

**BioVendor  
Group**

**CLIA**



## **Diagnostika klíšťových infekcí**

**Lymeská borrelióza (*Borrelia burgdorferi* s.l.)  
Klíšťová encefalitida (TBE virus)**

**Diagnostický panel**

CLIA kity jsou optimalizovány a validovány pro stanovení  
protilátek v lidském séru a plasmě

Určeno pro platformu  
**Kleey<sup>a</sup>**

# Onemocnění přenášená klíšťaty

Celá řada infekčních nemocí potřebuje vektor, který onemocnění přenáší. Klíšťata patří k významným přenašečům infekčních chorob. Vyskytují se v rozsáhlých oblastech světa v řadě druhů. Životní cyklus klíštěte trvá obvykle 2 roky. Ze samičkou nakladených vajíček se líhnou larvy, které se po sání na jednom rezervoárovém zvířeti po odpadnutí mění na nymfy, které opět vyhledají jednoho hostitele a po nasátí se mění v dospělé dvoupohlavní dospělce. Důležití pro přenos infekce jsou nejen dospělci, ale též larvy a nymfy, jež jsou rovněž schopny přenášet infekci. Rezervoárovými zvířaty mohou být jak drobní zemní savci, tak větší savci i ptáci.

Klíšťata mohou přenášet širokou škálu nebezpečných patogenů, jako jsou bakterie, spirochety, rickettsie,

prvoci a viry. Počet hlášených případů chorob přenášených klíšťaty se v Evropě a USA v posledních desetiletích výrazně zvyšuje.

Lymeská borrelióza (LB) je na severní polokouli nejčastější chorobou přenášenou klíšťaty. V Evropě a severní Asii se vyskytuje také virus klíšťové encefalitidy (TBEV). Tato onemocnění jsou často vysilující a pokud nejsou léčena včas, mohou mít dlouhodobé účinky na zdraví či být i život ohrožující. Pro zahájení okamžité léčby a prevenci zdraví a životů lidí je rychlá diagnóza virové TBE a bakteriální LB naprosto zásadní. Sérologické testy detekující protilátky proti Borreliím nebo viru TBE pomáhají při diagnostice a stanovení stadia onemocnění.



# Lymeská borrelióza

Lymeská borrelióza (LB) je multisystémové infekční onemocnění vyvolané spirochetou *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Infekce je přenášena klíšťaty rodu Ixodes.

Klinické projevy lymeské borreliózy rozlišujeme na časně a pozdní.

Výsledky mnoha studií ukazují, že všechna genospecies 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.

## Fáze onemocnění

### 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.



Erythema migrans



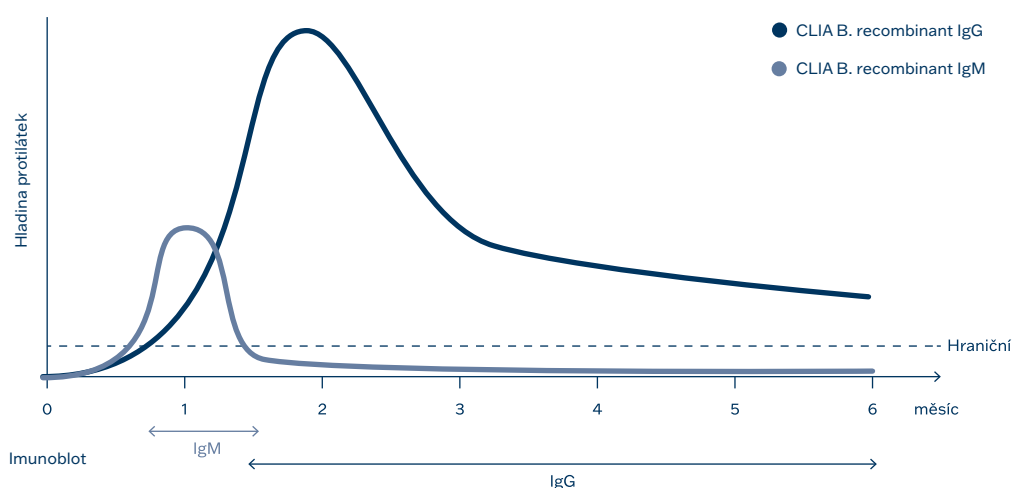
Borreliový lymfocytom

## Diagnostika onemocnění

Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obraze, anamnéze a laboratorních testech. V současné době je nevhodnější diagnostickou metodou screeningové stanovení hladiny specifických protilátek třídy IgG a IgM metodou CLIA a následná confirmace přítomnosti protilátek proti specifickým antigenům pomocí metody imunoblot. Přímý kulturační nebo elektronoptický průkaz není vhodný pro rutinní praxi.

