgdorferi sensu stricto, Bsp – B. spielmanii

Specifické antigeny Anaplasma

<u>Antigen</u>	<u>Popis</u>
p44	hlavní marker HGA protilátkové odpovědi
OmpA	Vnější membránový protein A; lipoprotein asociovaný s peptidoglykany, významný marker virulence
Asp62	Povrchový protein – membránový přenašeč

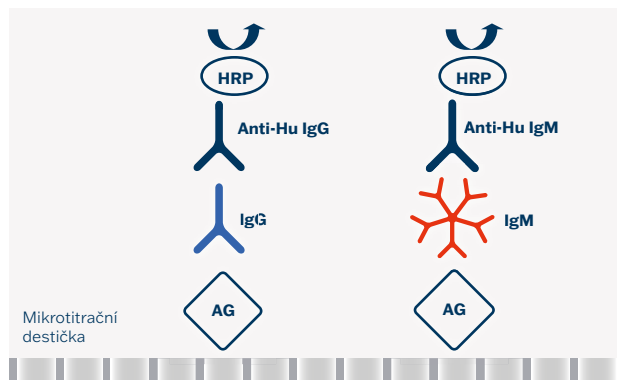
Zkříženě reagující antigeny

<u>Antigen</u>	<u>Popis</u>
TpN17	Vysoce specifický membránový protein <i>Treponema pallidum</i> (IgG)
VCA-p18	Viral Capsid Antigen p18 – důležitý marker EBV infekce (IgM)


ELISA

Princip testu

Soupravy jsou založeny na sendvičovém typu ELISA metody.



Pracovní postup

Krok	Kroky testu
	1. Ředění vzorků – séra/plazmy 1:101 (10 µl + 1 ml) – mozkomíšní moky 1:2 (110 µl + 110 µl) – synoviální tekutiny 1:21 (20 µl + 400 µl), 1:41 (10 µl + 400 µl)
	2. Dávkování kontrol a ředěných vzorků 100 µl – blank = prázdná jamka
	3. Inkubace 30 min. při 37 °C
	4. Odsátí a promytí jamek 4 krát
	5. Dávkování Konjugátu 100 µl – blank = prázdná jamka
	6. Inkubace 30 min. při 37 °C
	7. Odsátí a promytí jamek 5 krát
	8. Dávkování substrátu (TMB-Complete) 100 µl – včetně blanku
	9. Inkubace 15 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 reagensie
- Zaměnitelnost komponent
- Barevně značené stripy s odlamovacími jamkami
- CUT-OFF kontrola
- Semikvantitativní hodnocení výsledků (Index pozitivity-IP)

Výhody souprav

- Vysoká diagnostická účinnost
- Dobrá reprodukovatelnost
- Vysoká dynamika testů
- Vysoká shoda s výsledky IMUNOBLOT
- Eliminace zkřížených reakcí s *Treponema pallidum*
- Identický pracovní postup
- Celková doba vyšetření 1,5 hodiny
- Vhodné pro otevřené automatické systémy
- Možnost nezávislé verifikace (CKS)
- Komplexní zákaznický servis

Použití souprav

- Screeningové vyšetření protilátek proti *Borrelia burgdorferi* v lidském séru, plazmě, mozkomíšním moku nebo synoviální tekutině
- Stanovení intratekální syntézy, diagnostika neuroborreliózy (EIA *Borrelia recombinant*)

Antigeny

EIA *Borrelia* recombinant IgG

Vybrané rekombinantní fragmenty specifických antigenů *Borrelia burgdorferi* sensu lato VlsE (Ba, Bg, Bs), p83, p58, p41i (interní flagelin), p39, OspA (Ba, Bg), OspB, OspC (Ba, Bg), OspE, p17, NapA

EIA *Borrelia* recombinant IgM

OspC (Ba, Bg, Bs, Bsp), VlsE, p41i (interní flagelin), p39, p17, OspE

EIA *Borrelia afzelii* VlsE IgG, EIA *Borrelia afzelii* IgM

Sonifikovaný celobuněčný antigen kmene *Borrelia afzelii* s vysokým obsahem p83, p41 (flagelin), p39, OspA, OspC, p19, obohacený ve třídě IgG o VlsE antigen

EIA *Borrelia garinii* VlsE IgG, EIA *Borrelia garinii* IgM

Sonifikovaný celobuněčný antigen kmene *Borrelia garinii* s vysokým obsahem p83, p41 (flagelin), p39, OspA, OspC, p18 a p14, obohacený ve třídě IgG o VlsE antigen

EIA *Borrelia b. sensu stricto* VlsE IgG,

EIA *Borrelia b. sensu stricto* IgM

Sonifikovaný celobuněčný antigen kmene *Borrelia burgdorferi* sensu stricto s vysokým obsahem p83, p41 (flagelin), p39, OspA, OspB, OspC, p21 a p18, obohacený ve třídě IgG o VlsE antigen

