

Cytomegalovirus

Imunoenzymatické soupravy k diagnostice cytomegalovirové infekce

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

IVD **CE** 2265

Diagnostické soupravy jsou určeny
pro profesionální použití v laboratoři.

**B
G** **TestLine**®

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

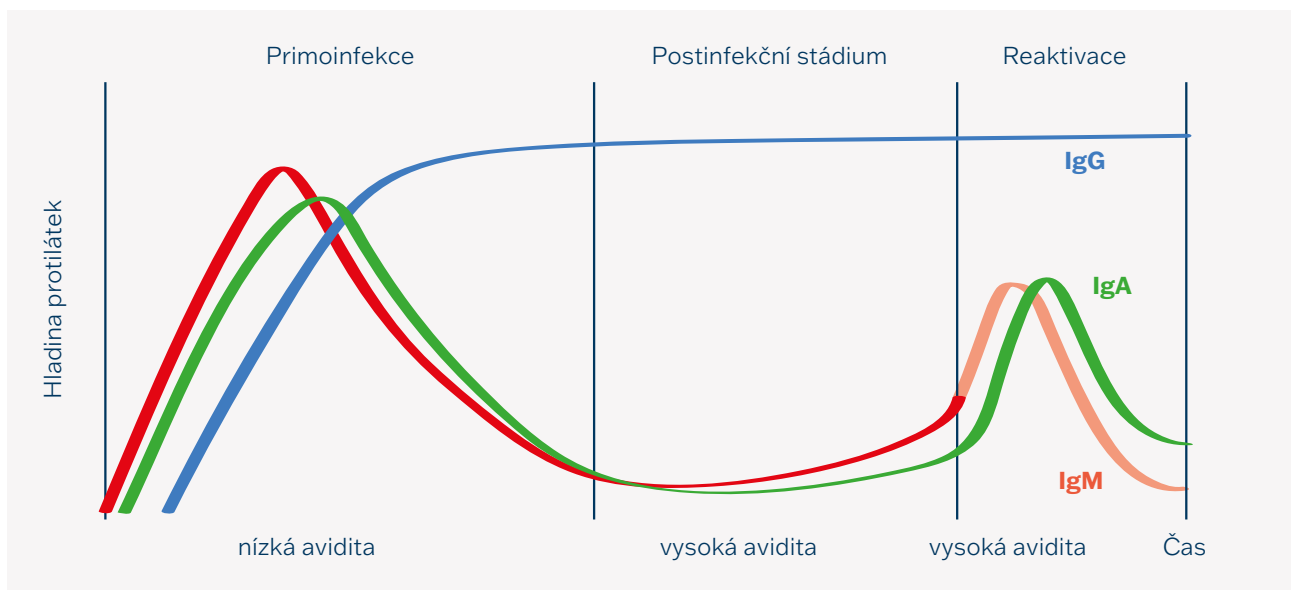
IgA: Protilátky třídy IgA jsou ukazatelem aktivní infekce, tj. primoinfekce a reaktivace. Při reaktivaci dochází k produkci protilátek tříd IgA, která může, ale často není provázena nálezem specifických IgM. Protilátky třídy IgA tak mají velký význam pro potvrzení reaktivace CMV při současném výskytu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



Interpretace výsledků

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

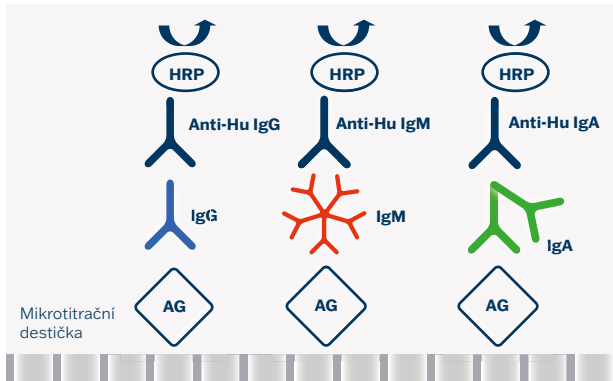
Specifické antigeny

Antigeny	Popis
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
IEA (p72)	Immediate early antigen, capsid protein UL123 Hraje roli v časně fázi replikačního cyklu lidského CMV Významná funkce v obranných mechanismech proti CMV infekci
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
gB	Membránový glykoprotein B Protilátková odpověď v IgG třídě – cca 50–100 dní po primární infekci