Sérologická diagnostika borreliózy je složitá vzhledem k různým faktorům, jako je velká genetická diverzita druhu *Borrelia burgdorferi* s.l., možná zkřížená reaktivita s nepříbuznými antigeny jiných mikroorganismů, bohatost borrelií na heat shock proteiny. Diagnostiku komplikují rovněž velké rozdíly sérologické reaktivity různých jedinců. Tvorba protilátek v časně fázi může být extrémně pomalá. Na druhé straně IgG i IgM protilátky mohou přetrvávat deset i více let.

## Protilátková odpověď



## Dvoustupňové stanovení protilátek

Protilátky třídy IgG a IgM se stanovují ve dvou stupních testů. V 1. stupni nejprve CLIA metoda rozdělí vzorky dle pozitivních či negativních výsledků. Pozitivní a hraniční výsledky jsou doporučeny confirmovat imunoblotem. Pokud je výsledek testu negativní a příznaky infekce přetrvávají, následuje kontrolní odběr za 2–3 týdny. Sérologický nález je

vhodné interpretovat v kontextu s výsledky ostatních laboratorních testů a s klinickým obrazem pacienta.

CLIA *Borrelia* recombinant kity jsou vysoce specifické díky použití unikátní kombinaci rekombinantních antigenů, což vede k velmi dobré korelaci s imunobloty.

## Modelové situace vyhodnocení výsledků testů borrelia

IgM		IgG		Hodnocení
CLIA	BLOT	CLIA	BLOT	
-	-	-	-	Přítomnost protilátek neprokázána.
+	+	-	-	Obvykle časné stádium onemocnění.
+	+	+	+	Pravděpodobně akutní infekce.
-	-	+	+	Většinou pozdní stádium onemocnění.
+	-	-	-	Pravděpodobně nespecifická reakce CLIA, výsledek testu posuzovat primárně jako negativní. Pokud symptomy přetrvávají, provést testování nového odběru za 2–3 týdny.
-	-	+	-	
+	-	+	-	
+	+	+	-	Pravděpodobně počáteční stadium onemocnění, časnější záchyt IgG protilátek v Immunoblot nebo CLIA.
+	+	-	+	
+	-	+	+	Přetrvávající nebo zbytkové protilátky zachycené CLIA nebo Immunoblotu v IgM, vzorek je již pozitivní v IgG třídě v testu Immunoblot i CLIA.
-	+	+	+	
-	-	-	+	Ustupující zbytkové protilátky po léčbě, pozitivita pouze Immunoblot v IgG.
-	+	+	-	Výjimečný záchyt přechodu protilátek mezi IgM a IgG.
-	+	-	-	Počáteční stádium onemocnění nebo heat-shock proteinová reakce nebo přetrvávající protilátky po léčbě pouze ve třídě IgM.

### Klinická aplikace

- Screeningové stanovení antiborreliových protilátek
- Diagnostika onemocnění lymeskou borreliózou
- Stanovení stádia onemocnění

### Antigeny

#### CLIA Borrelia recombinant IgG

Kombinace rekombinantních antigenů VlsE (*B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto), p83, p58, interního flagelinu p41 (*B. afzelii*), OspA (*B. afzelii*), OspB, OspC (*B. afzelii*), p17 a NapA druhů *Borrelia burgdorferi* sensu lato

#### CLIA Borrelia recombinant IgM

Kombinace rekombinantních antigenů OspC (*B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. spielmanii*), VlsE (*B. garinii*), interního flagelinu p41 (*B. afzelii*) a p39