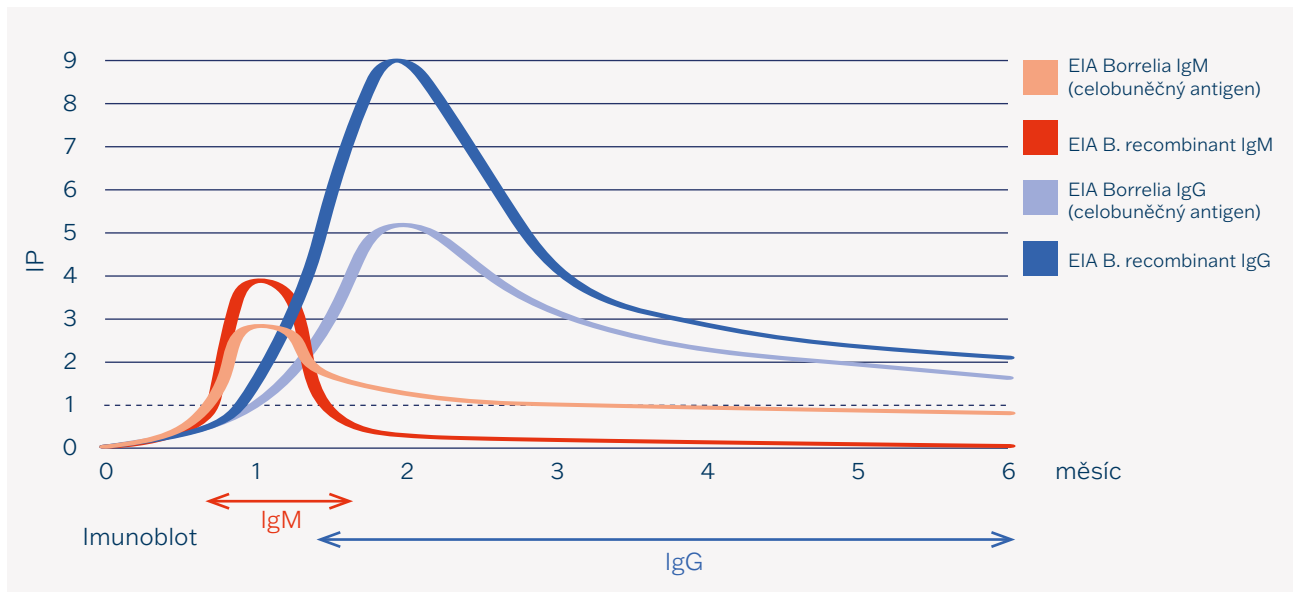
EIA *Borrelia* VlsE IgG, EIA *Borrelia* IgM

Zahrnuje antigeny všech hlavních patogenních kmenů borrelií, byl připraven kultivací 3 vybraných druhů (Bg, Ba, Bs), obohacený ve třídě IgG o VlsE antigeny

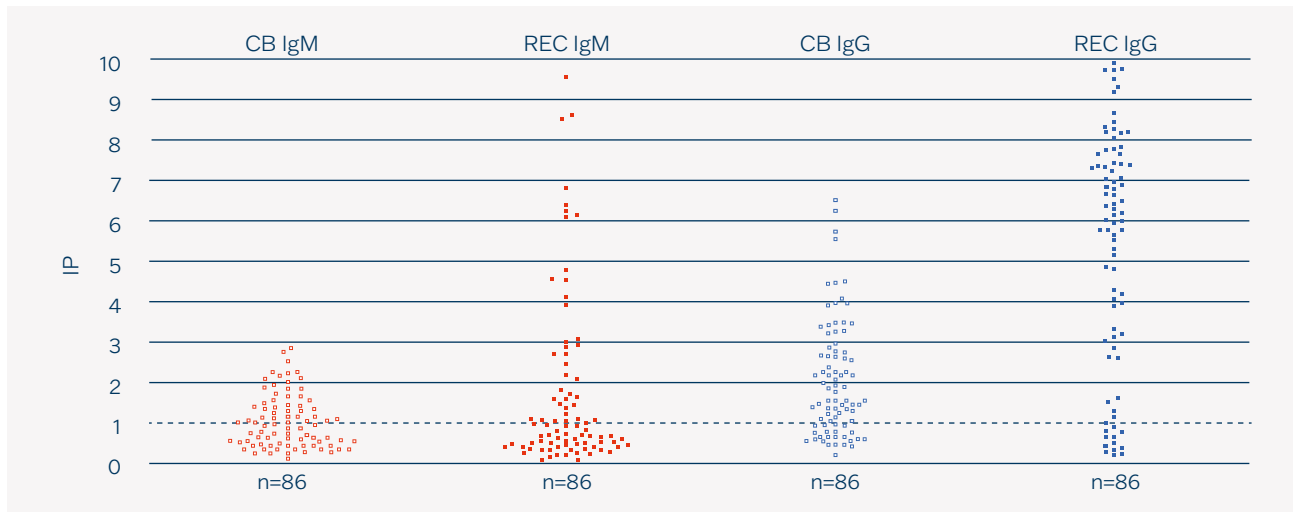
Charakteristiky souprav

<u>ELISA</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
EIA <i>Borrelia</i> recombinant IgG	98,3 %	98,1 %
EIA <i>Borrelia</i> recombinant IgM	99,1 %	97,3 %
EIA <i>Borrelia afzelii</i> VlsE IgG	98,9 %	98,9 %
EIA <i>Borrelia afzelii</i> IgM	95,6 %	99,0 %
EIA <i>Borrelia b. sensu stricto</i> VlsE IgG	98,9 %	98,9 %
EIA <i>Borrelia b. sensu stricto</i> IgM	97,5 %	98,9 %
EIA <i>Borrelia garinii</i> VlsE IgG	98,9 %	99,0 %
EIA <i>Borrelia garinii</i> IgM	95,7 %	98,9 %
EIA <i>Borrelia</i> VlsE IgG	98,9 %	99,0 %
EIA <i>Borrelia</i> IgM	97,5 %	98,9 %

Protilátková odpověď



Dynamika protilátkové odpovědi při použití rekombinantních antigenů



Srovnání Indexu pozitivity (IP) v ELISA testech s celobuněčným antigenem (CB) v EIA *Borrelia garinii* IgM ■ a IgG ■ s ELISA testy s rekombinantními antigeny (REC) v EIA *Borrelia recombinant* IgM ■ a IgG ■ na panelu 86 patientských sér s diagnózou lymeská neuroborrelióza. (Data připravená pro publikaci.)

