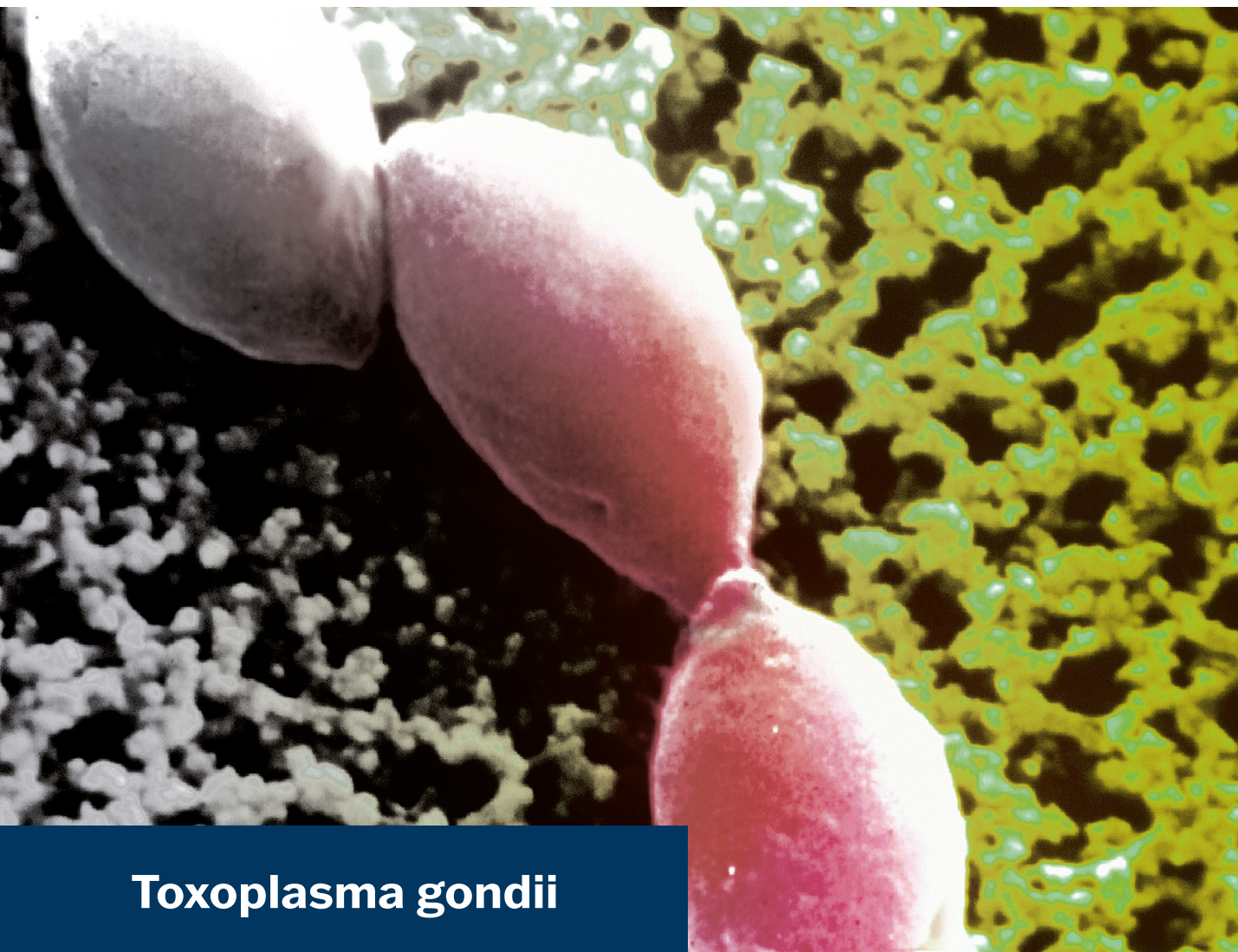




**Toxoplasma gondii**

## Imunoenzymatické soupravy k diagnostice toxoplazmózy

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



Diagnostické soupravy jsou určeny  
pro profesionální použití v laboratoři.



## Úvod

Toxoplazmóza je parazitární onemocnění, jehož původcem je prvok *Toxoplasma gondii*. Jedná se o parazita se složitým vývojovým cyklem, který se vyskytuje v několika morfologicky odlišných stádiích. 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.