### Charakteristika testů

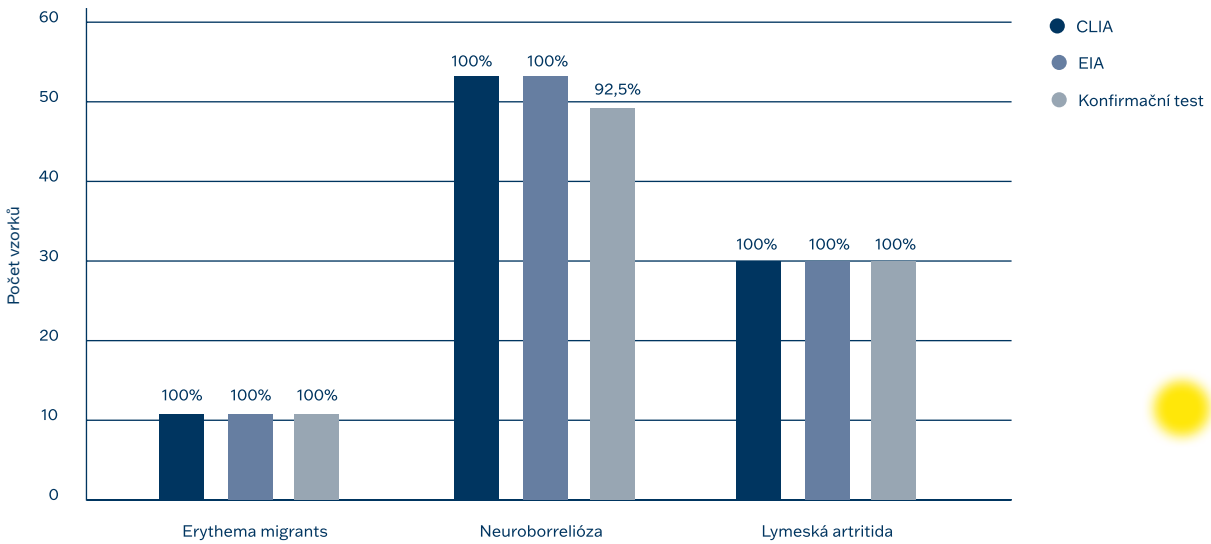
Kit	Kalibrační rozsah	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
CLIA Borrelia recombinant IgG	5–700 U/ml	98,99 %	98,92 %
CLIA Borrelia recombinant IgM	5–100 U/ml	98,59 %	98,95 %

## Korelace metod

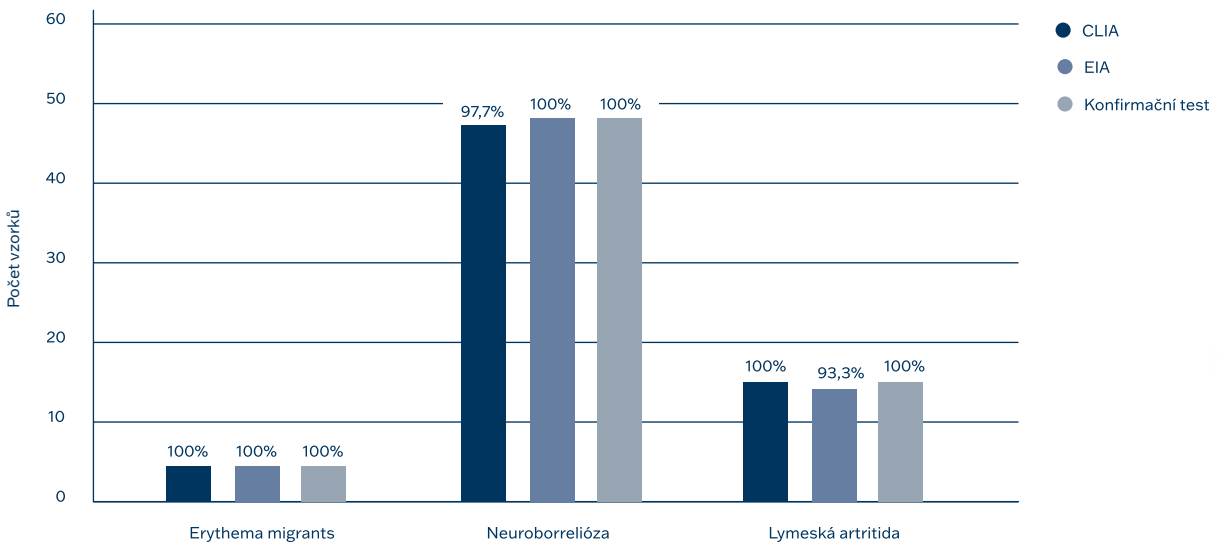
Reaktivita klinických vzorků s diagnózou onemocnění lymeská borrelióza a manifestovanými typickými klinickými projevy byla srovnána stanovením specifických IgG a IgM protilátek pomocí CLIA Borrelia

recombinant IgG, resp. IgM. Pro porovnání byla použita enzymatická imunostanovení a konfirmační testy – imunobloty společnosti TestLine ze skupiny BioVendor Group.

