

recomLine Yersinia IgG **recomLine Yersinia IgA (IgM)**

Přímá imunoanalýza využívající rekombinační antigeny k detekci IgG, IgM (i IgA protilátek) proti *Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis* v lidském krevním séru nebo plazmě.

EBVCHECK IgG – katalogové číslo: 5429

EBVCHECK IgM - katalogové číslo: 5430

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

1. OBECNÝ ÚVOD

RecomLine Yersinia je kvalitativní *in vitro* test ke stanovení protilátek proti plasmidovým virulentním markerům *Yersinia enterocolitica* a *Yersinia pseudotuberculosis* v lidském séru. Tyto virulentní markery se nachází na povrchu buněk a jsou pro patogeny druhu *Yersinia* specifické. Příslušné geny se nachází na 70 Kb plasmidu na virulentním operonu (virulonu). Za určitých podmínek se plastidové proteiny uvolňují do okolního média, takto uvolněné proteiny se nazývají YOPs (*Yersinia* Outer membráně Proteins). Díky jednotlivě řazeným antigenům test umožňuje na rozdíl od ELISA nepochybnou identifikaci specifických protilátek proti jednotlivým YOPs.

2. YERSINIA ENTEROCOLITICA A YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS

Yersinie jsou gramnegativní tyčky a jejich zástupci *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis* jsou známi jako lidské enteropatogeny. Velmi rozšířeny jsou zejména v oblastech mírného a subtropického podnebí. Přenašeči jsou latentně infikovaní teplotokrevní živočichové. K nákaze dochází orálně při požití kontaminované vody nebo potravy.

Klinické příznaky vyskytující se po infekci *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis* mají obdobný charakter. Rozdíly jsou pozorovány při střevní podobě choroby, pseudoapendicitidě a septické podobě choroby. Typickými symptomy akutní fáze infekce *Y. enterocolitica* je průjem, bolesti břicha a horečka. Zatímco u dětí je hlavním symptomem průjem, u starších pacientů dochází k bolestem břicha, které mohou být mylně považovány za akutní apendicitidu.

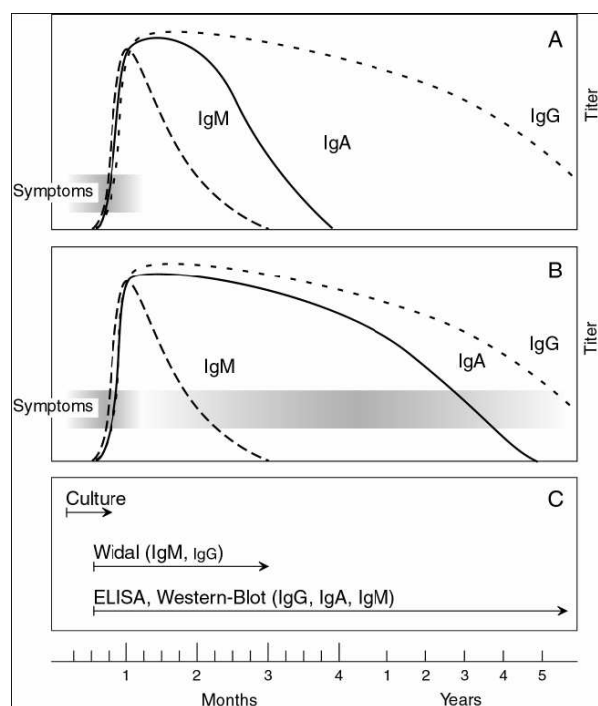
V průběhu infekce se mohou vyskytovat komplikace v podobě akutní reaktivní artritidy, erythema nodosum, akutní glomerulonefritidy a myokarditidy. Po infekci *Yersiniemi* je pro odhalení akutní reaktivní artritidy důležitý genetický marker HLA-B27. Přibližně 70 % pacientů s artritidou způsobenou *Yersiniemi* má marker HLA-B27.

