

Mycoplasma pneumoniae

Imunoenzymatické soupravy k diagnostice mykoplazmové infekce

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



Diagnostické soupravy jsou určeny
pro profesionální použití v laboratoři.



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.

Diagnostika onemocnění

Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obrazu, epidemiologické anamnéze a laboratorních testech. Vzhledem k obtížné kultivaci *Mycoplasma pneumoniae* je pro rutinní diagnostiku vhodnou možností stanovení specifických protilátek tříd IgA, IgG a IgM v séru nebo plazmě metodou ELISA.

Diagnostický význam jednotlivých tříd protilátek

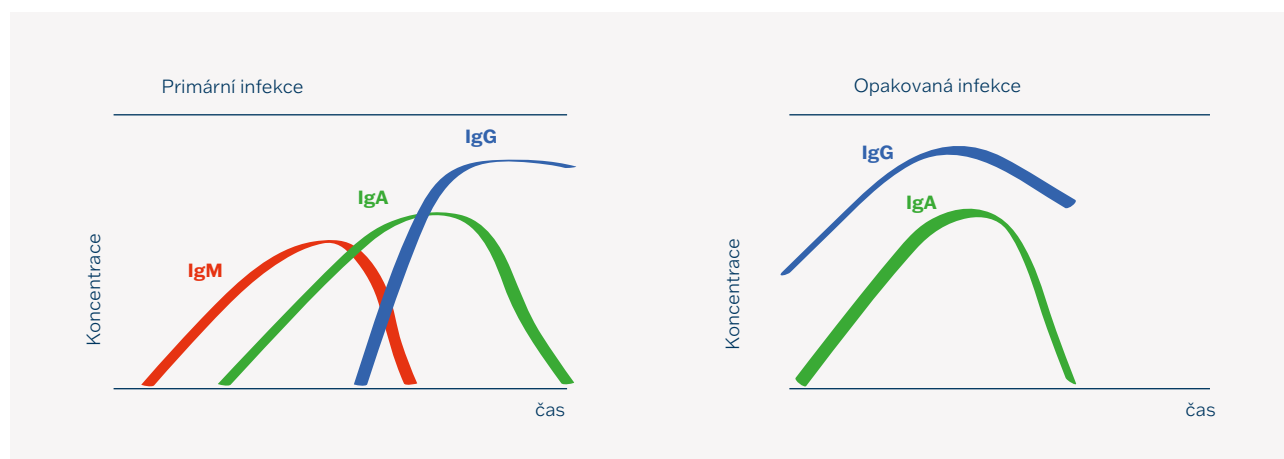
IgM: Při primoinfekci dochází k vzestupu protilátek třídy IgM 1.–2. týden po infekci, maxima dosahují cca 1 měsíc od začátku onemocnění a mohou perzistovat více než 1 rok. Výskyt specifických IgM protilátek u pacientů do 20 let je 80 %, u pacientů nad 20 let je 40 %. Při reinfekcích zpravidla nedochází k jejich vzestupu.

IgA: K vzestupu protilátek třídy IgA dochází obvykle později než u IgM, častý je jejich časnější pokles. Význam mají zejména v případech 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.

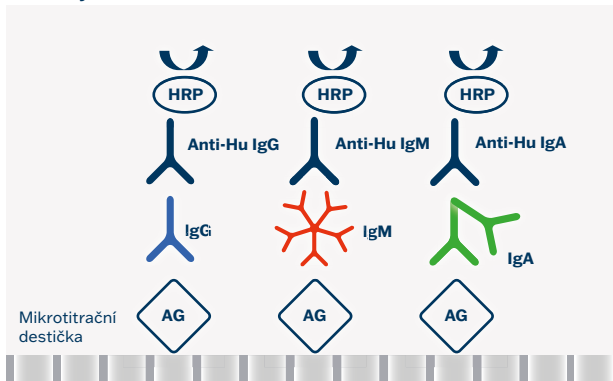
Protilátková odpověď



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 Mycoplasma

Purifikovaný a inaktivovaný antigen *M. pneumoniae* obohacený o vysoce specifické imunodominantní epitopy

