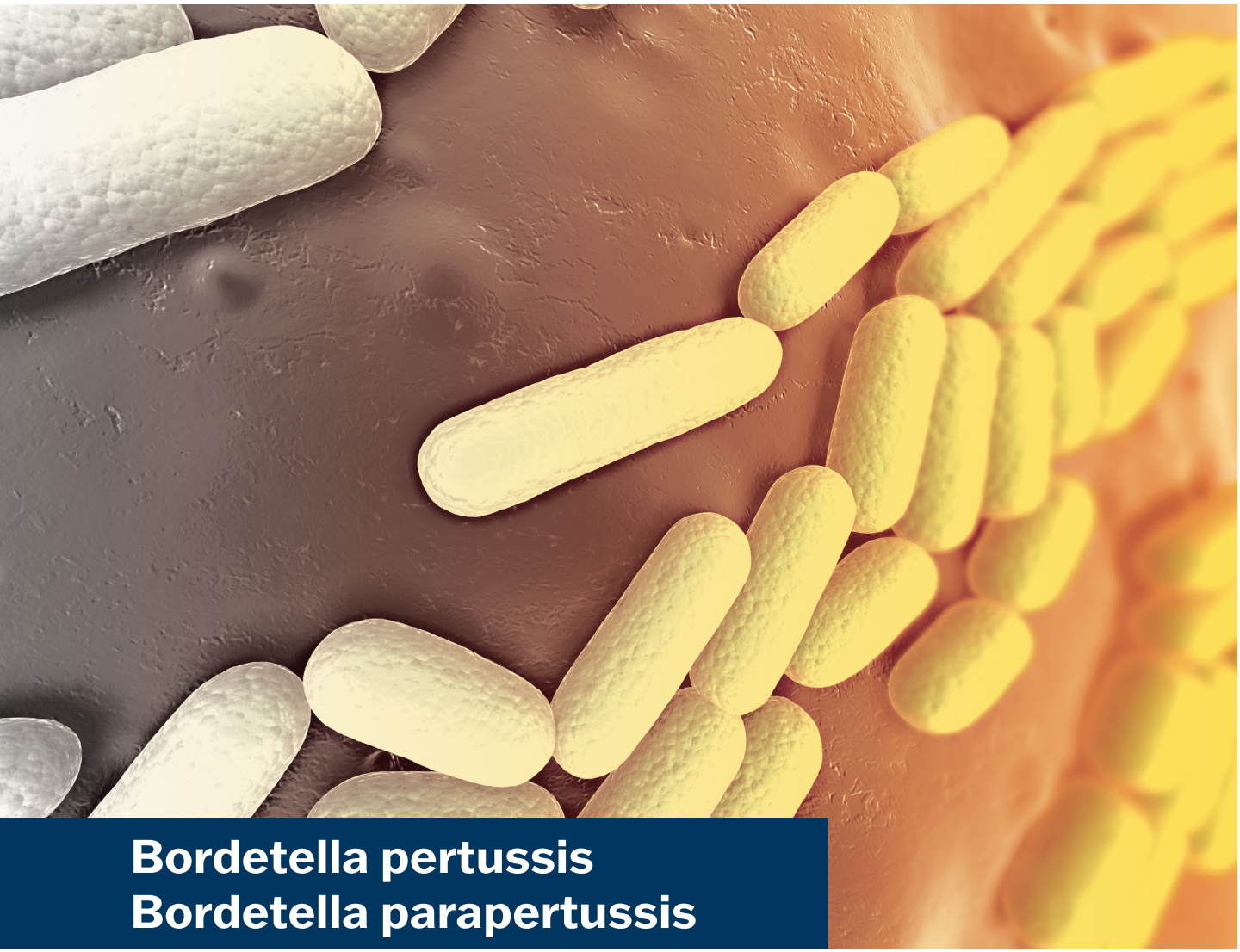
FOLLOW US



Bordetella pertussis
Bordetella parapertussis

Imunoenzymatické soupravy k diagnostice pertuse a parapertuse

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

CE IVD

Diagnostické soupravy jsou určeny pro profesionální použití v laboratoři.

BG TestLine®

BIOVENDOR.GROUP

Úvod

Pertuse (černý kašel, dávivý kašel) je onemocnění způsobené bakterií *Bordetella pertussis* a je považována za hlavního původce onemocnění. Typická forma pertuse má stádia:

Inkubační – trvá 6-20 dní.