### IgG



### IgM



# Klíšťová encefalitida

Klíšťová encefalitida je infekční virové onemocnění, jehož původce řadíme mezi arboviry do čeledi Flaviviridae. Jedná se o nákazu s přírodní ohniskovostí. Rezervoárem viru jsou drobná i větší lesní zvířata a přenašečem různá vývojová stadia klíšťat. Člověk se nejčastěji nakazí po přisátí (i krátkodobém) infikovaného klíštěte, výjimečně požitím tepelně nezpracovaného infikovaného mléka. Nejvíce hlášených případů klíšťové encefalitidy je v létě a na podzim. Až 70 % infekcí TBE je klinicky

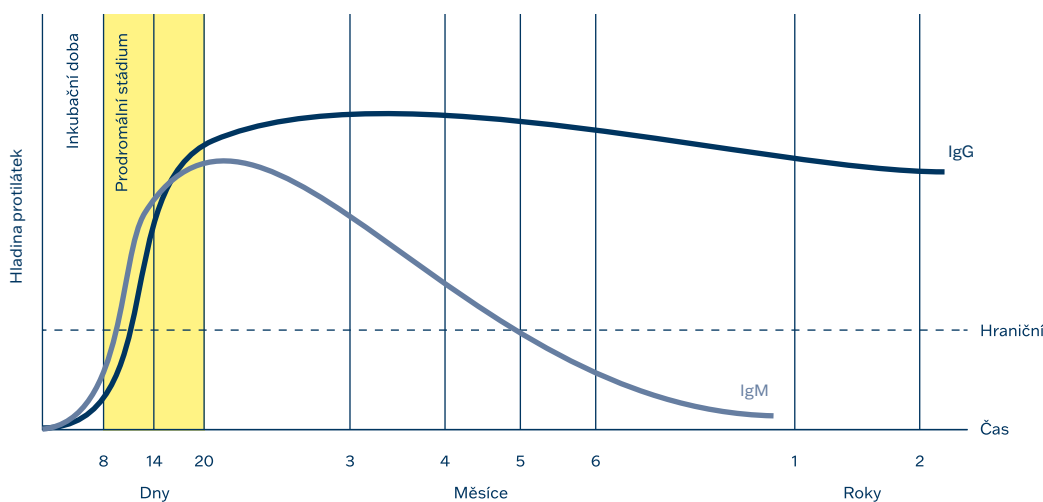
inaparentních. Manifestní onemocnění mívá často dvoufázový průběh. Po inkubační době (3–14 dní) nastupují nespecifické chřipkové příznaky (horečka, bolesti hlavy a svalů, malátnost). Následuje několikadenní zlepšení stavu a poté dochází k rozvoji neurální fáze nemoci (prudké bolesti hlavy, poruchy vidění, zvracení, malátnost, meningeální příznaky, postižení hlavových nervů, parézy končetin). Akutní fáze klíšťové encefalitidy trvá 1–3 týdny. Těžší průběh, často i s trvalými následky, lze pozorovat u seniorů.

## Diagnostika onemocnění

Pro diagnostiku klíšťové encefalitidy je důležitá anamnéza, klinický obraz onemocnění a výsledky laboratorních testů. Jedná se především o biochemické a cytologické vyšetření likvoru a dále o serologické stanovení protilátek třídy IgM a IgG v séru. Sérologickým markerem akutní infekce jsou

protilátky třídy IgM. Jejich tvorba může v ojedinělých případech přetrvávat až 10 měsíců. Protilátky třídy IgG zajišťují ochranu vůči nové nákaze a lze je detekovat dlouhodobě (několik let) po prodělané infekci či vakcinaci. Sporné výsledky je vhodné verifikovat virus neutralizačním testem (VNT).