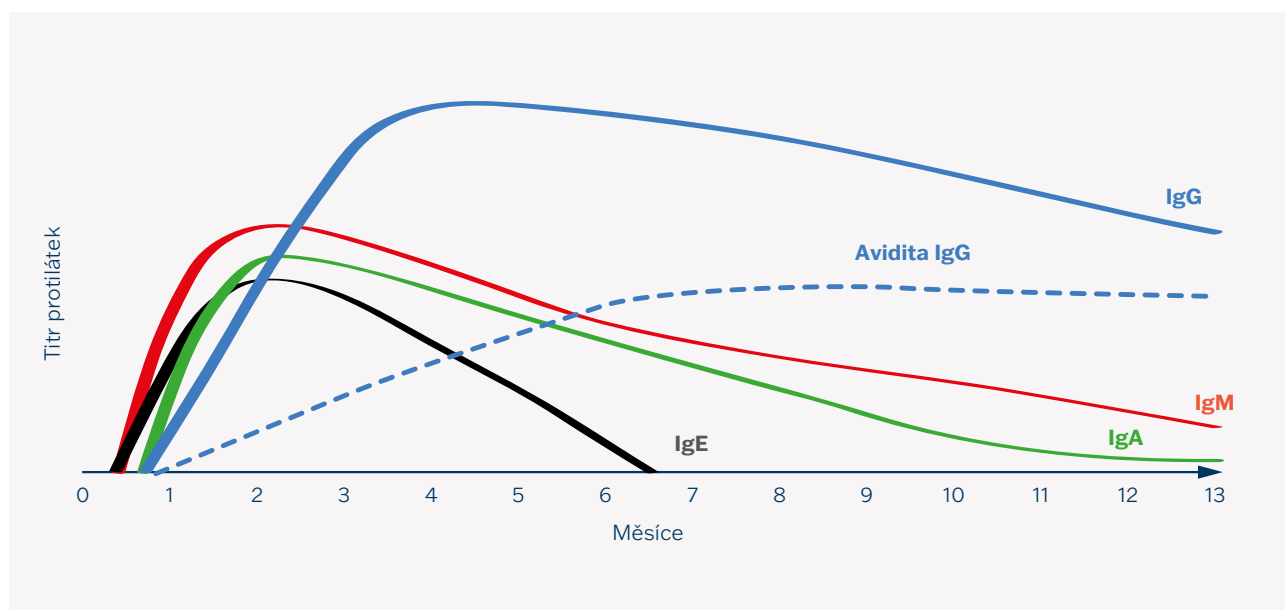
Vrozená toxoplazmóza je způsobena přenosem infekce z matky na plod. Primoinfekce matky krátce před otěhotněním nebo v graviditě může vést k abortu, porodu mrtvého dítěte nebo porodu dítěte s různým stupněm poškození (kalcifikace mozku, hydrocefalus, poruchy zraku, ovlivnění duševního vývoje).

## Diagnostika onemocnění

Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obrazu, epidemiologické anamnéze a laboratorních testech. Přímá detekce parazita není dostupná pro rutinní diagnostiku. Významnou roli v diagnostice hraje sérologie.

Významnou roli v diagnostice hraje sérologie – stanovení specifických protilátek třídy IgA, IgE, IgM a IgG metodou ELISA, případně konfirmační metodou IMUNO-BLOT.

## Protilátková odpověď



# ELISA

IgM protilátky:

- Vysoce senzitivní marker akutní infekce
- Mohou přetrvávat déle než rok po prodělání akutní infekce

IgA protilátky:

- Senzitivní a specifický marker akutní infekce
- Přetrvávají 6-9 měsíců po prodělání akutní infekce

IgE protilátky:

- Vysoce specifický marker akutní infekce
- Přetrvávají méně než 6 měsíců po prodělání akutní infekce