Katarální – (1 – 2 týdny), kdy počáteční projevy (rýma, subfebrilie, mírný suchý dráždivý kašel) odpovídají příznakům běžného nachlazení. Během katarálního stadia se suchý dráždivý kašel zhoršuje a přechází v záchvatovitý kašel.

Paroxysmální – (2 – 6 týdnů) projevující se typickým příznakem nemoci v podobě dráždivého, záchvatovitého kašle. Počet a závažnost záchvatů v průběhu tohoto stadia stoupá, záchvaty kašle bývají provázeny dávením i zvracením.

Rekonvalescentní – (1 – 3 týdny) je charakterizováno snížením počtu záchvatů a zmírněním kašle.

Výskyt pertuse v posledních letech významně narůstá, mění se její epidemiologický charakter s posunem do vyšších věkových skupin dětí, adolescentů a dospělých, kde se obvykle vyskytuje v lehčí formě (suchý dráždivý kašel trvající 2 a více týdnů, ale bez typických záchvatů). Takto nemocné osoby se stávají zdrojem nákazy pro malé děti, u nichž nebyla provedena či dokončena vakcinace a u nichž může mít komplikovaný až fatální průběh.

Vakcinace proti pertusi je v ČR zahrnuta do pravidelného očkování podle platného očkovacího kalendáře a je základním předpokladem prevence onemocnění. Postvakcinační imunita postupně klesá, z tohoto důvodu se nově doporučuje i přeočkování rodičů a blízkých kontaktů novorozenců, včetně zdravotníků.

Po prodělané infekci vznikne imunita, která není celoživotní. V séru lze prokázat protilátky proti pertusovému toxinu, vláknitému hemaglutininu a fimbriím. Protilátky proti toxinu přetrvávají do dospělosti, protilátky proti hemaglutininu postupně mizí.

Onemocnění vyvolané *Bordetella parapertussis* probíhá obvykle s mírnějšími klinickými příznaky, bez závažných komplikací. Mírnější forma onemocnění je důsledkem absence pertusového toxinu.

Postvakcinační a postinfekční imunita získaná po onemocnění způsobeném *B. pertussis* nechrání před onemocněním způsobeném *B. parapertussis*.

Diagnostika onemocnění

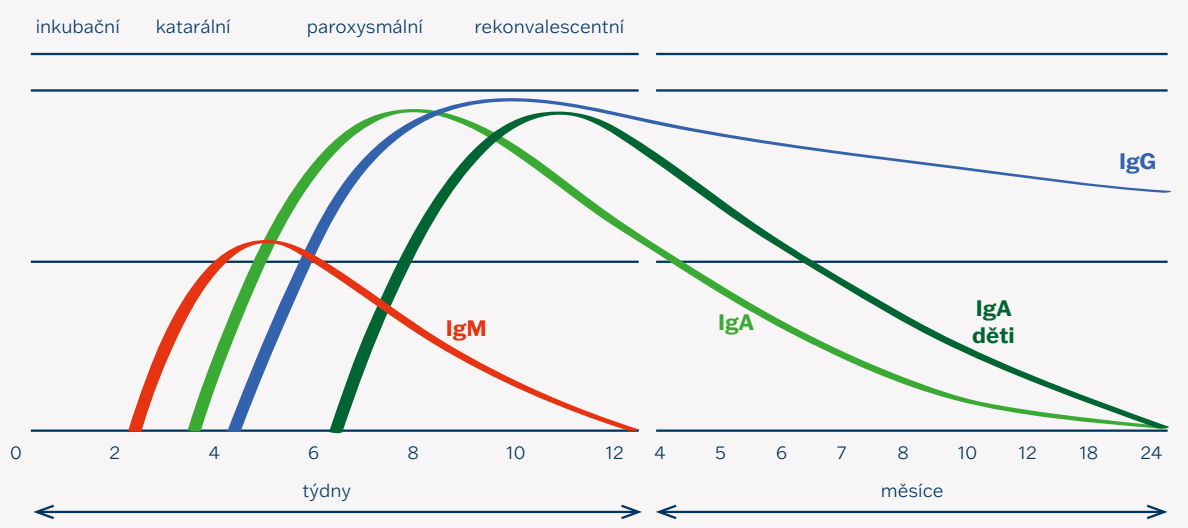
Klinický obraz onemocnění a epidemiologickou anamnézu doplňují laboratorní testy (přímá detekce původce onemocnění kultivací či PCR a průkaz specifických protilátek).