3. DIAGNÓZA

Standardní metodou v sérodiagnostice *Yersinií* byla detekce aglutinujících protilátek proti H a O antigenům *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis* (Widal). Na základě O antigenu lze *Yersinie* serologicky rozlišit do přibližně 60 kmenů *Y. enterocolitica* a 7 kmenů *Y. pseudotuberculosis* (O serovary). Serovary 3 a 9 jsou zodpovědné za onemocnění způsobené *Y. enterocolitica* u mužů. Veškeré infekce způsobené rodem *Yersinia* lze detekovat identifikací YOP specifických protilátek. Widal aglutinační test vykazuje určité problémy (křížová reaktivita s *Brucellou abortus*, *Rickettsií*, *Morganellou*, *Salmonellou* a dalšími *Enterobacteriaceae*). Také dochází relativně brzy ke snížení aglutinačního titru, a proto nebývá významně zvýšen u pozdních a chronických fází (obrázek 1C, tabulka 6). To znamená, že v případě těžkých infekcí způsobených *Yersiniemi* a reaktivní artritidy způsobené *Yersinií* se falešně negativní výsledky vyskytují častěji.

Obrázek 1:

- A) Průběh titrace specifických protilátek proti *Yersinii* v případě akutní a nekomplikované yersiniositidy: enteritida, pseudoapendicitida, *Yersinia colitis*, *Yersinia septicis*, lymfo adenopatie.
- B) Průběh titrace specifických protilátek proti *Yersinii* v případě imunopatologických komplikací a chronické yersiniositidy: Reaktivní artritida, erythema nodosum, ileitis, lymfo adenopatie, glomerulonefritida, myokarditida
- C) Metody detekce a jejich omezení v průběhu infekce



Jak ELISA, tak přímá imunoanalýza se díky použití rekombinantních antigenů staly pevně zavedenými standardy screeningu a konfirmace Testy recomWell Yersinia (ELISA) a recomLine Yersinia se od aglutinačních testů liší v několika důležitých aspektech.

- Detekují se všechny serovary *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis*
- Nedochází k žádným křížovým reakcím s *Brucellou* a jinými patogeny
- Pouze virulentní druh *Yersinia* produkuje YOPs. Detekce protilátek umožňuje přímý popis virulence patogenu.
- IgG, IgA a IgM jsou detekovány odděleně

Ve srovnání s běžnými testy založenými na lysačních antigenech, recomLine Yersinia je výjimečný z těchto důvodů:

- Použity jsou zřetelně definované, rekombinační a vysoce purifikované antigeny, což vede ke zvýšení specifity a jednoduché interpretaci výsledků.
- Zvýšená sensitivita testu díky optimálnímu množství antigenů.
- Zahnutí kontrolního bandu pro kontrolu reakce konjugátu (IgG, IgA, IgM)
- Zahnutí dalšího kontrolního bandu, který slouží jako cutoff kontrola ke každému jednotlivému proužku

U recomLine Yersia jsou použity následující antigeny: YOP M (58 kDa), YOP H (46 kDa), V-AG (38 kDa), YOP D (33 kDa) a YOP E (25 kDa). YOP D je pro diagnostiku nezbytný. Titr protilátek IgG přetrvává u člověka několik let (dle literatury přibližně 30 - 40% populace má protilátky IgG proti Yersinii). Titr protilátek IgA a IgM specifických pro YOP se významně sníží do měsíce (obrázek A). Na druhé straně v případě infekce s následnými komplikacemi (reaktivní artritida, erythema nodosum, atd.) přetrvává vysoký IgA titr po dobu několika let, zatímco IgM titr se do měsíce sníží. Tyto charakteristické titry protilátek IgA lze blotem recomLine Yersinia detekovat a následně tak získat užitečný doklad pro objasnění reaktivní artritidy a dalších symptomů.

4. PRINCIP TESTU

Na nitrocelulóзовou membránu jsou navázány rekombinantní, vysoce purifikované proteiny. Matrix je poté rozstříhána na jednotlivé proužky. Pro snadnější detekci *Campylobacter* specifických protilátek jsou proužky inkubovány se zředěnými vzorky séra nebo plazmy. Během inkubace se protilátky přítomné v testovaných vzorcích váží k antigenům na proužcích. Nenačnané protilátky jsou odstraněny promytím a proužky následně inkubovány s anti-lidskými IgG, IgM a IgA protilátkami konjugovanými s křenovou peroxidázou (HRP). Specificky navázané protilátky jsou vizualizovány peroxidázou katalyzovanou barevnou reakcí. Došlo-li k vazbě protilátky na antigen, objeví se na odpovídajícím místě testovacího proužku tmavý band.