## Infekční a postinfekční protilátková odpověď



Protilátky třídy IgM lze detekovat počátkem neurální fáze onemocnění. Nejvyšších hladin dosahují po 2–6 týdnech. Mohou přetrvávat až 10 měsíců. Nástup

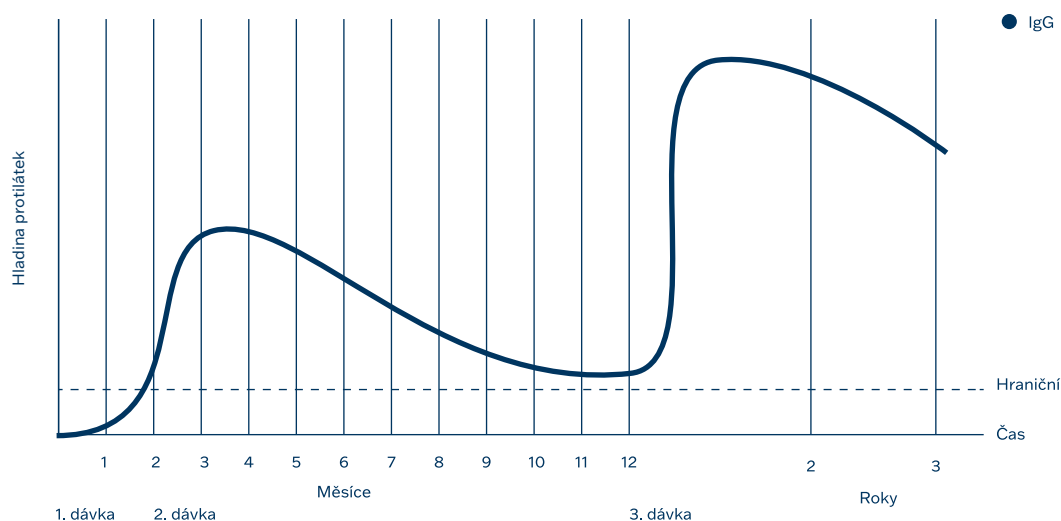
tvorby protilátek třídy IgG je paralelní s tvorbou IgM nebo může být o několik dnů opožděn.

## Interpretace sérologických výsledků

<b>IgM</b>	<b>IgG</b>	<b>Interpretace</b>	<b>Poznámka</b>
-	-	- protilátky anti-TBEV negativní	při podezření na akutní infekci - testovat nový vzorek odebraný s časovým odstupem (cca 2 týdny)
-	+	- prodělaná infekce - ochranná hladina po očkování	při podezření na akutní infekci - testovat nový vzorek odebraný s časovým odstupem - sledovat hladinu protilátek IgG
+	-	- časná fáze akutní infekce	akutní infekce - sérokonverze IgG s časovým odstupem
+	+	- akutní infekce - nedávné očkování	protilátky třídy IgM mohou přetrvávat až 10 měsíců po infekci

Sérologický nález je možno interpretovat pouze v kontextu s výsledky ostatních laboratorních testů a s klinickým obrazem pacienta.

## Postvakační protilátková odpověď



## Interpretace výsledků po vakcinaci

<b>Výsledek</b>	<b>Interpretace</b>	<b>Poznámka</b>
IgG - U < 18 U/ml	protilátky anti-TBEV negativní	<b>základní imunizace neukončena</b> - postupovat dle doporučeného očkovacího schématu (pokud nedošlo 4 týdny po druhé dávce k sérokonverzi je vhodné zvážit podání doplňující dávky a třetí dávka by měla být podána dle očkovacího schématu).
IgG +/- U = 18-22 U/ml	protilátky anti-TBEV hraniční	<b>imunizace ukončena</b> - verifikovat výsledek VNT, popř. podat booster dávku a hladinu protilátek zkontrolovat za 2-4 týdny.
IgG + U > 22 U/ml	protilátky anti-TBEV pozitivní	sérokonverze - postupovat dle doporučeného očkovacího schématu



## Klinická aplikace

- Diagnostika onemocnění klíšťovou encefalitou
- CLIA TBE Virus IgG: Kontrola účinnosti očkování
- CLIA TBE Virus IgM: Identifikace akutní infekce

## Antigeny

### CLIA TBE Virus IgG, IgM

Směs purifikovaného, inaktivovaného, nativního antigenu viru klíšťové encefalidity a rekombinantního antigenu NS1

