

Imunoblot

Technologie pro stanovení
specifických protilátek

CZ

Spolehlivé a robustní imunoblot soupravy

Testline Imunoblot soupravy umožňují podrobné stanovení přítomnosti protilátek proti jednotlivým specifickým antigenům v séru, plazmě, či mozkomíšním moku. Soupravy jsou určeny pro diferenciální diagnostiku onemocnění a slouží jako konfirmační metoda ke screeningovým sérologickým metodám (CLIA, ELISA).

Zpracování a vyhodnocení souprav může být manuální, semi-automatické či plně automatické. Sofistikovaný Immunoblot Software pro přesnější a snadnější vyhodnocení lze připojit do LIS.

Prvotřídní kvalita testů s vysokou diagnostickou citlivostí a specifiitou je zajištěna díky vlastní výrobě širokého spektra antigenů a vysoce stabilních komponent, připravených k okamžitému použití (RTU).

BLOT-LINE princip

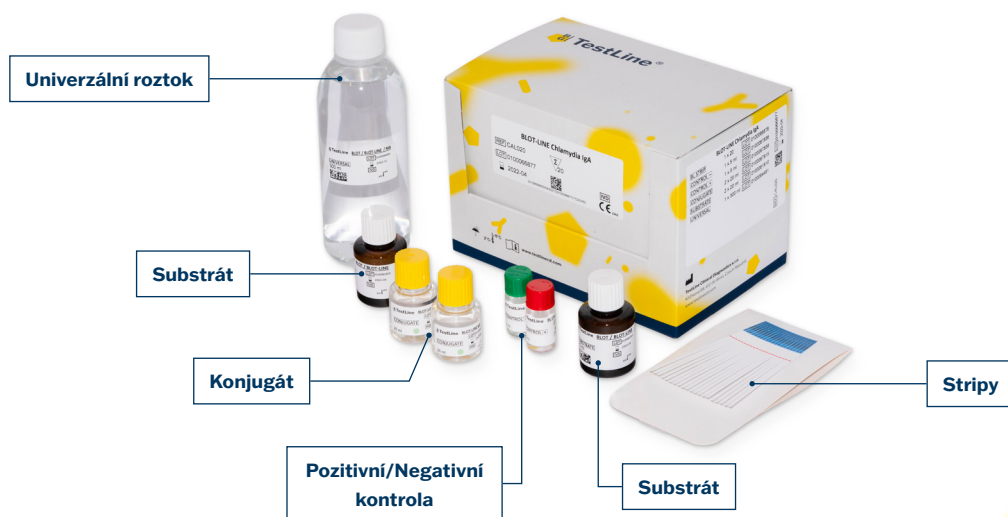
Metoda využívající **vysoce specifické rekombinantní** antigeny, které jsou nanесeny na nitrocelulózovou membránu.



(Western) BLOT princip

Metoda využívající elektroforeticky separované **celobuněčné antigeny**, které jsou přeneseny na nitrocelulózovou membránu.

BLOT-LINE souprava



Použití souprav

- Konfirmační metoda ke screeningovým sérologickým metodám (CLIA, ELISA apod.)
- Diferenciální diagnostika
- **Infekční sérologie:** Anaplasma phagocytophilum, Bordetella sp., Borrelia sp., CMV, Chlamydia sp., EBV, Helicobacter pylori, Mycoplasma pneumoniae, Toxocara sp., Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Yersinia sp.
- **Imunologie:** ANA, ANCA

Uživatelský komfort

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

Výhody souprav

- Jednoduchá interpretace a reprodukovatelnost výsledků
- Vysoká diagnostická citlivost a specifita
- Kompatibilita s většinou komerčních imunoblot analyzátorů
- Komplexní zákaznický servis
- Identický pracovní postup

Pracovní postup

Krok	Kroky testu
 1.	Dávkování Univerzálního roztoku 2,5 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

Workflow

1. Zpracování stripů – 2 hodiny

2. Sušení a lepení stripů

3. Skenování protokolu

4. Vyhodnocení a reporting

Pro softwarové vyhodnocení lze použít kancelářský skener



Vyhodnocení

TestLine Immunoblot Software pro automatické vyhodnocení

Softwarové vyhodnocení je snadný a rychlý způsob, jak získat standardizované výsledky a eliminovat subjektivní chyby. Výsledky lze exportovat v různých formátech. K dispozici je oboustranné připojení LIS.

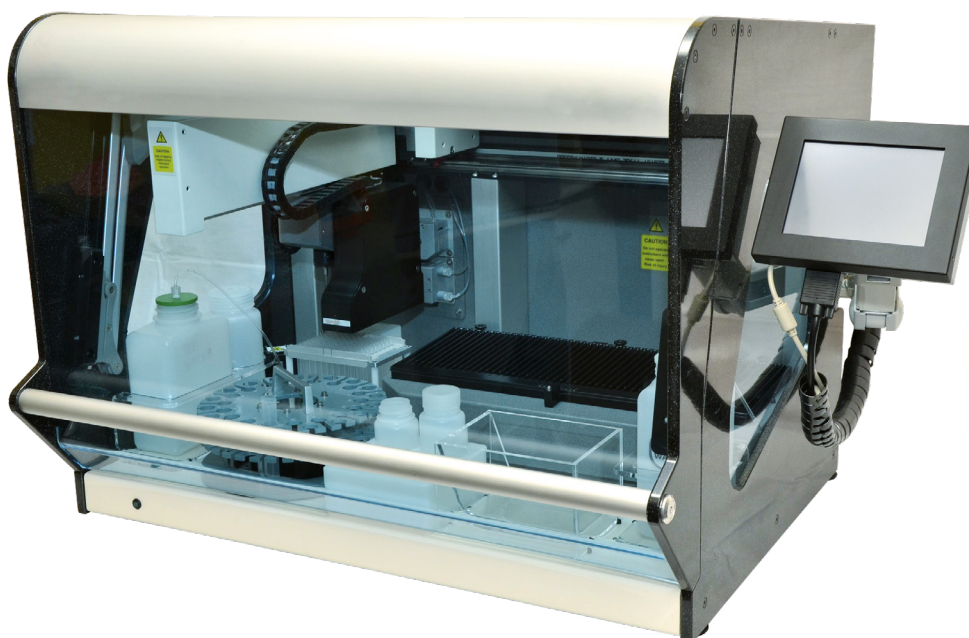


Automatizace

Možnost automatického zpracování s využitím jakéhokoliv otevřeného imunoblot analyzátoru