Neuroborrelióza a intratekální syntéza specifických protilátek

Antibody Index Software umožňuje vyhodnocení antibody indexu (AI), tj. poměru specifických protilátek v likvoru a séru ve vztahu ke stavu hematolikvorové bariéry a koncentraci celkových imunoglobulinů v likvoru a séru.

Na základě mezinárodního doporučení European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis (EUCALB) pro diagnostiku časně i pozdní neuroborreliózy je nezbytně nutný průkaz intratekální produkce protilátek, tzn. detekce hladiny specifických antiborreliových protilátek vytvářených v likvoru.

Hladina protilátek v mozkomíšním moku závisí na následujících parametrech:

- Hladina protilátek v krevním séru
- Permeabilita hematolikvorové (H-L) bariéry
- Intratekální produkce protilátek

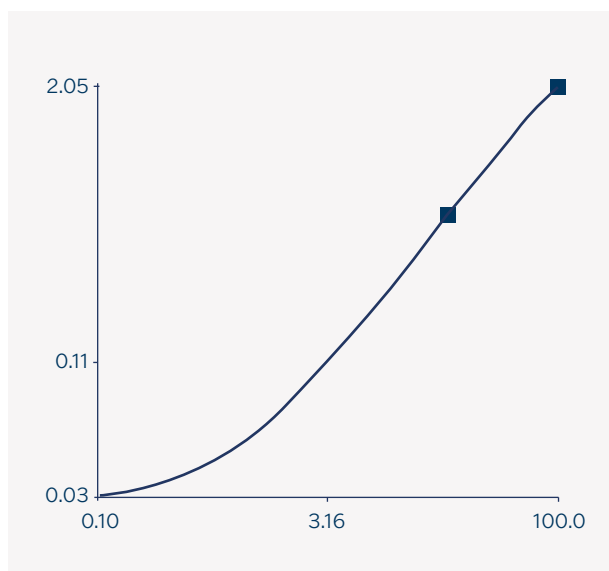
Samotný průkaz specifických protilátek v séru a/nebo likvoru není dostatečný.

Výhody

- Nízká spotřeba vzorku likvoru pro stanovení AI (cca 0,15 ml)
- Možnost stanovení Antibody Indexu v rámci rutinního EIA testu
- Snadné a rychlé vyhodnocení pomocí počítačového programu Antibody Index Software

Intrathecal synthesis - Borrelia IgG & IgM (Antibody index)

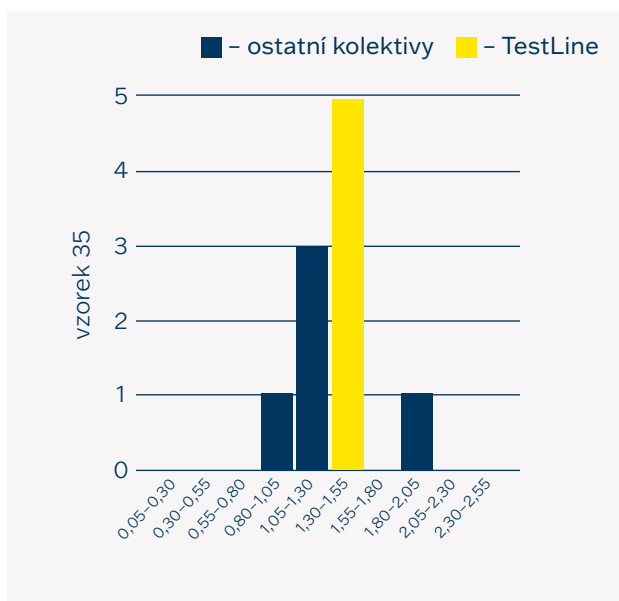
Probe		Patient		Serum No.		CSF No.		Sample collection	
Patient	Novak George			101S		101C		27.05.2022	
Native No.	1122331234								
Ward									
Clinical chemistry									
	Albumin	IgG	IgM	Unit					
Serum	54.70	12.45	1.42	g/l					
CSF	264.00	45.90	1.75	mg/l					
Blood-brain barrier									
QAib	4.83	Blood-brain barrier classification							
		< 5 Normal function							
		5 - 10 Mild dysfunction							
		10 - 15 Moderate dysfunction							
		> 15 Severe dysfunction							
Specific antibodies									
		Extinction		Arbitrary units					
		IgG	IgM	IgG	IgM				
Serum	1.544	1.923	100.00	99.66					
CSF	0.720	0.454	43.58	17.28					
Results									
				Intrathecal synthesis					
Antibody index	AI (IgG)	2.589	POSITIVE result						
	AI (IgM)	3.971	POSITIVE result						
Notes									



Kalibrační křivka je součástí SW a vytváří se z hodnot Pozitivní kontroly (PC) a CUT-OFF hodnot poskytnutých soupravami EIA Borrelia recombinant IgG, IgM v rámci rutinního testování.