EIA Mycoplasma REC

Směs vysoce specifických rekombinantních antigenů

Použití souprav

- Vyhledávací test k průkazu mykoplazmové infekce u člověka
- Semikvantitativní či kvantitativní vyhodnocení je vhodné pro sledování úspěšnosti terapie

Uživatelský komfort

- Komponenty v pracovním ředění
- Barevně odlišené reagensie
- Zaměnitelnost komponent
- Barevně značené stripy s odlamovacími jamkami
- CUT-OFF kontrola
- Semikvantitativní hodnocení výsledků (Index positivity-IP)
- Kalibrátory
- Kvantitativní hodnocení výsledků (U/ml)

Výhody souprav

- Vysoká diagnostická účinnost
- Dobrá reprodukovatelnost
- Vysoká dynamika testů
- Identický pracovní postup
- Celková doba vyšetření 1,5 hodiny
- Vhodné pro otevřené automatické systémy
- Možnost nezávislé verifikace (CKS)
- Komplexní zákaznický servis

Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
EIA Mycoplasma IgA	99,9 %	84,6 %
EIA Mycoplasma IgG	99,9 %	85,7 %
EIA Mycoplasma IgM	96,7 %	98,8 %
EIA Mycoplasma REC IgA	95,0 %	95,4 %
EIA Mycoplasma REC IgG	95,4 %	95,5 %
EIA Mycoplasma REC IgM	99,0 %	97,7 %

EIA



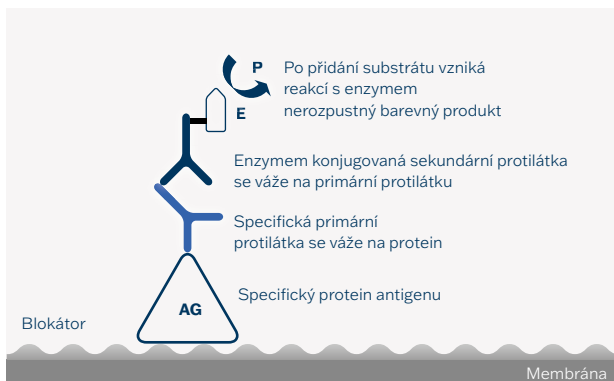
SmartEIA



IMUNOBLOT

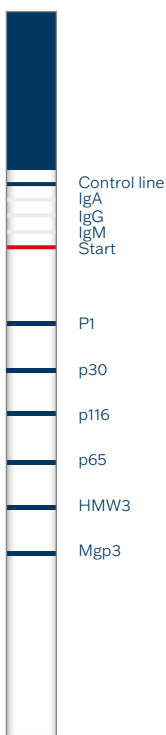
Princip testu

Rekombinantní antigeny jsou naneseny na nitrocelulózovou membránu pomocí mikrodispensních metod.



Antigeny

BLOT-LINE Mycoplasma



P1 – Adhezín; nejdůležitější protein, hlavní faktor virulence

p30 – Cytadhezín p30; 2. nejdůležitější protein, hlavní faktor virulence

p116 – Adhezín, 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)

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

- Podrobné stanovení přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům *Mycoplasma pneumoniae*
- Konfirmace sporných výsledků
- Konfirmační test ELISA vyšetření

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

Charakteristiky souprav

<u>Parametr</u>	<u>Diagnostická citlivost</u>	<u>Diagnostická specifita</u>
BLOT-LINE Mycoplasma IgA	93,3 %	93,7 %
BLOT-LINE Mycoplasma IgG	92,4 %	96,0 %
BLOT-LINE Mycoplasma IgM	90,3 %	95,1 %