Komplexní řešení zpracování imunoblot souprav TestLine a RoboBLOT analyzátoru

- Plně automatické zpracování a vyhodnocení testu
- Minimalizace manuální manipulace a doby obsluhy
- Ovládání celého procesu pomocí Immunoblot Software a dotykové obrazovky analyzátoru
- Oboustranná komunikace s LIS
- Úplná kompatibilita RoboBlotu, souprav BLOT-LINE a Immunoblot Software (TestLine)



Bezpečnost

- Pipetování pomocí jednorázových plastových špiček
- Detekce hladiny pomocí tlakového čidla
- Čtečka čárových kódů pro vzorky

Kapacita

- Kapacita přístroje – 1 až 50 vzorků
- Flexibilita – 5 různých metod současně

Ovládání a vyhodnocení

- Ovládání přístroje dotykovou obrazovkou, LAN komunikace s LIS
- Integrovaná kamera pro skenování stripů na konci běhu (200–300 dpi)
- Propojení s vyhodnocovacím programem Immunoblot Software (TestLine)

Certifikace

Označeno CE; 98/79EC (IVDD); EN 61326-1:2006; EN 61326-2-6:2006; EMC Directive 2004/108/EEC

IMUNOBLLOT soupravy pro diagnostiku anaplazmózy

Úvod

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

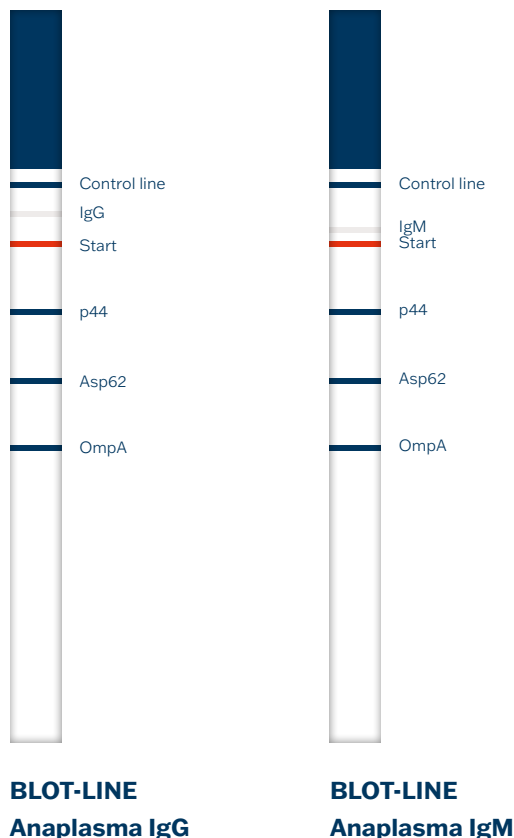
stavům a komplikacím dochází především u imunodeficitních pacientů, u transplantovaných osob a pacientů bez sleziny.

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).

Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE Anaplasma IgG	92,0 %	94,0 %
BLOT-LINE Anaplasma IgM	91,4 %	99,0 %

Antigeny



p44 – hlavní marker HGA protilátkové odpovědi

Asp62 – povrchový protein – membránový přenašeč

OmpA – vnější membránový protein A; lipoprotein asociovaný s peptidoglykany, významný marker virulence

* V případě pozitivních výsledků v rámci Anaplasma screeningu se doporučuje provést další vyšetření k potvrzení HGA

IMUNOBLOT soupravy pro diagnostiku pertuse a parapertuse

Úvod

B. pertussis je považována za hlavního původce onemocnění pertuse (černý kašel, dávivý kašel), které bylo do zavedení očkování jedním z nejzávažnějších onemocnění novorozenců a dětí.

Vakcinace proti pertusi je v ČR zahrnuta do pravidelného očkování. Postvaccinační imunita postupně klesá, z tohoto důvodu se nově doporučuje i přeočkování rodičů a blízkých kontaktů novorozenců, včetně zdravotníků.

B. pertussis způsobuje závažnější formu onemocnění, zatímco **B. parapertussis** způsobuje lehčí formu, což je způsobeno tím, že neprodukuje pertusový toxin.

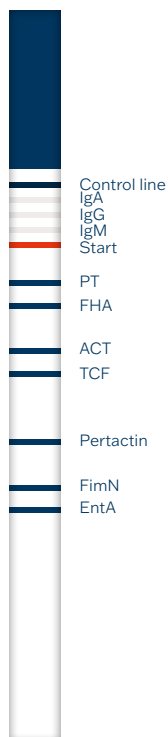
Použití souprav

- Průkaz stádia infekce
- Rozlišení postinfekční a postvaccinační imunity
- Diferenciální diagnostika pertuse a parapertuse

Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
Bordetella pertussis IgA	95,5 %	99,9 %
Bordetella pertussis IgG	99,9 %	99,9 %
Bordetella parapertussis IgA	99,9 %	99,9 %
Bordetella parapertussis IgG	88,9 %	99,9 %

Antigeny



B. pertussis

PT – pertusový toxin (45 kDa), základní faktor virulence, specifický pouze pro *B. pertussis*, nejvýznamnější antigen infekce černého kašle

FHA – filamentózní (vláknitý) hemaglutinin *B. pertussis*, adhezí protein, důležitý imunogen, vybraná část sekvence s vysokou specifitou

ACT – adenylátcyklázový toxin (CyaA), významný faktor virulence *B. pertussis* s antifagocytárním účinkem

TCF – tracheální kolonizační faktor, protein produkováný pouze *B. pertussis*; adhezin, zajišťující vazbu bakterie na povrch buněk řasinkového respiračního epitelu a fagocytujících buněk

B. parapertussis

Pertactin – (75 kDa), protein vnější membrány virulentních kmenů *B. parapertussis*

FimN Fimbriae N – adhezin, neprodukováný *B. pertussis*

EntA Entericidin A – membránový lipoprotein

BLOT-LINE
Bordetella

IMUNOBLLOT soupravy pro diagnostiku Lymeské borreliózy

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.