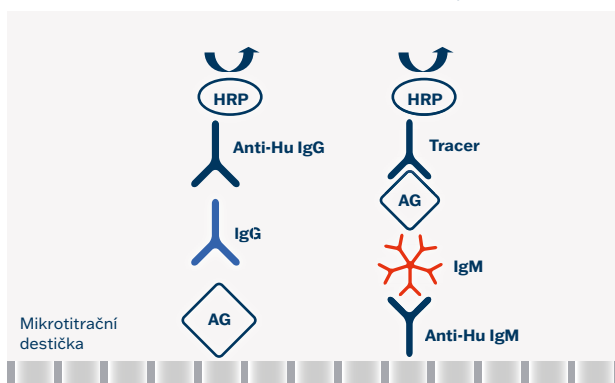
IgG protilátky:

- Přetrvávají dlouhodobě (mnoho let)
- Zajišťují ochranu před novou infekcí
- Stanovení avidity umožňuje přesnější určení fáze onemocnění

## Princip testu

Sandwich ELISA

Capture ELISA



## Antigeny

Purifikovaný a inaktivovaný nativní antigen  
*T. gondii* (RH kmen)

## Použití souprav

- Diagnostika toxoplazmózy: vhodná je kombinace stanovení celkových a specifických protilátek třídy IgA, IgE, IgM a IgG včetně testu avidity

## Pracovní postup

| Krok | Kroky testu                                                                         |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|      | <b>1.</b> Ředění vzorků<br>- séra/plazmy 1:101 (10 µl + 1 ml)                       |
|      | <b>2.</b> Dávkování kalibrátorů a ředěných vzorků 100 µl<br>- blank = prázdná jamka |
|      | <b>3.</b> Inkubace 60 min. při 37 °C                                                |
|      | <b>4.</b> Odsátí a promytí jamek 5 krát                                             |
|      | <b>5.</b> Dávkování Konjugátu nebo Traceru 100 µl<br>- blank = prázdná jamka        |
|      | <b>6.</b> Inkubace 60 min. při 37 °C                                                |
|      | <b>7.</b> Odsátí a promytí jamek 5 krát                                             |
|      | <b>8.</b> Dávkování substrátu (TMB-Complete) 100 µl<br>- včetně blanku              |
|      | <b>9.</b> Inkubace 30 min. při 37 °C                                                |
|      | <b>10.</b> Dávkování Zastavovacího roztoku 100 µl<br>- včetně blanku                |
|      | <b>11.</b> Fotometrické měření při 450 nm                                           |

## Uživatelský komfort

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

## Výhody souprav

- Vysoká diagnostická účinnost
- Dobrá reprodukovatelnost
- Vysoká dynamika testů
- Identický pracovní postup
- Celková doba vyšetření 1,5 hodiny
- Aviditní test (EIA Toxoplasma IgG)
- Capture metoda (EIA Toxoplasma IgA, IgE, IgM)
- Vhodné pro otevřené automatické systémy
- Možnost nezávislé verifikace (CKS)
- Komplexní zákaznický servis

## Charakteristiky souprav

| ELISA              | Diagnostická citlivost | Diagnostická specifita |
|--------------------|------------------------|------------------------|
| EIA Toxoplasma IgA | 96,9 %                 | 99,0 %                 |
| EIA Toxoplasma IgE | 96,9 %                 | 99,0 %                 |
| EIA Toxoplasma IgG | 98,9 %                 | 99,2 %                 |
| EIA Toxoplasma IgM | 96,4 %                 | 97,9 %                 |