Externí hodnocení kvality

Správnost výpočtu antibody indexu byla potvrzena testem hodnocení kvality provedeným externí vědeckou společností (Instand e.V.) pro detekci intratekální produkce protilátek podle Reibera v květnu 2021.



Sérologie likvoru a séra ve vztahu k intratekální syntéze protilátek a stanovení antibody indexu

<u>Sérum</u>	<u>Likvor</u>	<u>Intratekální syntéza protilátek</u>	<u>Stanovení AI dle Reibera</u>
-	+	Pozitivní	ANO – potvrzení positivity (dle doporučení EUCALB)
+	+	Obvykle pozitivní, ale je možný pasivní přenos protilátek přes narušenou H-L bariéru	ANO – nezbytné pro určení intratekální syntézy
+	-	Může být pozitivní, pokud jsou naměřené hodnoty absorbance likvoru a séra blízké	ANO – nezbytné pro určení intratekální syntézy
-	-	absorbanci hraniční kontroly	

IMUNOBLLOT

Uživatelský komfort

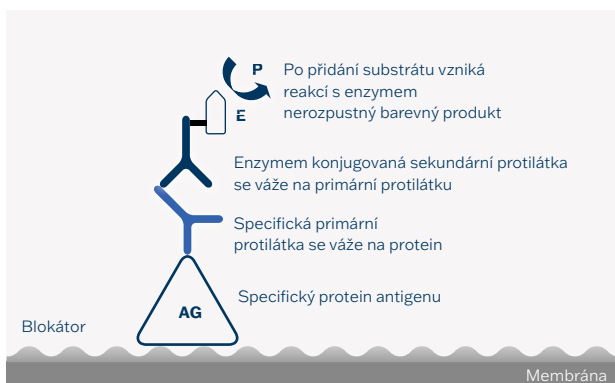
- Komponenty v pracovním ředění
- Barevně odlišené reagensie
- Zaměnitelnost komponent
- Negativní a Pozitivní kontrola
- Kontrolní linie na stripu
- Možnost softwarového vyhodnocení

Výhody souprav

- Imunodominantní antigeny z jednotlivých druhů *Borrelia* sp. – *B. afzelii* (Ba), *B. garinii* (Bg), *B. burgdorferi* sensu stricto (Bs)
- Rekombinantní antigen p44 pro diferenciální diagnostiku anaplazmózy (HGA)
- Rekombinantní antigen TpN17 pro vyloučení zkřížené reaktivity s *Treponema pallidum*
- Možnost stanovení v mozkomíšním moku
- Jednoduchá interpretace a reprodukovatelnost výsledků
- Vysoká diagnostická účinnost
- Vhodné pro automatické systémy
- Komplexní zákaznický servis

Princip testu

Antigeny jsou přeneseny na nitrocelulóзовou membránu pomocí mikrod disperzních metod.



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) - mozkomíšního moku 1:2 (0,75 ml + 0,75 ml) - synoviální tekutina 1:17,5 (90 µl + 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

BLOT-LINE

Antigeny

BLOT-LINE *Borrelia*/HGA IgG,

BLOT-LINE *Borrelia*/HGA IgM

– rekombinantní antigeny: VlsE, p83, p41, p39, OspB, OspA, OspC, p17, p44, TpN17

BLOT-LINE *Borrelia afzelii* IgG

BLOT-LINE *Borrelia garinii* IgG

– rekombinantní antigeny: VlsE, p83, p41, p39 (BmpA), OspA, OspC, p17 (DbpA)

BLOT-LINE *Borrelia b.*

sensu stricto IgG

– rekombinantní antigeny: VlsE, p83, p41, p39 (BmpA), OspB, OspA, OspC, p18 (OspE)

BLOT-LINE *Borrelia afzelii* IgM

BLOT-LINE *Borrelia garinii* IgM

BLOT-LINE *Borrelia b.*

sensu stricto IgM

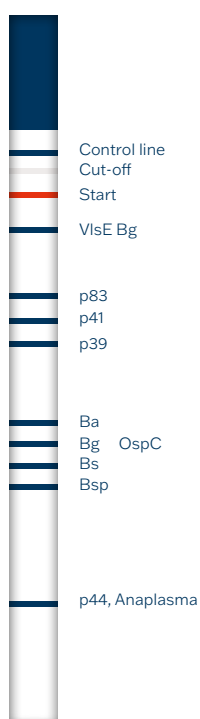
– rekombinantní antigeny: VlsE, p83, p41, p39 (BmpA), OspC