IMUNOBLLOT

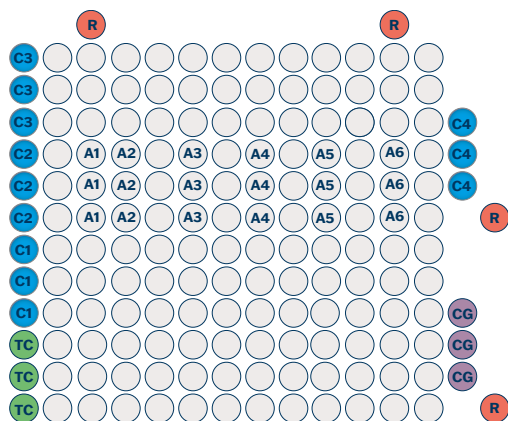


Interpretace výsledků

<u>IgG</u>	<u>IgA</u>	<u>IgM</u>	<u>Hodnocení</u>
-	-	-	Žádný sérologický průkaz infekce mycoplasmové pneumonie
-	+	+	Časná fáze akutní infekce nebo reinfekce
-	+	-	Časná fáze akutní infekce nebo reinfekce
+	+	+	Akutní infekce
+	-	+	Akutní infekce (pozdní fáze)
+	+	-	Reinfekce nebo infekce bez tvorby IgM
+	-	-	Prodělaná infekce nebo reinfekce
-	-	+	Časná fáze akutní infekce

MICROBLOT-ARRAY

Rozložení antigenů a kontrolních spotů











Popis antigenů

- A1** – P1
- A2** – P30
- A3** – P116
- A4** – P65
- A5** – HMW3
- A6** – Mgp3

Popis kontrolních spotů

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

Pracovní postup

<u>Krok</u>	<u>Kroky testu</u>
	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
- Možnost automatického zpracování a kvantitativní vyhodnocení (U/ml)
- Paralelní vyšetření více markerů současně
- Vysoká citlivost

Microblot-Array



Charakteristiky souprav

Parametr	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
Microblot-Array Mycoplasma IgA	97,1 %	99,3 %
Microblot-Array Mycoplasma IgG	95,7 %	99,0 %

Zkřížená reaktivita

soupravy Mycoplasma IgA na panelu potenciálně zkříženě reagujících vzorků

<u>Kategorie</u>	<u>n</u>	<u>Pozitivní výsledek</u>	<u>Negativní výsledek</u>	<u>Zkřížená reaktivita</u>
RF	22	1	21	4,6 %
EBV	21	0	21	0,0 %
ANA	22	1	21	4,6 %
Chlamydia pneumoniae	23	1	22	4,4 %
Bordetella pertussis	16	0	16	0,0 %
CMV	15	0	15	0,0 %
Legionella pneumophila	3	0	3	0,0 %

soupravy Mycoplasma IgG na panelu potenciálně zkříženě reagujících vzorků

<u>Kategorie</u>	<u>n</u>	<u>Pozitivní výsledek</u>	<u>Negativní výsledek</u>	<u>Zkřížená reaktivita</u>
RF	16	0	21	0,0 %
EBV	18	0	21	0,0 %
ANA	22	0	21	0,0 %
Chlamydia pneumoniae	17	0	22	0,0 %
Bordetella pertussis	15	0	16	0,0 %
CMV	15	0	15	0,0 %
Legionella pneumophila	4	0	3	0,0 %

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



Objednací údaje

ELISA

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
MyA096	EIA Mycoplasma IgA	96
MyG096	EIA Mycoplasma IgG	96
MyM096	EIA Mycoplasma IgM	96
MyAR96	EIA Mycoplasma REC IgA	96
MyGR96	EIA Mycoplasma REC IgG	96
MyMR96	EIA Mycoplasma REC IgM	96
SK-MyA096	SmartEIA Mycoplasma IgA	96
SK-MyG096	SmartEIA Mycoplasma IgG	96
SK-MyM096	SmartEIA Mycoplasma IgM	96
SK-MyAR96	SmartEIA Mycoplasma REC IgA	96
SK-SK-MyGR96	SmartEIA Mycoplasma REC IgG	96
SK-MyMR96	SmartEIA Mycoplasma REC 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.

IMUNOBLOT

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
MyAL20	BLOT-LINE Mycoplasma IgA	20
MyGL20	BLOT-LINE Mycoplasma IgG	20
MyML20	BLOT-LINE Mycoplasma IgM	20
SwIm03	Immunoblot Software	1



FOLLOW US

BIOVENDOR.GROUP

Objednací údaje

MICROBLOT-ARRAY

<u>Kód</u>	<u>Název soupravy</u>	<u>Počet testů</u>
MyAMA48	Microblot-Array Mycoplasma IgA	48
MyGMA48	Microblot-Array Mycoplasma IgG	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