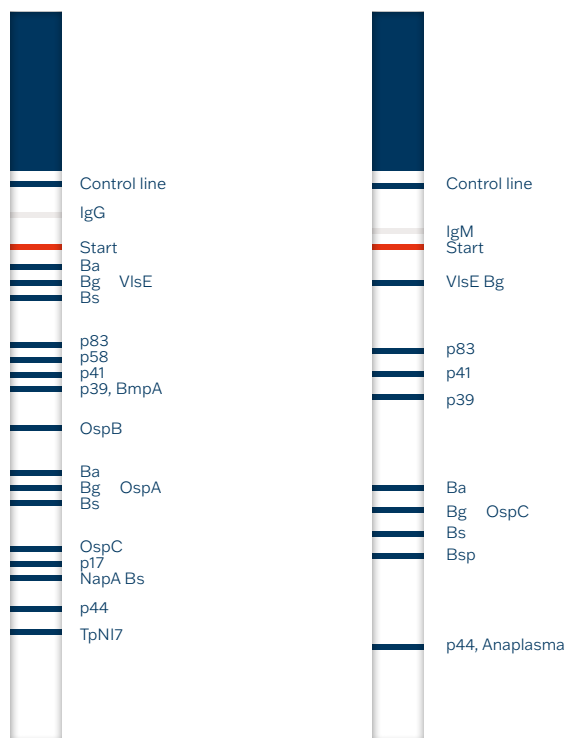
Pozdní diseminovaná fáze – trvá měsíce až roky. Nastávají imunopatologické změny. Diagnosticky typické jsou acrodermatitis chronica atrophicans (chronická kožní léze – ACA), chronická neuroborrelióza, borreliová artritida.

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.

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

Antigeny



BLOT-LINE
Borrelia/HGA IgG

BLOT-LINE
Borrelia/HGA IgM

Specifické antigeny

<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	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 artritidy
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 artritidy
p17	DbpA (decorin-binding protein A) - vnější membránový protein

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

Zkříženě reagující antigeny

<u>Antigen</u>	<u>Popis</u>
TpN17	Vysoce specifický membránový protein <i>Treponema pallidum</i> (IgG)
p44	hlavní marker HGA protilátkové odpovědi

Charakteristiky souprav

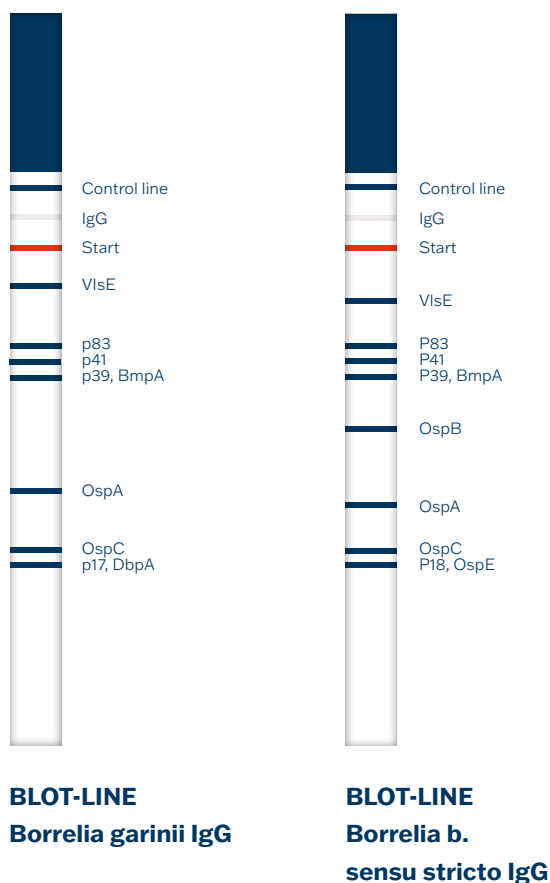
<u>Imunoblot</u>	<u>Borrelia</u>		<u>Anaplasma</u>	
	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE Borrelia/HGA IgG	99,3 %	99,4 %	92,3 %	96,9 %
BLOT-LINE Borrelia/HGA IgM	99,2 %	99,3 %	94,7 %	97,1 %

Monospecifické soupravy IMUNOBLOT pro diagnostiku **Lymské borreliózy**

Výhody souprav

- Imunodominantní antigeny z jednotlivých druhů borrelií
- Možnost testování z mozkomíšního moku

Antigeny



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

Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
BLOT-LINE Borrelia afzelii IgG	97,3 %	99,9 %
BLOT-LINE Borrelia afzelii IgM	96,6 %	98,0 %
BLOT-LINE Borrelia garinii IgG	97,1 %	99,9 %
BLOT-LINE Borrelia garinii IgM	97,6 %	99,9 %
BLOT-LINE Borrelia b. sensu stricto IgG	96,3 %	99,9 %
BLOT-LINE Borrelia b. sensu stricto IgM	97,4 %	99,9 %

IMUNOBLOT soupravy pro diagnostiku CMV infekcí

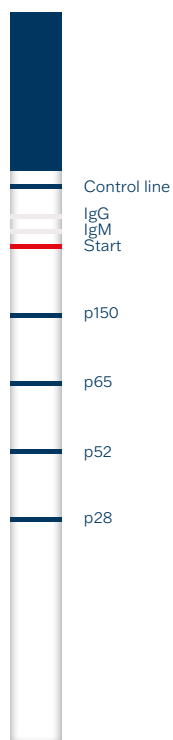
Úvod

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 poškozením různých orgánů, nezřídka s fatálními důsledky.

Charakteristiky souprav

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

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.

BLOT-LINE
CMV

IMUNOBLLOT soupravy pro diagnostiku Epstein-Barr viru

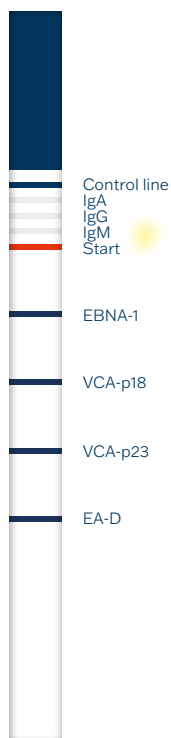
Úvod

Virus Epstein-Barrové (EBV) patří do skupiny herpetických virů (4. lidský herpetický virus, HHV4). Zdrojem infekce je nakažený člověk, přenos se děje kapénkovou infekcí nebo přímým kontaktem. Inkubační doba je 1–2 měsíce, 90 % nákaz proběhne v dětském věku. Infekce vyvolané EB virem způsobují onemocnění charakterizované horečkou, faryngitidou, generalizovaným zvětšením lymfatických uzlin. Projevy EB virózy jsou ovlivněny věkem a stavem imunitního systému organismu. EBV nevymizí z organismu úplně, přetrvává v latentním stavu a může se reaktivovat.

Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE EBV IgA	95,4 %	98,2 %
BLOT-LINE EBV IgG	99,9 %	98,6 %
BLOT-LINE EBV IgM	92,7 %	99,0 %

Antigeny



Rekombinantní antigeny:

EBNA-1 – Epstein-Barr nuclear antigen 1;

v IgG třídě významný diagnostický marker pozdní fáze nebo reaktivace infekce;
v IgM třídě detekovatelné protilátky 2-4 měsíce po primární EBV infekci, mohou se vyskytovat i u reaktivace

VCA-p18 – Viral Capsid Antigen p18;

významný marker pozdní fáze infekce,
IgG protilátky se u primárních infekcí nevyskytují;
IgM protilátky mohou být detekovány i v časně fázi infekce

VCA-p23 – Viral Capsid Antigen p23;

protilátky proti tomuto antigenu mohou být detekovány v IgG i IgM třídě ve všech fázích infekce, IgG protilátky v organismu dlouho přetrvávají

EA-D – Early Antigen Diffuse p54; BMRF1;

doplňkový marker akutní EBV infekce, protilátky detekovatelné v IgG i IgM třídě, a to i v pozdní fázi primární infekce

**BLOT-LINE
EBV**

IMUNOBLOT soupravy pro diagnostiku infekce *Helicobacter pylori*

Úvod

Helicobacter pylori řadíme do rodu *Helicobacter*. Morfologicky se jedná o gramnegativní, aerobní mikroaerofilní tyčky. Jako patogen se uplatňuje při infekcích žaludeční sliznice, a to zejména v oblasti antra a duodena. Je původcem chronické gastritidy typu B, na jejímž podkladě se může později rozvinout vředová choroba. U tohoto onemocnění je *H. pylori* prokazován takřka ve 100% případů. Infekce *H. pylori* je často provázena dyspeptickými potížemi. Aktivní chronická gastritida může přejít ve formu atrofickou s rizikem vzniku žaludečního karcinomu.

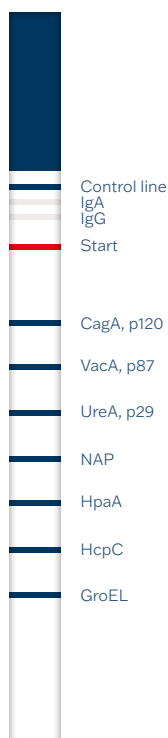
Faktory patogenity *H. pylori* vycházejí jednak ze samotné morfologické struktury bakteriální buňky (spirální tvar, bičíky) a dále ze schopnosti produkce extracelulárních enzymů a cytotoxinů (např. ureáza, kataláza, proteázy, VacA, CagA).

Vyskytuje se řada patogenních a fakultativně patogenních kmenů. Jejich virulence se liší jednak zastoupením výše zmíněných faktorů, tak i jejich množstvím. Na patogenezi onemocnění se podílí i odpověď hostitele. Rezistentní kmeny se izolují hlavně od neúspěšně léčených osob.

Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
BLOT-LINE <i>Helicobacter</i> IgA	95,2 %	99,9 %
BLOT-LINE <i>Helicobacter</i> IgG	96,9 %	99,9 %

Antigeny



CagA, p120 – Cytotoxin associated gene A, vysoce specifický, faktor virulence

VacA, p87 – Vacuolating cytotoxin A, vysoce specifický, faktor virulence

UreA, p29 – lehká podjednotka ureázy, specifický, faktor virulence

NAP – Neutrophil-activating protein, faktor virulence, potencionální biomarker gastritidy

HpaA – *Helicobacter pylori* adhesin A, povrchový lipoprotein, potencionální marker gastritidy a žaludečních vředů

HcpC – *Helicobacter* cystein-rich protein, faktor virulence

GroEL – Chaperonin, protein tepelného šoku (Hsp 60), faktor virulence, je považován za marker chronické infekce

BLOT-LINE

Helicobacter pylori

IMUNOBLLOT soupravy pro diagnostiku chlamydiových infekcí

Úvod

V humánní medicíně mají hlavní význam *Chlamydia trachomatis* a *Chlamydia pneumoniae*, které jsou lidskými patogeny. *Chlamydia psittaci* je primárně zvířecí patogen s možností přenosu na člověka.

Chlamydia trachomatis je nejčastějším sexuálně přenášeným bakteriálním patogenem a původcem pohlavních chorob na světě. Nejvíce ohroženou skupinou jsou mladí lidé, nejvíce ve věkové skupině 15–30 let. Urogenitální chlamydiové infekce často probíhají ve formě tzv. postgonokokového zánětu. Cervikální chlamydiová infekce je v současné době považována za jeden z rizikových faktorů pro vznik karcinomu děložního hrdla. *Chlamydia trachomatis* je nejčastější příčinou neplodnosti u žen i u mužů.

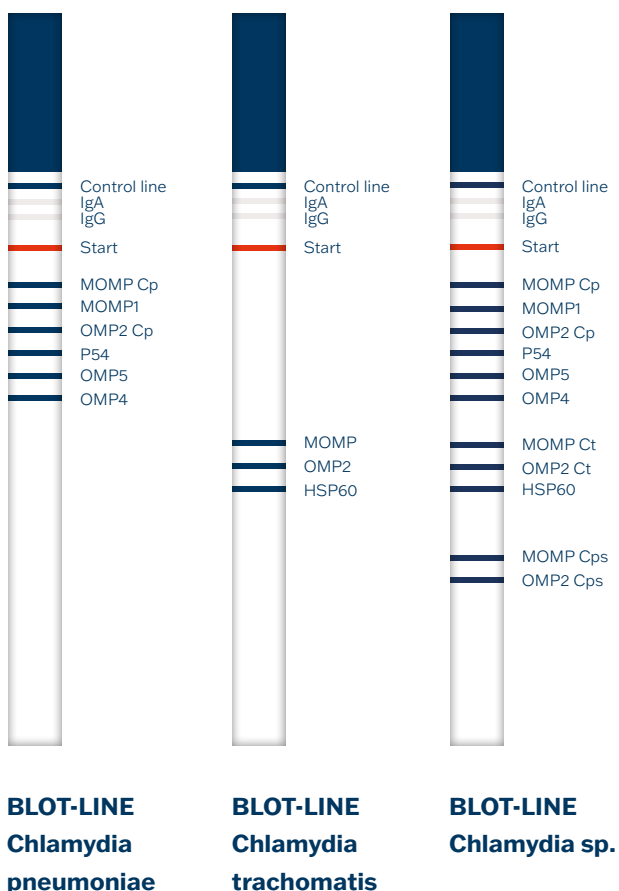
Chlamydia pneumoniae je ze všech druhů chlamydií v lidské populaci nejrozšířenější. Během posledních let je zvýšen počet akutních i chronických onemocnění. K primoinfekci většinou dochází mezi 5. až 18. rokem života. Nejčastějšími klinickými projevy infekce jsou: rhinitis, sinusitis, otitis media, pharyngitis, bronchitis, atypická pneumonie s neproduktivním kašlem a nevýrazným poslechovým nálezem.