BLOT-LINE *Anaplasma* IgG,

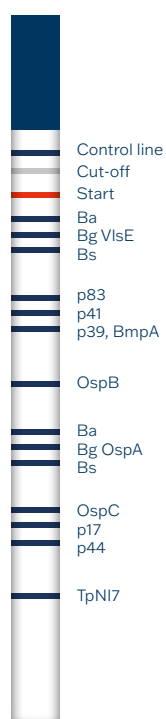
BLOT-LINE *Anaplasma* IgM

– rekombinantní antigeny: p44, Asp62, OmpA

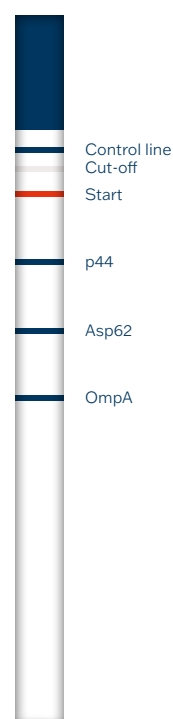
BLOT-LINE *Borrelia*/HGA IgM



BLOT-LINE *Borrelia*/HGA IgG



BLOT-LINE *Anaplasma* IgG

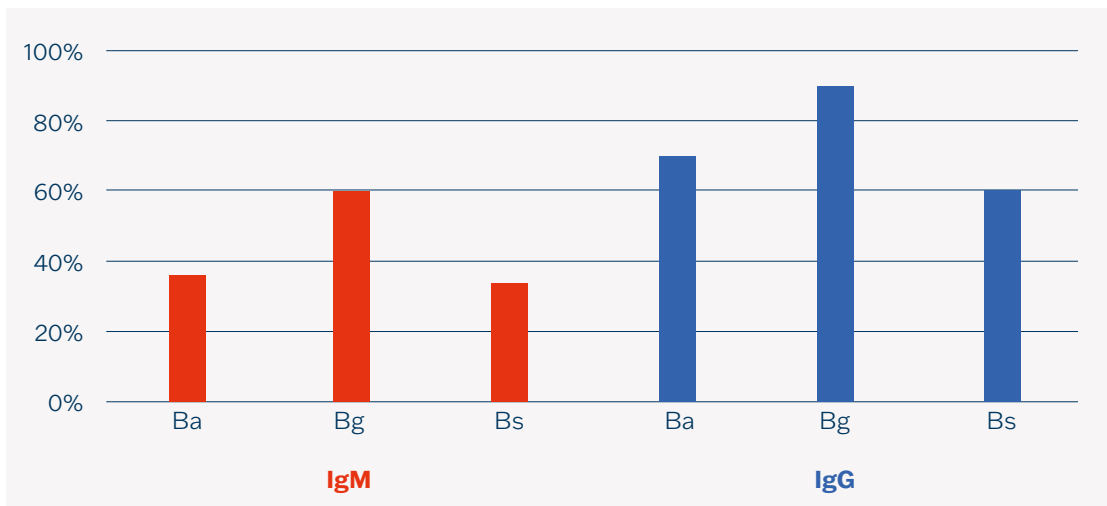


Charakteristiky souprav

Imunoblot	Borrelia		Anaplasma	
	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
BLOT-LINE <i>Anaplasma</i> IgG	–	–	92,0 %	94,0 %
BLOT-LINE <i>Anaplasma</i> IgM	–	–	91,4 %	99,0 %
BLOT-LINE <i>Borrelia</i> /HGA IgG	96,8 %	98,5 %	92,9 %	96,3 %
BLOT-LINE <i>Borrelia</i> /HGA IgM	97,1 %	96,4 %	94,7 %	97,1 %
BLOT-LINE <i>Borrelia afzelii</i> IgG	97,3 %	96,9 %	–	–
BLOT-LINE <i>Borrelia afzelii</i> IgM	96,6 %	95,9 %	–	–
BLOT-LINE <i>Borrelia garinii</i> IgG	97,1 %	96,2 %	–	–
BLOT-LINE <i>Borrelia garinii</i> IgM	95,2 %	97,0 %	–	–
BLOT-LINE <i>Borrelia b.</i> sensu stricto IgG	96,8 %	96,9 %	–	–
BLOT-LINE <i>Borrelia b.</i> sensu stricto IgM	96,2 %	96,8 %	–	–

Reaktivita různých testů ve skupině pacientů s neuroborreliózou (n=60)

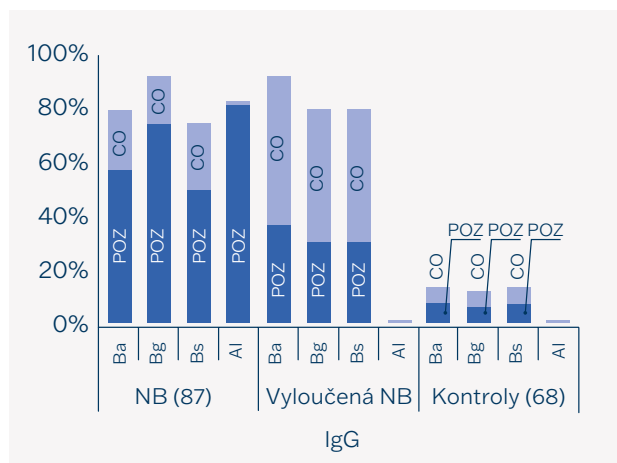
(BLOT-LINE B. afzelii – Ba, BLOT-LINE B. garinii – Bg, BLOT-LINE B.b.sensu stricto – Bs)



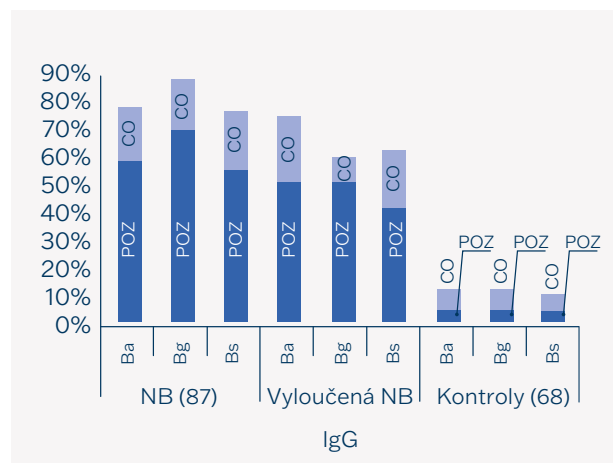
Ve skupině pacientů s neuroborreliózou vykazují soupravy BLOT-LINE Borrelia garinii o 20 % vyšší reaktivitu oproti soupravám BLOT-LINE Borrelia afzelii a BLOT-LINE Borrelia b. sensu stricto.