## Charakteristika testů

Kit	Kalibrační rozsah	Diagnostická citlivost	Diagnostická specifita
CLIA TBE Virus IgG	3–600 U/ml	96,00 %	99,00 %
CLIA TBE Virus IgM	3–380 U/ml	98,00 %	97,87 %

## Korelace metod

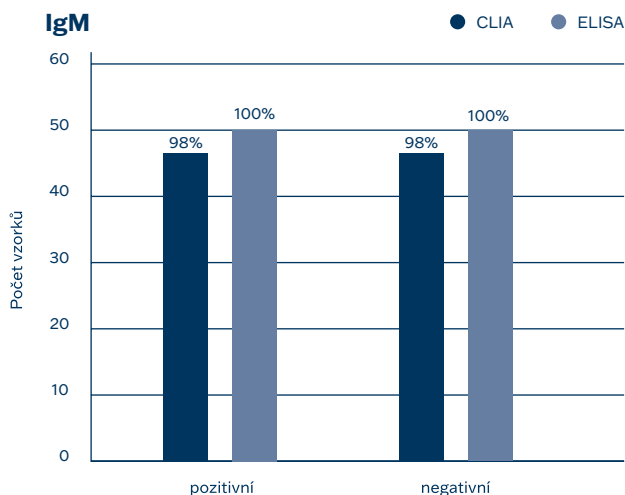
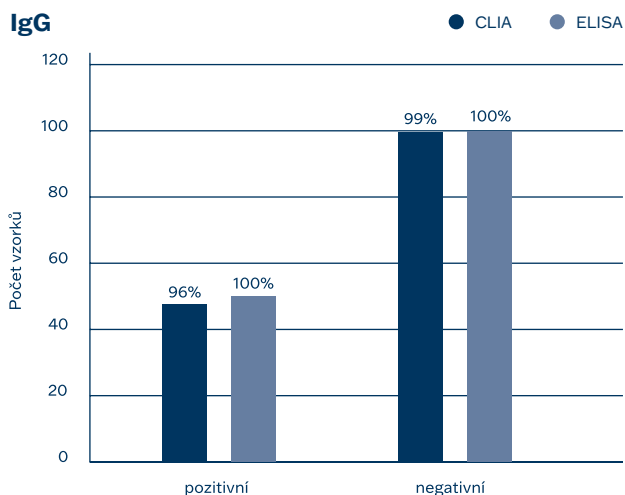
### Korelace s VNT

Metoda	CLIA TBEV IgG		EIA TBEV IgG	
	pos	neg	pos	neg
VNT	18	0	18	0
	1	1	1	1
Shoda	95,0%		95,0%	

Diagnostické soupravy CLIA TBE Virus IgG a EIA TBE Virus IgG byly porovnány s metodou VNT. U soupravy CLIA TBE Virus IgG byla zjištěna významná shoda

s VNT, stejně jako u enzymatického imunostanovení EIA společnosti TestLine ze skupiny BioVendor Group.