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) – mozkomíšni moky 1:3 (50 µl + 100 µl)
	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) – včetně blanku
	9. Inkubace 30 min. při 37 °C
	10. Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl – včetně blanku
	11. 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 pozitivity-IP) nebo kvantitativní hodnocení výsledků (U/ml)

Charakteristiky souprav

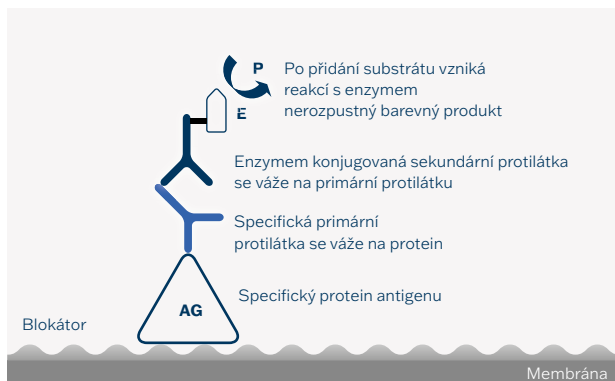
ELISA	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
EIA CMV IgA	94,7 %	95,8 %
EIA CMV IgG	98,8 %	98,9 %
EIA CMV IgM	98,5 %	98,9 %

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

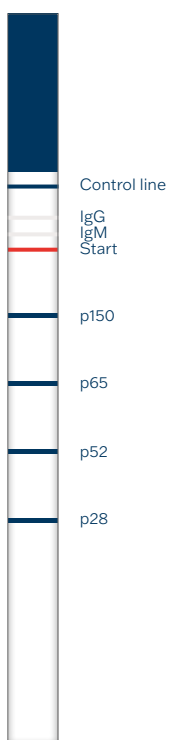
IMUNOBLLOT

Princip testu

Rekombinantní a vysoce purifikované antigeny jsou naneseny na nitrocelulóзовou membránu.



Antigeny



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 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

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 %

Uživatelský komfort

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

Výhody souprav

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

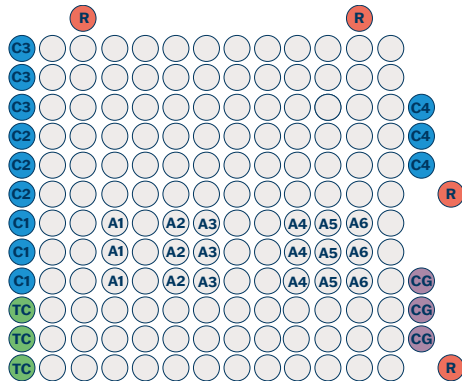
Interpretace výsledků

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



MICROBLOT-ARRAY

Rozložení antigenů a kontrolních spotů



Popis antigenů

- A1** – p150
- A2** – IEA (p72)
- A3** – p65
- A4** – p52
- A5** – p28
- A6** – CMV gB

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

Uživatelský komfort

- Nízká spotřeba vzorku
- Antigeny spotovány v tripletu - minimalizace chyby provedení
- Možnost automatického zpracování a vyhodnocení výsledků pomocí intenzity spotů (AU), pomocí IP či kvantitativní (U/ml)
- Paralelní vyšetření více markerů současně
- Vysoká citlivost a specifita

Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
Microblot-Array CMV IgG	98,1 %	99,9 %
Microblot-Array CMV IgM	96,9 %	99,1 %

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) – mozkomíšního moku 1:3 (50 µl + 100 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

Objednací údaje

ELISA

Kód	Název soupravy	Počet testů
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 www.testlinecd.cz)	3,5 ml
xxxTLP	CKS pozitivní (dle seznamu na www.testlinecd.cz)	3,5 ml

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

IMUNOBLLOT

Kód	Název soupravy	Počet testů
CMGL20	BLOT-LINE CMV IgG	20
CMML20	BLOT-LINE CMV IgM	20

MICROBLLOT-ARRAY

Kód	Název soupravy	Počet testů
CMGMA48	Microblot-Array CMV IgG	48
CMMMA48	Microblot-Array CMV IgM	48



TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.

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



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