Incidence protilátek IgG proti VlsE u neuroborreliózy (NB)

Sérum



Likvor



BlueBLOT-LINE

Soupravy BlueBLOT-LINE Borrelia jsou koncipovány pro přístroj BlueDiver – komplexní řešení pro jednoduchou, rychlou a přesnou analýzu imunoblotů včetně jejich vyhodnocení.

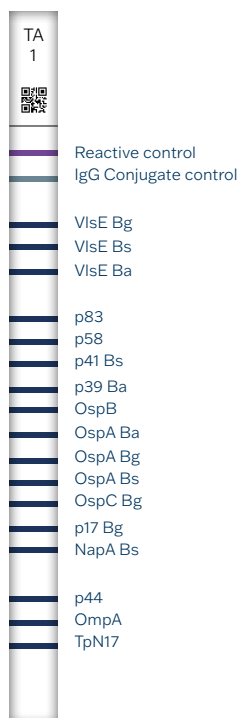


Antigeny

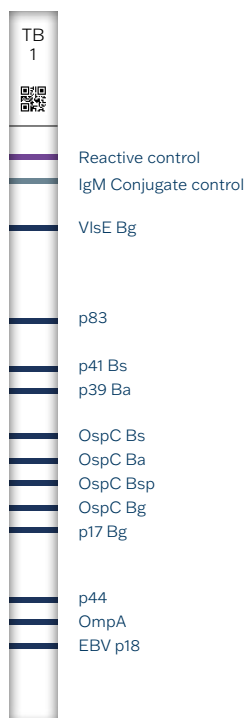
BlueBLOT-LINE Borrelia IgG, BlueBLOT-LINE Borrelia IgM

– rekombinantní antigeny: VlsE, p83, p58, p41, p39, OspB, OspA, OspC, p17, NapA, p44, OmpA, TpN17, p18

BlueBLOT-LINE Borrelia IgG



BlueBLOT-LINE Borrelia IgM



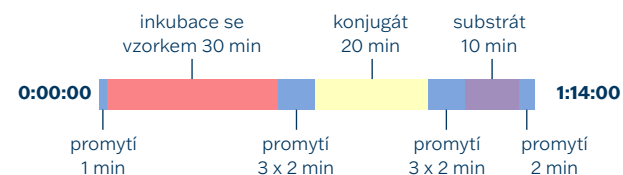
Unikátní funkce a výhody přístroje

- Prostorově nenáročný
- Bez rizika kontaminace
- Vysoká flexibilita
- Jednoduché použití a minimální práce obsluhy
- Vysoká spolehlivost
- Extrémně krátká doba analýzy

Pracovní postup

- Vložení držáků se stripy a zásobníků s reagensiemi do přístroje
- Automatická kontrola šarží a expirací pomocí integrovaného čtecího zařízení čárových kódů
- Dávkování vzorků
- Automatická inkubace a promývání
- Vysušení stripů

Celková doba testu:



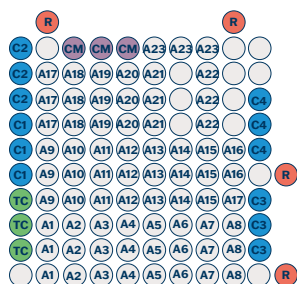
Charakteristiky souprav

Imunoblot	Borrelia		Anaplasma	
	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
BlueBLOT-LINE Borrelia IgG	97,4 %	99,0 %	83,0 %	99,0 %
BlueBLOT-LINE Borrelia IgM	98,3 %	99,0 %	92,0 %	96,0 %

MICROBLOT-ARRAY

Specifické rekombinantní proteiny (antigeny) jsou nanесeny na nitrocelulózovou membránu, která je upravena do formátu jamky mikrotitrační destičky, formou spotů. Princip aplikace antigenů je obdobný jako u souprav BLOT-LINE. Nová multiplexní technologie přináší díky možnosti zpracování pomocí ELISA přístrojů významné zefektivnění ve zpracování těchto konfirmačních testů.

Rozložení antigenů a kontrolních spotů



Popis kontrolních spotů

- R** – Reference
- TC** – Test control
- CM** – Conjugate control IgM
- CG** – Conjugate control IgG
- C1** – Calibration 1
- C2** – Calibration 2
- C3** – Calibration 3
- C4** – Calibration 4
- A1–A23** – Antigeny

Uživatelský komfort

- Nízká spotřeba vzorku
- Komponenty v pracovním ředění
- Antigeny spotovány v tripletu – minimalizace chyby provedení
- Plně automatické zpracování a vyhodnocení výsledků pomocí intenzity spotů (AU), pomocí IP a kvantitativní (U/ml)
- Paralelní vyšetření více markerů současně
- Vysoká citlivost
- Vyhodnocení výsledků pomocí sofistikovaného software
- Posouzení validity testu prostřednictvím kontrolních spotů