Sérologické vyšetření spočívá v průkazu specifických protilátek IgA, IgG a IgM. IgM protilátky jsou detekovatelné nejdříve, mají krátký poločas a přetrvávají po dobu 2–3 měsíců. IgA protilátky mohou být stanoveny už po 1–2 týdnech a mohou persistovat 6–24 měsíců v závislosti na věku. IgG protilátky se vyskytují nejdříve za 2–3 týdny po začátku nemoci a dosahují svého maxima po 6–8 týdnech, jsou detekovatelné do dospělosti a mohou persistovat po několik let.

U dětí probíhá tvorba IgA protilátek pomaleji, u kojenců se v detekovatelné hladině objevují až cca 6-7 týdnů po infekci. U mladších dětí jsou vhodné pro časnou diagnózu akutní infekce specifické IgM, u starších dětí vykazují lepší diagnostické vlastnosti specifické IgA protilátky.

Pro správnou interpretaci sérologických výsledků je nutné zohlednit klinický obraz onemocnění, epidemiologická data, údaje o vakcinaci a eventuálně další laboratorní nálezy, jež jsou k dispozici. Vzorky s nejasnými výsledky by měly být znovu testovány po 2–3 týdnech, v závislosti na klinickém stavu pacienta.

Protilátková odpověď



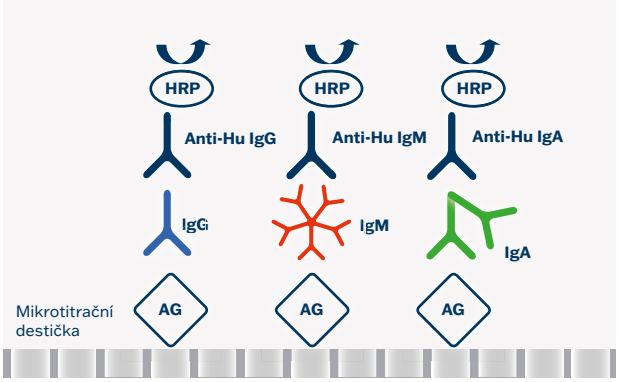
Interpretace výsledků testu *B. pertussis* / *B. parapertussis*

IgG	IgA	IgM	Interpretace
+	+	+	Přítomnost IgA, IgG, příp. i IgM protilátek – nedávná nebo probíhající přirozená infekce
+	+	–	
+	–	+	Přítomnost protilátek IgM a IgG v nepřítomnosti IgA – může indikovat stav po nedávné vakcinaci (*B. pertussis*), příp. časnou fázi infekce bez tvorby IgA protilátek
–	+	+	Přítomnost IgA protilátek, případně současná přítomnost IgM protilátek – infekce v časné fázi
–	+	–	
–	–	+	Přítomnost pouze IgM protilátek – časná fáze infekce
+	–	–	Přítomnost pouze IgG protilátek – předchozí infekce anebo stav po dřívější vakcinaci (*B. pertussis*)
–	–	–	Nejsou přítomny protilátky – při podezření na infekci doporučeno otestovat nový vzorek za 2 – 3 týdny

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)
	2.	Dávkování kontrol a ředěných vzorků 100 µl – blank = prázdná jamka
	3.	Inkubace 30 min. při 37 °C
	4.	Odsátí a promytí jamek 5 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 30 min. při 37 °C
	10.	Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl – včetně blanku
	11.	Fotometrické měření při 450 nm

Antigeny

EIA *Bordetella pertussis*
Vysoce purifikovaný toxin *Bordetella pertussis*

EIA *Bordetella parapertussis*
Směs antigenů specifických pro *Bordetella parapertussis*

Použití souprav

- Vyhledávací testy k průkazu pertuse a parapertuse u člověka
- Průkaz postinfekčních a postvakcinačních protilátek (*B. pertussis*)
- Diagnostika fáze onemocnění pomocí signifikantního vzestupu nebo poklesu protilátek