Chlamydia psittaci může způsobit lidská onemocnění probíhající pod obrazem atypické pneumonie (ptačí kmeny) anebo placentitidy (savčí kmeny).

Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
Chlamydia pneumoniae IgA	98,8 %	99,9 %
Chlamydia pneumoniae IgG	97,7 %	98,2 %
Chlamydia pneumoniae IgM	95,0 %	99,0 %
Chlamydia trachomatis IgA	97,4 %	98,2 %
Chlamydia trachomatis IgG	98,2 %	98,0 %
Chlamydia psittaci IgA	99,9 %	99,9 %
Chlamydia psittaci IgG	99,9 %	99,9 %

Antigeny



Chlamydia pneumoniae

MOMP Cp – dominantní povrchový druhově specifický membránový protein - funkce strukturálního proteinu; metabolická funkce

MOMP1 – isoforma antigenu MOMP, vzniklá posttranslační modifikací

OMP2 Cp – povrchový druhově specifický membránový protein – základní složka povrchového membránového komplexu chlamydií

OMP4, OMP5 – vnější membránový protein

P54 – imunodominantní povrchový antigen, vysoce specifický pro *Ch.pneumoniae* – citlivý marker pro diagnostiku akutní infekce

Chlamydia trachomatis

MOMP Ct – dominantní povrchový druhově specifický membránový protein – funkce strukturálního proteinu; metabolická funkce

OMP2 Ct – povrchový druhově specifický membránový protein – základní složka povrchového membránového komplexu chlamydií

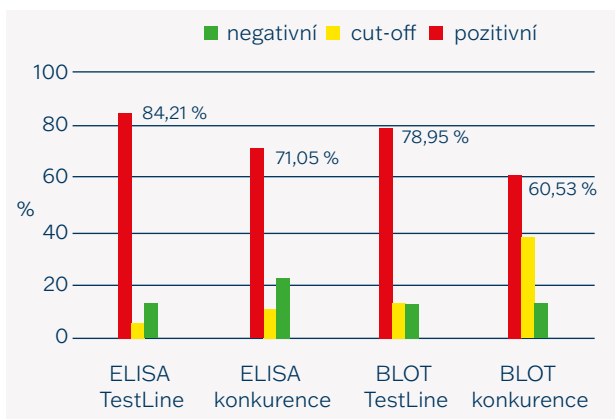
HSP60 – protein teplotního šoku (GroEL); marker chronického zánětu

Chlamydia psittaci

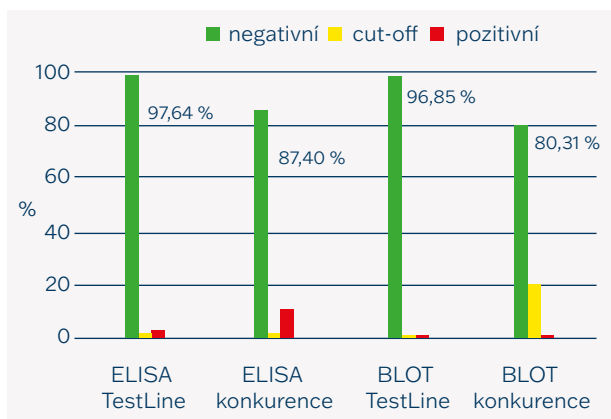
MOMP Cps – dominantní povrchový druhově specifický membránový protein – funkce strukturálního proteinu; metabolická funkce

OMP2 Cps – povrchový druhově specifický membránový protein – základní složka povrchového membránového komplexu chlamydií

Reaktivita různých diagnostických souprav na panelu pozitivních vzorků



Reaktivita různých diagnostických souprav na panelu negativních vzorků



IMUNOBLLOT soupravy pro diagnostiku mycoplasmové infekce

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.

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 mohou 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.

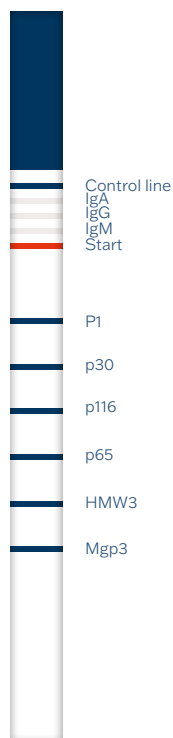
IgG: K vzestupu protilátek třídy IgG dochází někdy už po 2.–3. týdnu od začátku výskytu příznaků, maximálních hladin dosahují za delší dobu, někdy až za 6 měsíců. Perzistují déle než 1 rok, jsou známy případy přetrvávání i více než 4 roky. V případě reinfekcí je nutno hodnotit dynamiku protilátek u párových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

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

Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
BLOT-LINE Mycoplasma IgA	93,3 %	99,5 %
BLOT-LINE Mycoplasma IgG	96,2 %	99,0 %
BLOT-LINE Mycoplasma IgM	96,7 %	99,2 %

Antigeny



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 adhezi; MPN142 (P40/P90)

BLOT-LINE
Mycoplasma

IMUNOBLOT soupravy pro diagnostiku toxokarózy

Úvod

Larvální toxokaróza je tkáňová helmintóza, při níž se člověk stává paratenickým (neadekvátním) hostitelem larev škrkavek, které jinak dospívají ve psech (*Toxocara canis*) nebo kočkách (*Toxocara cati*).

K nákaze člověka dochází pozřením vajíček parazita obsahujících larvy. Larvy uvolněné z vajíček pronikají do sliznice trávicího ústrojí a tudy do krevního a lymfatického systému hostitele. Migrující larvy mohou způsobit vážné poškození tkání hostitele a to především jater, ledvin, plic, srdečního svalu a tkání CNS.

Viscerální larva migrans (VLM) – nespecifické a variabilní klinické příznaky (eozinofilie, leukocytóza, hepatomegalie, teplota, únava, svalová a kloubní bolest, lymfadenopatie, bolesti břicha, astmatické projevy, plicní infiltráty, kožní exantematické projevy).

Oční larva migrans (OLM) – přítomnost larev v oku může narušit sítnici a projevuje se zhoršením zraku,

strabismem, uveitidou, chorioretinitidou, bělavými zákalami sklivce, ablací sítnice apod. V některých případech může vést ke slepotě jednoho či obou očí.

Nervová larva migrans (NLM) – přítomnost larev v periferním či centrálním nervovém systému je příčinou meningoencefalitidy a dalších neurologických manifestací (eozinofilní meningomyelitida, epileptiformní stavy, mozková vaskulitida, radikulitida, parézy).