Pracovní postup

Krok	Kroky testu
	1. Dávkování Univerzálního roztoku 150 µl
	2. Smáčení 10 min při laboratorní teplotě
	3. Odsátí
	4. Ředění vzorků <ul style="list-style-type: none">– séra/plazmy 1:51 (10 µl + 500 µl)– mozkomíšního moku 1:3 (50 µl + 100 µl)– synoviální tekutiny 1:17,5 (10 µl + 165 µl)
	5. Dávkování kontrol a ředěných vzorků 100 µl
	6. Inkubace 30 min při laboratorní teplotě
	7. Rychlé promytí Univerzálním roztokem*
	8. Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 krát 150 µl po 5 min
	9. Dávkování Konjugátu 100 µl
	10. Inkubace 30 min při laboratorní teplotě
	11. Rychlé promytí Univerzálním roztokem*
	12. Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 krát 150 µl po 5 min
	13. Dávkování Substrátového roztoku (BCIP/NBT) 100 µl
	14. Inkubace 15 min při laboratorní teplotě
	15. Rychlé promytí destilovanou vodou*
	16. Odsátí a promytí v destilované vodě 2 krát 200 µl po 5 min
	17. Vysušení a vyhodnocení

* v případě použití promývačky naplňte jamky po okraj a po naplnění poslední jamky ihned odsajte

Antigeny

<u>Patogen</u>	<u>Antigeny</u>
Borrelia burgdorferi	VlsE Ba, VlsE Bg, VlsE Bs, p83, p58, p41 Ba, p41 Bs, p39, OspB, OspA Ba, OspA Bg, OspA Bs, OspC Ba, OspC Bg, OspC Bs, OspC Bsp, OspE, NapA, p17
Anaplasma phagocytophilum	p44, OmpA, Asp62
Treponema pallidum (IgG)	TpN17
EBV (IgM)	VCA-p18

Charakteristiky souprav

Parametry Microblot-Array Borrelia IgG (testované na sérech)

	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
Borrelia IgG	98,7 % (n = 74)	98,9 % (n = 100)
Anaplasma IgG	92,0 % (n = 25)	99,9 % (n = 30)
Treponema IgG	98,3 % (n = 59)	99,9 % (n = 30)

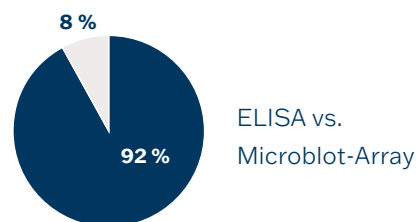
Parametry Microblot-Array Borrelia IgM (testované na sérech)

	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
Borrelia IgM	98,5 % (n = 56)	99,9 % (n = 95)
Anaplasma IgM	95,0 % (n = 20)	99,9 % (n = 38)
EBV IgM	99,9 % (n = 39)	99,9 % (n = 51)

Srovnávací studie

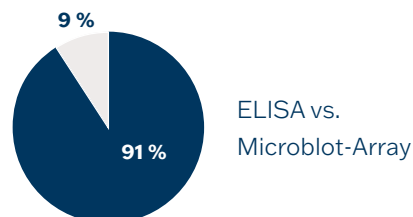
Korelace výsledků IgG

<u>n = 77</u>	<u>Microblot-Array</u>	<u>ELISA</u>
pozitivní	38	41
negativní	33	36
úplná shoda	92,2 %	



Korelace výsledků IgM

<u>n = 68</u>	<u>Microblot-Array</u>	<u>ELISA</u>
pozitivní	19	21
negativní	40	44
úplná shoda	90,7 %	



■ shoda ■ neshoda

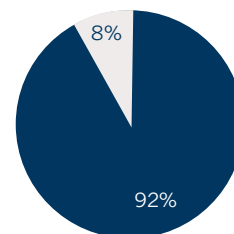
Srovnávací studie

Korelace výsledků IgM

		<u>Microblot-Array</u>		
		pozitivní	hraniční	negativní
ELISA rec.	pozitivní	48	2	3
	hraniční	1	1	2
	negativní	3	10	24

ELISA rec. Microblot Array

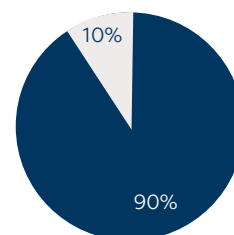
■ shoda
■ neshoda



		<u>Microblot-Array</u>		
		pozitivní	hraniční	negativní
Western blot rec.	pozitivní	41	3	0
	hraniční	6	1	4
	negativní	5	2	2

WB rec. Microblot Array

■ shoda
■ neshoda

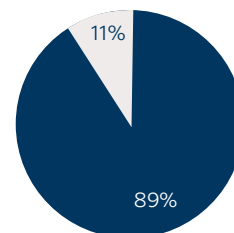


Korelace výsledků IgG

		<u>Microblot-Array</u>		
		pozitivní	hraniční	negativní
ELISA rec.	pozitivní	44	5	2
	hraniční	0	1	0
	negativní	6	11	24

ELISA rec. Microblot Array

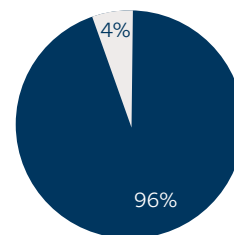
■ shoda
■ neshoda



		<u>Microblot-Array</u>		
		pozitivní	hraniční	negativní
Western blot rec.	pozitivní	42	4	1
	hraniční	7	5	1
	negativní	1	2	1