Uživatelský komfort

- Komponenty v pracovním ředění
- Barevně odlišené reagencie, zaměnitelnost
- Barevně značené stripy s odlamovacími jamkami
- Kalibrátory a kontroly
- Kvantitativní hodnocení výsledků (IU/ml)
  - *B. pertussis*
- Semikvantitativní hodnocení výsledků (IP)
  - *B. parapertussis*
- Standardizace podle WHO International Standard Pertussis Antiserum 06/140 a 06/142
- Vysoká diagnostická účinnost a dobrá reprodukovatelnost
- Vysoká dynamika testů, identický pracovní postup
- Celková doba vyšetření 1,5 hodiny

Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
EIA Bordetella pertussis Toxin IgA	95,8 %	99,9 %
EIA Bordetella pertussis Toxin IgG	97,1 %	99,9 %
EIA Bordetella pertussis Toxin IgM	90,5 %	92,0 %
EIA Bordetella parapertussis IgA	93,3 %	99,9 %
EIA Bordetella parapertussis IgG	96,7 %	99,9 %
EIA Bordetella parapertussis IgM	68,8 %	99,9 %

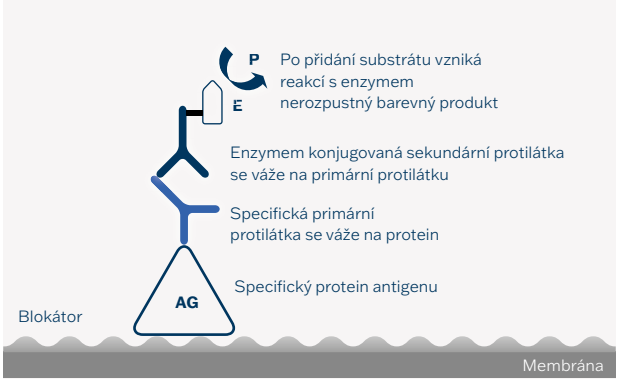
EIA

SmartEIA

IMUNOBLOT

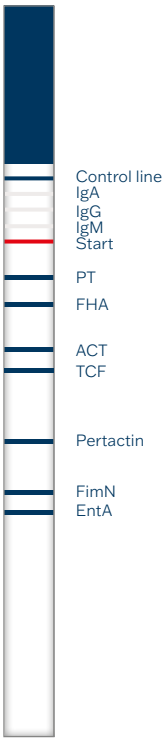
Princip testu

Rekombinantní antigeny *B. pertussis* a *B. parapertussis* jsou přeneseny na nitrocelulózovou membránu.



Antigeny

BLOT-LINE
Bordetella



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*, adhezní 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 produkovaný 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, neprodukovaný *B. pertussis*

EntA Entericidin A – membránový lipoprotein

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 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

- Průkaz stádia infekce
- Rozlišení postinfekční a postvakcinační imunity
- Diferenciální diagnostika pertuse a parapertuse
- Konfirmační metoda k ELISA a/nebo aglutinační reakci
- Podrobné stanovení přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům

Uživatelský komfort

- Jednoduchá interpretace a reprodukovatelnost výsledků
- Vysoká diagnostická citlivost a specificita
- Vhodné pro automatické systémy
- Komplexní zákaznický servis
- Standardizace podle WHO International Standard Pertussis Antiserum 06/140

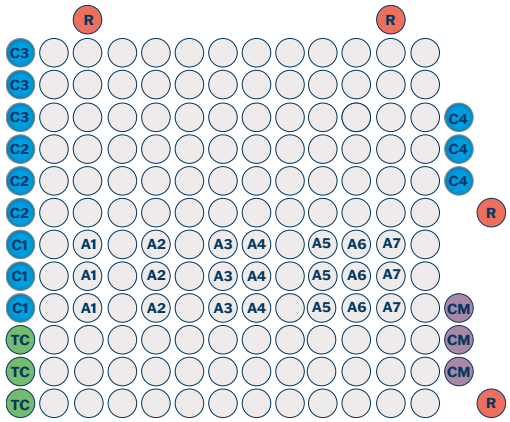
Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
BLOT-LINE Bordetella pertussis IgA	95,5 %	95,6 %
BLOT-LINE Bordetella pertussis IgG	99,0 %	95,6 %
BLOT-LINE Bordetella parapertussis IgA	99,0 %	87,0 %
BLOT-LINE Bordetella parapertussis IgG	88,9 %	96,4 %