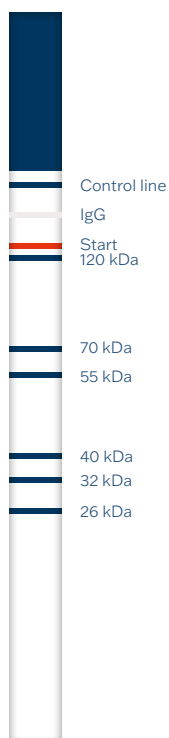
Použití souprav

- Diferenciace specifických a nespecifických frakcí exkrečně-sekrečního antigenu *Toxocara* sp.
- Vyloučení zkřížené reaktivity vůči ostatním helmintózám

Charakteristiky souprav

Parametr	<u>Diagnostická</u> citlivost	<u>Diagnostická</u> specifita
BLOT-LINE <i>Toxocara</i> IgG	90,9 %	90,0 %

Antigeny



Vysoce specifický exkrečně-sekreční antigen „ES“ připravený inkubací larev *Toxocara canis*

TES 120 – soubor sekrečních mucinů Tc-muc1 – Tc-muc4 – povrchové antigeny

– vysoce senzitivní a specifické pro *Toxocara* sp.

TES 70 – nespecifický lektin

TES 40, 55 – nespecifické glykoproteiny

TES 32 – nejčastější výskyt – specifický pro vazebné sacharidy (manóza a/nebo galaktóza)

– vysoce senzitivní a specifický pro *Toxocara* sp.

TES 26 – fosfatidyleanolamine vázající protein – vysoce senzitivní a specifický pro *Toxocara* sp.

BLOT-LINE
Toxocara

IMUNOBLLOT soupravy pro diagnostiku toxoplazmózy

Úvod

Toxoplazmóza je parazitární onemocnění, jehož původcem je prvok *Toxoplasma gondii*. 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).

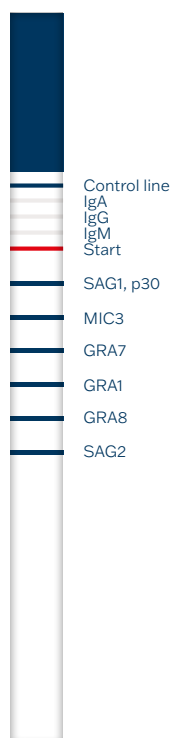
Použití souprav

- Stanovení kongenitální toxoplazmózy – porovnání imunitního profilu sér matky a dítěte

Charakteristiky souprav

<u>Parametr</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 %

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 toxoplasmy. 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.

BLOT-LINE
Toxoplasma

IMUNOBLOT soupravy pro diagnostiku syfilis

Úvod

Syfilis (lues) je sexuálně přenosné onemocnění způsobené spirochetou *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. K přenosu dochází především pohlavním stykem s infikovanou osobou, pouze v 5–10 % případů jinou než pohlavní cestou (přenos z matky na dítě, vzácně kontaktem s krví či kožními projevy).

Stádia získané syfilis

Primární syfilis: v místě vniknutí infekce do organismu se po 2–4 týdnech vytvoří tvrdý nebolestivý vřed, který po 4–6 týdnech samovolně zmizí.

Sekundární syfilis: infekce se šíří do celého organismu, charakteristické jsou především kožní projevy – exantém, vysoce infekční condylomata lata; dochází ke zduření uzlin. Toto stádium je posléze vystřídáno i několikaletým bezpříznakovým obdobím (latence).

Terciární syfilis: dochází k závažným postižením kůže, orgánů, srdce a kardiovaskulárního systému, očí a centrálního nervového systému.

U gravidních žen s primární nebo sekundární syfilis může dojít k přenesení infekce na plod. Dochází k abortu nebo k nakažení plodu a jeho postižení různého stupně (kongenitální syfilis).

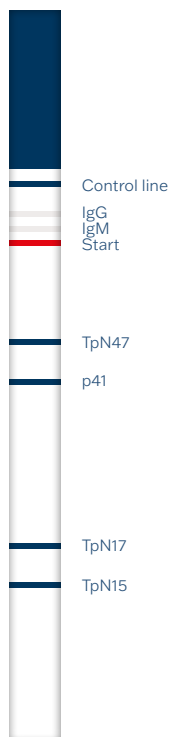
Použití souprav

- Diagnostika jednotlivých fází syfilis
- Konfirmační test netreponemových (VDRL, RPR aj.) a treponemových (TPHA, ELISA aj.) testů

Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE Treponema IgG	98,0 %	99,9 %
BLOT-LINE Treponema IgM	97,6 %	99,9 %

Antigeny



Vysoce specifické antigeny:

TpN47
TpN17
TpN15

Specifický antigen:

TpN41

BLOT-LINE

Treponema pallidum

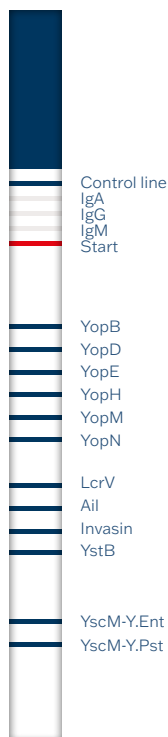
IMUNOBLLOT soupravy pro diagnostiku yersiniových infekcí

Úvod

Yersinie jsou patogenní gramnegativní bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* a jejich zástupci *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis* jsou známi jako lidské enteropatogeny. Přenašeči jsou latentně infikovaní teplokrevní živočichové. K nákaze dochází orálně při požití kontaminované vody nebo potravy.

Klinické příznaky vyskytující se u infekce *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis* mají velmi podobný charakter. Rozdíly jsou většinou pozorovány u střevních obtíží, pseudoapendicitidě a sepsi. Nejrozšířenější *Y. enterocolitica* u člověka způsobuje záněty tenkého, tlustého nebo slepého střeva provázené průjmy. Dále může způsobit záněty kloubů a zvětšení mizních uzlin. V průběhu infekce se mohou vyskytovat komplikace v podobě akutní reaktivní artritidy, erythema nodosum, akutní glomerulonefritidy a myokarditidy.