WB rec. Microblot Array

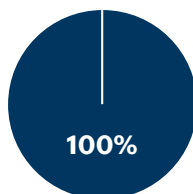
■ shoda
■ neshoda



Výsledky v externím hodnocení kvality

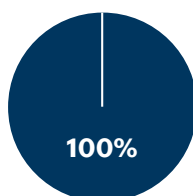
LABQUALITY – 02. 2021

EIA



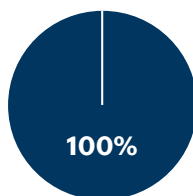
<u>Kategorie</u>	<u>Specifikace vzorku</u>	<u>Výsledek TestLine</u>	<u>Splňuje kritéria</u>
IgG	pozitivní	pozitivní	+
IgG	pozitivní	pozitivní	+
IgM	pozitivní	pozitivní	+
IgM	pozitivní	pozitivní	+

Imunoblot



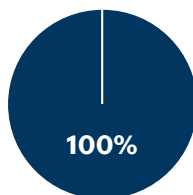
<u>Kategorie</u>	<u>Specifikace vzorku</u>	<u>Výsledek TestLine</u>	<u>Splňuje kritéria</u>
IgG*	pozitivní	borderline	-
IgG	pozitivní	pozitivní	+
IgM	pozitivní	pozitivní	+
IgM	pozitivní	pozitivní	+

Microblot-Array



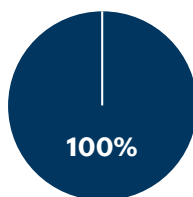
<u>Kategorie</u>	<u>Specifikace vzorku</u>	<u>Výsledek TestLine</u>	<u>Splňuje kritéria</u>
IgG	pozitivní	pozitivní	+
IgG	pozitivní	pozitivní	+
IgM	pozitivní	pozitivní	+
IgM	pozitivní	pozitivní	+

Klinické hodnocení



<u>Kategorie</u>	<u>Specifikace vzorku</u>	<u>Výsledek TestLine</u>	<u>Splňuje kritéria</u>
Interpretace	infekce potvrzena	infekce potvrzena	+
Interpretace	infekce potvrzena	infekce potvrzena	+

Antibody Index Software



<u>Kategorie</u>	<u>Specifikace vzorku</u>	<u>Výsledek TestLine</u>	<u>Splňuje kritéria</u>
IgG	negativní, hraniční, pozitivní	negativní	+

Objednací údaje

ELISA

Kód	Název soupravy	Počet testů
BGV096	EIA Borrelia VlsE IgG	96
BM0096	EIA Borrelia IgM	96
BrG192	EIA Borrelia recombinant IgG (192)	192
BrM192	EIA Borrelia recombinant IgM (192)	192
BaGVD2	EIA Borrelia afzelii VlsE IgG (192)	192
BaM192	EIA Borrelia afzelii IgM (192)	192
BsGV96	EIA Borrelia b. sensu stricto VlsE IgG	96
BsM096	EIA Borrelia b. sensu stricto IgM	96
BgGVD2	EIA Borrelia garinii VlsE IgG (192)	192
BgM192	EIA Borrelia garinii IgM (192)	192
SK-BGV096	SmartEIA Borrelia VlsE IgG	96
SK-BM0096	SmartEIA Borrelia IgM	96
SK-BrG096	SmartEIA Borrelia recombinant IgG	96
SK-BrM096	SmartEIA Borrelia recombinant IgM	96
SK-BaGV96	SmartEIA Borrelia afzelii VlsE IgG	96
SK-BaM192	SmartEIA Borrelia afzelii IgM	96
SK-BsGV96	SmartEIA Borrelia b. sensu stricto VlsE IgG	96
SK-BsM096	SmartEIA Borrelia b. sensu stricto IgM	96
SK-BgGV96	SmartEIA Borrelia garinii VlsE IgG	96
SK-BgM096	SmartEIA Borrelia garinii IgM	96

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



FOLLOW US

BIOVENDOR.GROUP

INFEKČNÍ SÉROLOGIE – BAKTERIOLOGIE – **BORRELIA | ANAPLASMA**

IMUNOBLOT

Kód	Název soupravy	Počet testů
ApGL10	BLOT-LINE Anaplasma IgG	10
ApML10	BLOT-LINE Anaplasma IgM	10
BGL020	BLOT-LINE Borrelia/HGA IgG	20
BML020	BLOT-LINE Borrelia/HGA IgM	20
BaGL20	BLOT-LINE Borrelia afzelii IgG	20
BaML20	BLOT-LINE Borrelia afzelii IgM	20
BgGL20	BLOT-LINE Borrelia garinii IgG	20
BgML20	BLOT-LINE Borrelia garinii IgM	20
BsGL20	BLOT-LINE Borrelia b. sensu stricto IgG	20
BsML20	BLOT-LINE Borrelia b. sensu stricto IgM	20
BD-BGL024	BlueBLOT-LINE Borrelia IgG	24
BD-BML024	BlueBLOT-LINE Borrelia IgM	24
SwIm03	Immunoblot Software	1 pc

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

MICROBLOT-ARRAY

Kód	Název soupravy	Počet testů
BGMA096	Microblot-Array Borrelia IgG	96
BMMA096	Microblot-Array Borrelia IgM	96

**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