IMUNOBLOT

MICROBLOT-ARRAY

Rozložení antigenů a kontrolních spotů



Popis antigenů

A1 – PT
A2 – FHA
A3 – ACT
A4 – TCF
A5 – Pertactin
A6 – FimN
A7 – EntA

Popis kontrolních spotů

R – Reference
TC – Test control
CA – Conjugate control IgA
CG – Conjugate control IgG
CM – Conjugate control IgM
C1 – Calibration 1
C2 – Calibration 2
C3 – Calibration 3
C4 – Calibration 4

Pracovní postup

Krok		Kroky testu
	1.	Dávkování Univerzálního roztoku 150 µl
	2.	Smáčení 10 min při laboratorní teplotě
	3.	Odsátí
	4.	Ředění vzorků – séra/plazmy 1:51 (10 µl + 500 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

Uživatelský komfort

- Nízká spotřeba vzorku
- Antigeny spotovány v tripletu - minimalizace chyby provedení
- Kvantitativní vyhodnocení (U/ml)
- Paralelní vyšetření více markerů současně
- Vysoká citlivost a specifita
- Standardizace podle WHO International Standard Pertussis Antiserum 06/140

Microblot-Array

Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
Microblot-Array Bordetella pertussis IgA	95,4 %	100,0 %
Microblot-Array Bordetella parapertussis IgA	96,9 %	100,0 %
Microblot-Array Bordetella pertusis IgG	97,6 %	100,0 %
Microblot-Array Bordetella parapertussis IgG	97,1 %	100,0 %
Microblot-Array Bordetella pertussis IgM	95,4 %	100,0 %
Microblot-Array Bordetella parapertussis IgM	95,8 %	100,0 %

Zkřížená reaktivita soupravy na panelu potenciálně zkříženě reagujících vzorků (*Bordetella perrtusis* test)

Kategorie	n	Pozitivní výsledek	Negativní výsledek	Zkřížená reaktivita
EBV	8	0	8	0,00 %
CMV	15	0	15	0,00 %
Chlamydia pneumoniae	37	1	36	2,70 %
Mycoplasma pneumoniae	35	1	34	2,86 %

Zkřížená reaktivita soupravy na panelu potenciálně zkříženě reagujících vzorků (*Bordetella parapertussis* test)

Kategorie	n	Pozitivní výsledek	Negativní výsledek	Zkřížená reaktivita
EBV	8	0	8	0,00 %
CMV	15	0	15	0,00 %
Chlamydia pneumoniae	37	1	36	2,70 %
Mycoplasma pneumoniae	35	1	34	2,86 %

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

Objednací údaje

ELISA

Kód	Název soupravy	Počet testů
BpAT96	EIA Bordetella pertussis Toxin IgA	96
BpGT96	EIA Bordetella pertussis Toxin IgG	96
BpMT96	EIA Bordetella pertussis Toxin IgM	96
BppA96	EIA Bordetella parapertussis IgA	96
BppG96	EIA Bordetella parapertussis IgG	96
BppM96	EIA Bordetella parapertussis IgM	96
SK-BpAT96	SmartEIA Bordetella pertussis Toxin IgA	96
SK-BpGT96	SmartEIA Bordetella pertussis Toxin IgG	96
SK-BpMT96	SmartEIA Bordetella pertussis Toxin IgM	96
SK-BppA96	SmartEIA Bordetella parapertussis IgA	96
SK-BppG96	SmartEIA Bordetella parapertussis IgG	96
SK-BppM96	SmartEIA Bordetella parapertussis IgM	96

Soupravy SmartEIA jsou koncipovány pro automatické zpracování na přístroji Agility.

IMUNOBLOT

Kód	Název soupravy	Počet testů
BpAL20	BLOT-LINE Bordetella IgA	20
BpGL20	BLOT-LINE Bordetella IgG	20
BD-BpAL24	BlueBLOT-LINE Bordetella IgA	24
BD-BpGL24	BlueBLOT-LINE Bordetella IgG	24
SwIm03	Immunoblot Software	1 ks

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

FOLLOW US

Objednací údaje

MICROBLOT-ARRAY

Kód	Název soupravy	Počet testů
BpAMA48	Microblot-Array Bordetella IgA	48
BpGMA48	Microblot-Array Bordetella IgG	48
BpMMA48	Microblot-Array Bordetella IgM	48

BIOVENDOR.GROUP

TestLine®

TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.
Křižíkova 188/68, 612 00 Brno, Česká republika
trade@testlinecd.com
www.testlinecd.cz

V05/2025