Antigeny



BLOT-LINE
Yersinia

YopB – Yersinia outer protein, transmembránový protein

YopD – Yersinia outer protein, transmembránový protein

YopE – Yersinia outer protein

YopH – Yersinia outer protein

YopM – Yersinia outer protein

YopN – Yersinia outer protein

LcrV – Low calcium response Virulence, důležitý pro sekreci YopD a YopB

Ail – Attachment-invasion locus protein, časná fáze, podílí se na procesu adheze a invaze a umožňuje yersiniím přežít mimo hostitelskou buňku, významný faktor virulence

Invasin – povrchový adhesin, který se váže na $\beta 1$ integriny na povrchu cílových buněk a uplatňuje se zejména v první fázi infekce, faktor virulence

YstB – Heat-stable enterotoxin B, odpovědný za virulenci a patogenitu kmenů *Y. enterocolitica* biotyp 1A

YscM-Y.ent – Yop proteins translocation protein M (specifický pro *Y. enterocolitica*)

YscM-Y.pst – Yop proteins translocation protein M (specifický pro *Y. pseudotuberculosis*)

Protilátková odpověď

Protilátky IgA, IgG a IgM mohou být detekovány v počáteční fázi po kontaktu s virulentními faktory Yersinia. Titry IgA a IgM po několika měsících klesnou.

Protilátky třídy IgG přetrvávají déle a mohou být v séru detekovány i po delší době než rok. U chronických forem onemocnění a imunopatologických komplikací může být pokles protilátek IgA pomalejší a k úplnému vymizení může dojít i po několika letech. Protilátky IgG mohou přetrvávat v některých případech i celý život.

Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE Yersinia IgA	94,2 %	99,9 %
BLOT-LINE Yersinia IgG	97,8 %	99,9 %
BLOT-LINE Yersinia IgM	90,0 %	98,5 %

IMUNOBLOT souprava pro diagnostiku protilátek proti cytoplasmě neutrofilů a GBM

Úvod

Antineutrofilní cytoplasmatické protilátky (ANCA) představují skupinu protilátek namířených proti antigenům cytoplazmy neutrofilních granulocytů a monocytů. Vyšetření ANCA protilátek patří mezi základní vyšetření v imunologických laboratořích. Velký význam má stanovení ANCA protilátek zejména při podezření na akutní vaskulitidy malých cév se závažným plicním poškozením nebo se selháním ledvin, ale i u některých nevaskulitických klinických syndromů jako jsou zánětlivá střevní onemocnění, například ulcerózní kolitida.

Nejčastějšími cílovými antigeny ANCA-asociovaných vaskulitid jsou myeloperoxidáza a proteináza 3.

Protilátky proti **myeloperoxidáze** (MPO) jsou označovány jako subtyp p-ANCA, protože tvoří perinukleární fluorescenční obraz. Do tohoto fluorescenčního subtypu ANCA protilátek patří i další protilátky, například proti laktoferinu, katepsinu G nebo elastáze. Nicméně u minimálně 60 % p-ANCA reaktivit je hlavním antigenem právě MPO. Anti-MPO protilátky jsou považovány za důležitý ukazatel především pro progredující nefritidy, nachází se ve velké míře u pacientů s vážným renálním poškozením. Významné jsou rovněž pro diagnostiku Churg-Straussovy syndromu nebo mikroskopickou polyangiitidu.

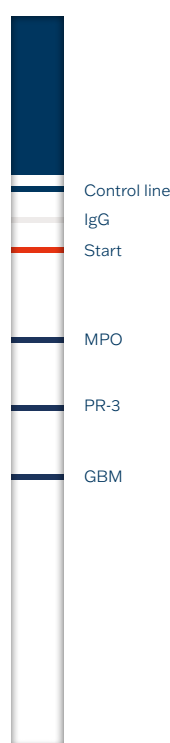
Protilátky proti **proteináze 3** (PR3) jsou označovány jako fluorescenční subtyp c-ANCA, tedy cytoplasmatické protilátky (zrnitá cytoplasmatická fluorescence). PR3 je neutrální serinová proteináza 3, nazývaná také jako Wegenerův autoantigen. Protilátky proti PR3 jsou vysoce specifickým ukazatelem v diagnostice Wegenerovy granulomatózy.

Přítomnost či nepřítomnost protilátek proti MPO a PR3 při současné pozitivitě antinukleárních protilátek může být považována za diferenciální marker mezi ANCA-asociovanými vaskulitidami a SLE indukovanou vaskulitidou.

Pro diagnostiku glomerulonefritid, které mohou být provázeny i plicní hemoragií (Goodpastureův pulmonerální syndrom), jsou významné protilátky proti **GBM (bazální membrána glomerulů; Goodpastureův antigen)**. Vzhledem k podobným klinickým příznakům se systémovými vaskulitidami, je vhodné provádět vyšetření anti-GBM protilátek a ANCA protilátek souběžně.

Ve všech uvedených případech platí, že aktivita a závažnost onemocnění úzce koreluje s koncentrací protilátek. Informace o nalezené hladině protilátek mohou tedy být využity i při sledování progresu onemocnění.

Antigeny



BLOT-LINE ANCA

Myeloperoxidáza (MPO)

– významný specifický znak pro diagnostiku rychle progredující nefritidy, nekrotizující glomerulonefritidy, pozitivní reakce u 70-90% pacientů s vážným ledvinovým poškozením; Churg-Strauss syndrom (CSS), mikroskopická polyangiitida (MPA) a jiné vaskulitidy.

Proteináza 3 (PR3)

– vysoce specifický sérologický znak pro diagnostiku Wegenerovy granulomatózy; mikroskopická polyarteritida, Churg-Strauss syndrom, v menší míře systémová skleróza, ulcerózní kolitida.

Bazální membrána glomerulů (GBM, Goodpastureův antigen)

– diagnosticky významné protilátky u glomerulonefritid; Goodpastureův pulmonerální syndrom (rychle progredující glomerulonefritida, u 2/3 pacientů s plicním krvácením).

Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
MPO	91,1 %	91,9 %
PR3	93,5 %	96,7 %
GBM	99,9 %	95,5 %

IMUNOBLOT souprava pro diagnostiku systémových autoimunitních onemocnění

Úvod

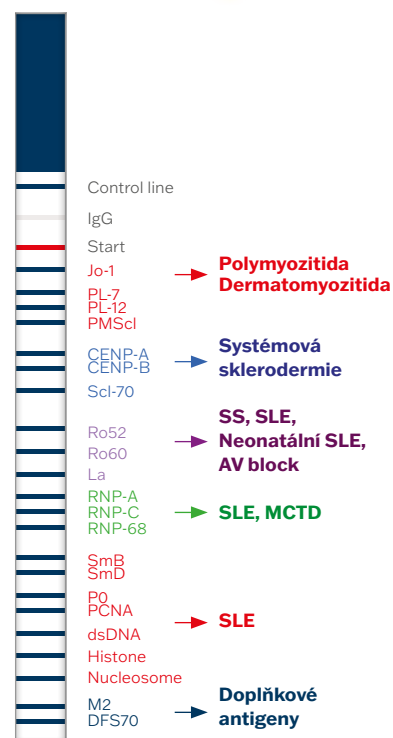
Stanovení antinukleárních protilátek má význam pro diagnostiku systémových autoimunitních onemocnění. Jde o skupinu autoproti látek namířených proti orgánově nespecifickým buněčným antigenům, které jsou lokalizovány v buněčném jádře, případně cytoplazmě. Jejich průkaz může znamenat přítomnost systémového imunopatologického procesu. Zejména se jedná o tato onemocnění: **Systémový lupus erythematoses (SLE), Sjögrenův syndrom (SjS), sklerodermii, dále pak smíšené onemocnění pojiva (MCTD), systémovou sklerózu, polymyozitidu a dermatomyozitidu.**