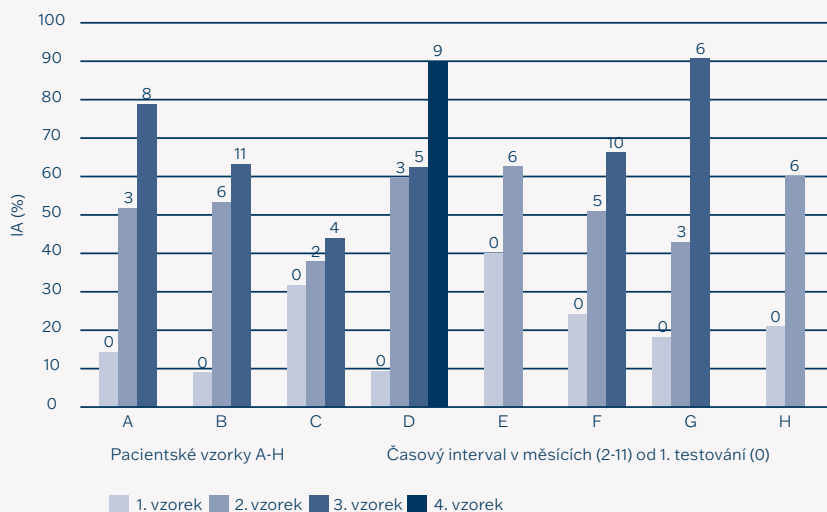
## Avidita

### Stanovení avidity protilátek IgG

Avidita protilátek vyjadřuje pevnost vazby mezi antigenem a protilátkou. Při primární infekci se tvoří nejprve protilátky s nízkou aviditou. V průběhu infekce imunitní odpověď organismu vyvrstává a avidita protilátek narůstá. V latentní fázi onemocnění jsou protilátky vysoce

avidní a při sekundární infekci nebo reaktivaci produkují paměťové B-buňky ihned IgG protilátky s vysokou aviditou.

Stanovení avidity protilátek IgG umožňuje přesnější určení fáze nákazy.



# Klinická data

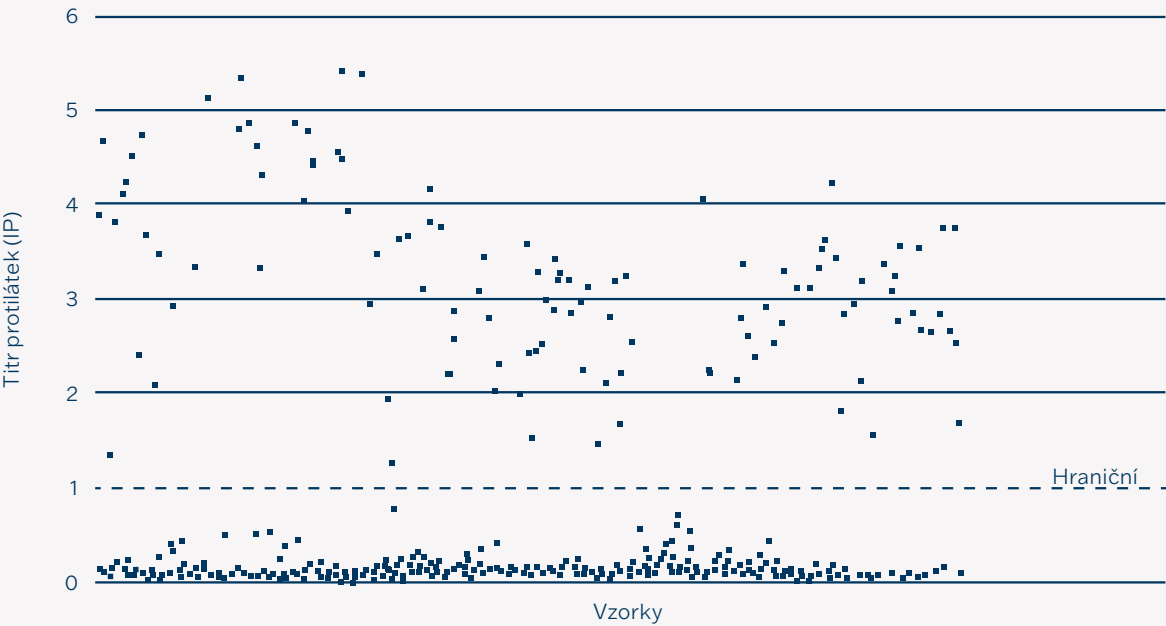
## Séroprevalence a dynamika protilátek třídy IgG u dárců krve (ČR)

### Dárci krve (n = 483)

|                                         |                        |
|-----------------------------------------|------------------------|
| Pozitivní (n = 119)<br>(séroprevalence) | Negativní<br>(n = 364) |
|-----------------------------------------|------------------------|