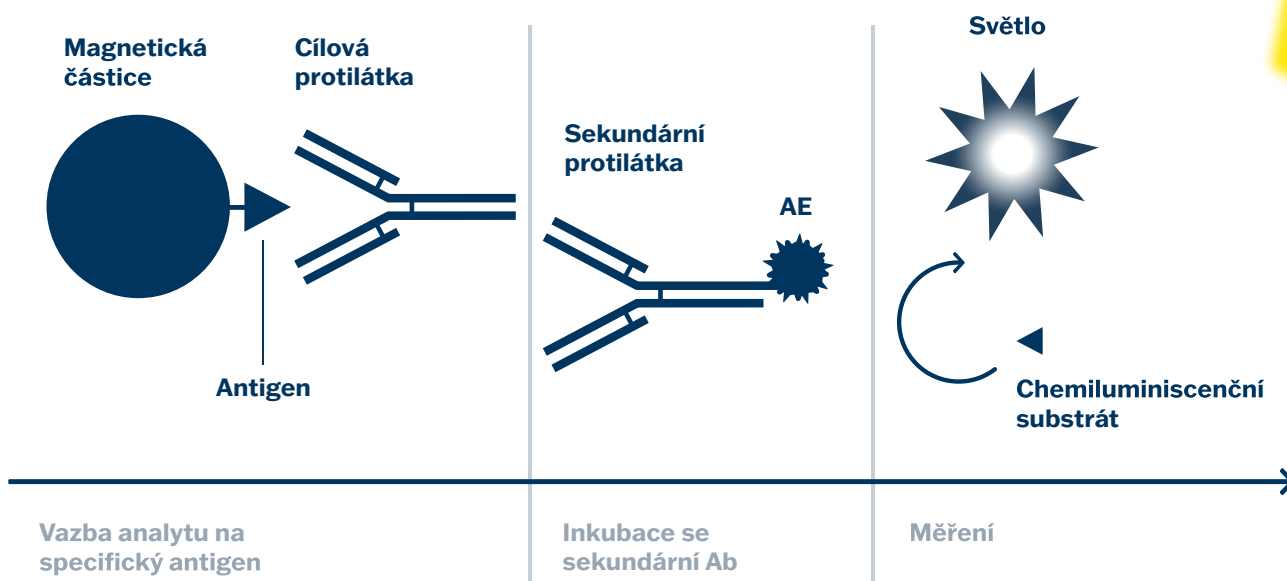
### Korelace s ELISA



# Princip CLIA metody

CLIA je plně automatizovaná, velmi rychlá, specifická a citlivá metoda. Kombinuje využití magnetických částic pro separaci imunokomplexu antigenu a protilátky s flash chemiluminiscencí pro citlivou detekci. Použití suspenze magnetických částic usnadňuje automatizaci, výrazně zkracuje

reakční časy a zlepšuje specifitu stanovení. Flash chemiluminiscence akridinium esteru poskytuje intenzivní světelný signál i při velmi nízkých koncentracích, jeho intenzita se měří v relativních jednotkách světla (RLU). CLIA kity jsou určeny pro automatickou platformu KleeYa®.



# CLIA kity

Diagnostické CLIA kity slouží ke stanovení protilátek IgG a IgM proti *Borrelia burgdorferi* s.l. nebo TBE viru v lidském séru nebo plasmě na analyzátoru KleeYa®. Výsledky jsou uváděny v U/ml.



## Sady kontrolních sér

Kontrolní séra jsou určena k ověření správnosti výsledků dosažených při analýzách soupravami CLIA.



## Uživatelský komfort

- Plně automatická metoda
- Kity obsahují všechny reagensie, vč. kalibrátorů
- Reagenční kazety s roztoky v pracovním ředění
- Kontrolní séra dostupná v samostatném setu
- Výsledky v U/ml

## Výhody

- Vysoká diagnostická citlivost a specifita
- Nízká spotřeba vzorků (10 µl) a reagensií
- Krátká doba testu (30 min)
- Široký dynamický rozsah
- Reagensie jsou označeny RFID tagy, kromě jejich identifikace se také zapisuje spotřeba reagensie a počet dostupných testů
- Napojení na LIS
- Nadstandardní zákaznická podpora



FOLLOW US

# Objednací údaje

## CLIA kity

Diagnostické CLIA kity slouží ke stanovení protilátek IgG a IgM proti *Borrelia burgdorferi* s.l. nebo TBEV v patientském séru nebo plasmě na analyzátoru KleeYa®.

Kit	Katalogové číslo	Počet testů
CLIA Borrelia recombinant IgG	CL-BRG100	100
CLIA Borrelia recombinant IgM	CL-BRM100	100
CLIA TBE Virus IgG	CL-TBG100	100
CLIA TBE Virus IgM	CL-TBM50	50

## Sady kontrolních sér

Každá sada obsahuje dvě lahvičky pozitivní a dvě lahvičky negativní kontroly s deklarovaným rozmezím příslušných protilátek. Jsou určeny k ověření správnosti výsledků dosažených při analýzách soupravami CLIA.

Kit	Katalogové číslo	Počet testů
Control set CLIA Borrelia recombinant IgG	CL-BRGCON	2 x 20
Control set CLIA Borrelia recombinant IgM	CL-BRMCON	2 x 20
Control set CLIA TBE Virus IgG	CL-TBGCON	2 x 20
Control set CLIA TBE Virus IgM	CL-TBMCON	2 x 20

Kontaktujte nás

**clia@biovendor.group**

nebo navštivte náš web

**clia.biovendor.group**

**BioVendor  
Group** **CLIA**

BIOVENDOR.GROUP