Významnou samostatnou skupinu antinukleárních protilátek představují protilátky proti extrahovatelným nukleárním antigenům ENA (SS-A/Ro, SS-B/La, Sm, RNP, Scl-70 a Jo-1), jde především o ribonukleoproteiny a jaderné enzymy.

Antinukleární protilátky zahrnují rovněž protilátky proti nukleovým kyselinám (ssDNA, dsDNA), komplexům nukleárních proteinů (DNP, RNP) a histonům.

Antigeny

BLOT-LINE ANA

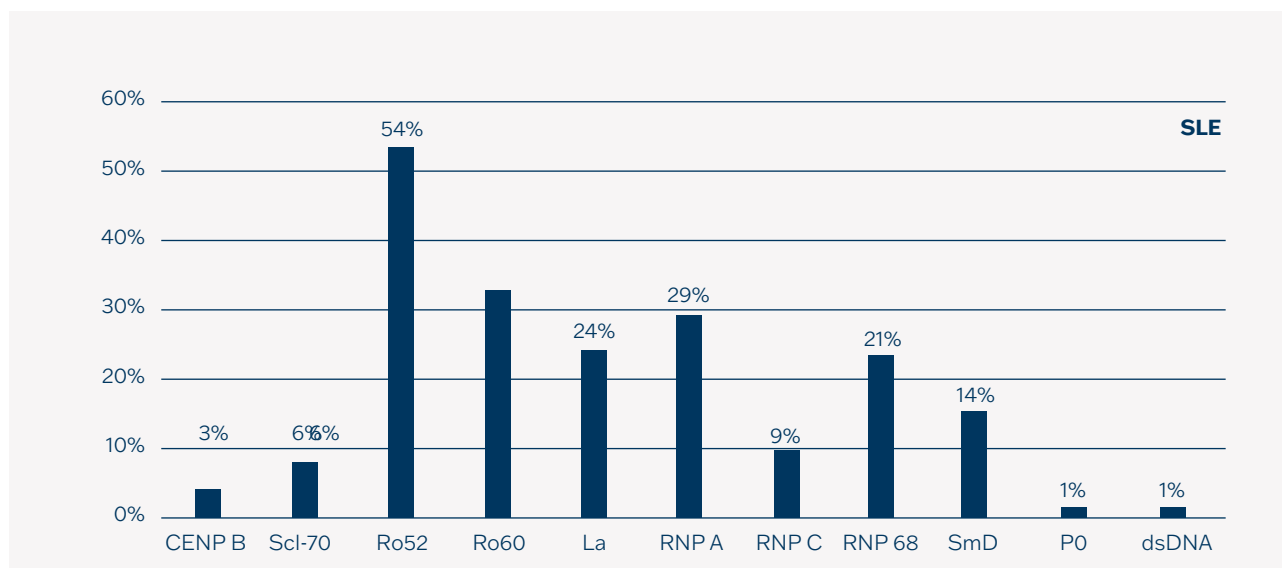


Charakteristiky souprav

Parametr	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE ANA	97,2 %	99,1 %

Klinická data

Detekce protilátek proti jednotlivým antigenům ve skupině pacientů s SLE – BLOT-LINE ANA



Objednací údaje

BLOT-LINE

Infekční serologie

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
ApGL10	BLOT-LINE Anaplasma IgG	10
ApML10	BLOT-LINE Anaplasma IgM	10
BpAL20	BLOT-LINE Bordetella IgA	20
BpGL20	BLOT-LINE Bordetella IgG	20
BpML20	BLOT-LINE Bordetella IgM	20
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
CAL020	BLOT-LINE Chlamydia IgA	20
CGL020	BLOT-LINE Chlamydia IgG	20
CpAL20	BLOT-LINE Chlamydia pneumoniae IgA	20
CpAG20	BLOT-LINE Chlamydia pneumoniae IgG	20
CpAM20	BLOT-LINE Chlamydia pneumoniae IgM	20
CtAL20	BLOT-LINE Chlamydia trachomatis IgA	20
CtGL20	BLOT-LINE Chlamydia trachomatis IgG	20
CMGL20	BLOT-LINE CMV IgG	20
CMML20	BLOT-LINE CMV IgM	20
EBAL20	BLOT-LINE EBV IgA	20
EBGL20	BLOT-LINE EBV IgG	20
EBML20	BLOT-LINE EBV IgM	20
HpAL20	BLOT-LINE Helicobacter IgA	20
HpGL20	BLOT-LINE Helicobacter IgG	20
MyAL20	BLOT-LINE Mycoplasma IgA	20
MyGL20	BLOT-LINE Mycoplasma IgG	20
MyML20	BLOT-LINE Mycoplasma IgM	20
TgAL20	BLOT-LINE Toxoplasma IgA	20
TgGL20	BLOT-LINE Toxoplasma IgG	20



FOLLOW US

BIOVENDOR.GROUP

DIAGNOSTICKÉ METODY – IMUNOBLOT

TgML20	BLOT-LINE Toxoplasma IgM	20
TpGL20	BLOT-LINE Treponema IgG	20
TpML20	BLOT-LINE Treponema IgM	20
YAL020	BLOT-LINE Yersinia IgA	20
YGL020	BLOT-LINE Yersinia IgG	20
YML020	BLOT-LINE Yersinia IgM	20

Autoimunita

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
ANC3L20	BLOT-LINE ANCA-3	20
ANAL20	BLOT-LINE ANA	20

WESTERN BLOT

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
TcGB16	BLOT Toxocara IgG	16

SOUVISEJÍCÍ PRODUKTY

<u>Kód</u>	<u>Produkt</u>
SwIm03	Immunoblot Software

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

Křižíkova 188/68, 612 00 Brno, Česká republika

trade@testlinecd.com

www.testlinecd.cz