25%

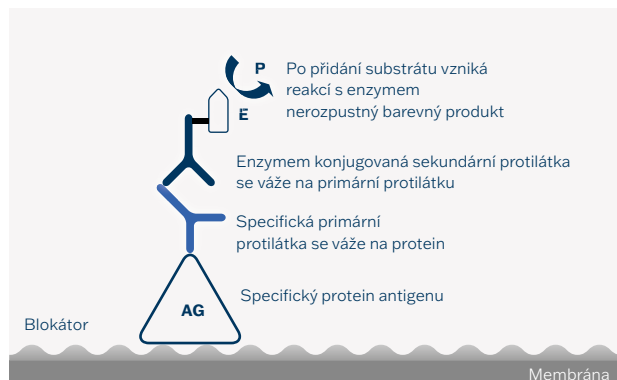
75%



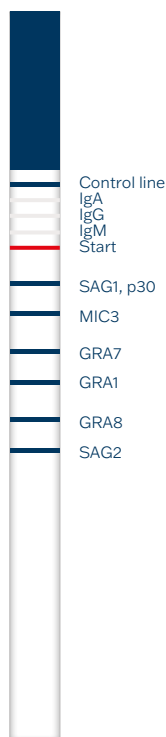
# IMUNOBLOT

## Princip testu

Rekombinantní a vysoce purifikované antigeny jsou naneseny na nitrocelulózovou membránu.



## 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 toxoplazmy. 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.

## 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)                           |
|      | 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

- Diagnostika toxoplazmové infekce; konfirmační test ELISA vyšetření
- Podrobné stanovení přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům T. gondii
- Stanovení kongenitální toxoplazmózy
  - porovnání imunitního profilu sér matky a dítěte

## Uživatelský komfort

- Komponenty v pracovním řadě
- Barevně odlišené reagenty
- Zaměnitelnost komponent
- Negativní a pozitivní kontrola
- Kontrolní linie na stripu
- Možnost softwarového vyhodnocení

## Interpretace výsledků

| <u>IgE</u> | <u>IgA</u> | <u>IgM</u> | <u>IgG</u> | <u>Hodnocení</u>                      |
|------------|------------|------------|------------|---------------------------------------|
| -          | -          | +          | -          | Akutní infekce (zřídka)               |
| +          | +          | +          | slabě +    | Akutní infekce                        |
| +          | +          | +          | +          | Akutní infekce                        |
| -          | +          | +          | +          | Akutní infekce nebo postakutní stav   |
| -          | slabě +    | +          | +          | Postakutní stav                       |
| -          | -          | +          | +          | Postakutní stav nebo latentní infekce |
| -          | -          | -          | +          | Latentní infekce                      |
| -          | -          | -          | -          | Přítomnost protilátek neprokázána     |

## Charakteristiky souprav

| <u>Imunoblot</u>            | <u>Diagnostická citlivost</u> | <u>Diagnostická specifita</u> |
|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| BLOT-LINE<br>Toxoplasma IgA | 95,2 %                        | 99,1 %                        |
| BLOT-LINE<br>Toxoplasma IgG | 95,6 %                        | 98,0 %                        |
| BLOT-LINE<br>Toxoplasma IgM | 95,6 %                        | 98,0 %                        |

## Výhody souprav

- Jednoduchá interpretace a reprodukovatelnost výsledků
- Vysoká diagnostická účinnost
- Vhodné pro automatické systémy
- Komplexní zákaznický servis



## Objednací údaje

### ELISA

| <u>Kód</u> | <u>Název soupravy</u>   | <u>Počet testů</u> |
|------------|-------------------------|--------------------|
| TgA096     | EIA Toxoplasma IgA      | 96                 |
| TgE096     | EIA Toxoplasma IgE      | 96                 |
| TgG096     | EIA Toxoplasma IgG      | 96                 |
| TgM096     | EIA Toxoplasma IgM      | 96                 |
| SK-TgA096  | SmartEIA Toxoplasma IgA | 96                 |
| SK-TgE096  | SmartEIA Toxoplasma IgE | 96                 |
| SK-TgG096  | SmartEIA Toxoplasma IgG | 96                 |
| SK-TgM096  | SmartEIA Toxoplasma IgM | 96                 |

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

### IMUNOBLOT

| <u>Kód</u> | <u>Název soupravy</u>    | <u>Počet testů</u> |
|------------|--------------------------|--------------------|
| TgAL20     | BLOT-LINE Toxoplasma IgA | 20                 |
| TgGL20     | BLOT-LINE Toxoplasma IgG | 20                 |
| TgML20     | BLOT-LINE Toxoplasma IgM | 20                 |



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

Křižíkova 68, 612 00 Brno, Česká republika

trade@testlinecd.com

www.testlinecd.cz