Na horním konci testovacího proužku je vedle sebe postupně seřazeno 5 kontrolních bandů:

1. kontrola reakce - umístěna těsně pod číslem proužku, tento band se musí objevit při každé reakci s jakýmkoli testovaným sérem
2. tři kontrolní bandy reakce konjugátu - IgG/IgM/IgA – slouží jako kontrola reakce odpovídající třídy protilátek. Pokud je proužek použit např. k detekci IgG protilátek, objeví se u kontroly IgG konjugátu zřetelný band. Totéž platí pro IgM a IgA protilátky.
3. „cut-off“ kontrola – kontrolní band intenzity zbarvení, jeho intenzita zbarvení slouží zároveň jako základní kritérium pro stanovení reaktivity séra jako EBV pozitivní nebo negativní.

5. OBSAH SOUPRAVY

Souprava obsahuje reagentie v množství potřebném pro 20 vyšetření.

promývací pufr A (10x koncentrovaný): obsahuje fosfátový pufr, NaCl, KCl, detergent, MIT (0.1%) a Oxypyrion (0.2%) jako konzervační látky	100 ml
substrát TMB (tetramethylbenzidin, přímo k použití)	40 ml
mléčný prášek	5 g
návod k použití	1 ks
vyhodnocovací formulář	2 ks

5.1. recomLine Yersinia IgG

Mimo reagentie uvedené v bodu 5 souprava dále obsahuje:

zkumavka s číslovanými testovacími proužky (10 ks) potaženými rekombinantními <i>Yersinia</i> antigeny	2 ks
IgG konjugát: králičí anti-lidské protilátky konjugované s HRP (100x koncentrovaný), obsahuje NaN ₃ (< 0.1%), MIT (< 0.1%) a Chloracetamide (<0.1%), zelený vršek	500 µl

5.2. recomLine Yersinia IgA (IgM)

Mimo reagentie uvedené v bodu 5 souprava dále obsahuje:

zkumavka s číslovanými testovacími proužky (5 ks) potaženými rekombinantními <i>Yersinia</i> antigeny	2 ks
IgA konjugát: králičí anti-lidské protilátky konjugované s HRP (100x koncentrovaný), obsahuje NaN ₃ (< 0.1%), MIT (< 0.1%) a Chloracetamide (<0.1%), bezbarvý vršek	500 µl

IgM konjugát: králičí anti-lidské protilátky konjugované s HRP (100x koncentrovaný), obsahuje NaN ₃ (< 0.1%), MIT (< 0.1%) a Chloracetamide (<0.1%), fialový vršek	500 µl
---	--------

6. DALŠÍ POTŘEBNÉ REAGENCIE A VYBAVENÍ, KTERÉ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Deionizovaná voda, odsávací zařízení s dezinfekční nádobou, mikropipety, třepačka, odměrné válce se stupnicí, váhy.

7. INFORMACE O TESTU A REAGENCIÍCH

7.1. Preventivní opatření

- ☞ Pracujte v ochranných rukavicích.
- ☞ Konjugát obsahuje azid sodný, MIT (Methylisothiazolone) a Chloracetamid. Vyvarujte se proto kontaktu s kůží a sliznicemi.
- ☞ Všechny reagensie a materiály, které přišly do styku s potenciálně infekčními vzorky, musí být dezinfikovány nebo nejméně 1 hodinu autoklávovány při 121°C.
- ☞ Inkubační misky nepoužívejte opakovaně.
- ☞ S testovacími proužky zacházejte opatrně pomocí plastové pinzety.

7.2. Skladování

- Reagensie skladujte při teplotě 2-8°C, **nezmrazujte**. Před provedením testu temperujte všechny komponenty soupravy minimálně 30 minut při 18-25°C (laboratorní teplota). Samotný test i inkubační procedury probíhají při laboratorní teplotě.
- Shodující se reagensie (dle tištěných symbolů) mohou být použity u různých imunoblotů odpovídající šarže. Dodržujte prosím dobu expirace jednotlivých komponent soupravy.
- Všechna kontrolní séra musí být použita pouze u čísla šarže uvedeného na obalu soupravy, nelze je zaměňovat mezi soupravami z různých výrobních šarží.
- Koncentráty obou konjugátů i séra pacientů před provedením testu dobře protřepejte.
- Zkumavku obsahující testovací proužky otevírejte až těsně před použitím, aby nedocházelo ke kondenzaci vody uvnitř zkumavky. Nepoužité proužky musí být skladovány ve zkumavce při 2-8°C. Zkumavku pevně uzavřete, proužky nesmí před provedením testu navlhnout!
- Jednotlivé proužky jsou vzestupně očíslovány a označeny zkratkou daného testu.
- Po uplynutí doby expirace uvedené na obalu soupravy nelze zaručit kvalitu výsledků.
- Chraňte všechny komponenty soupravy před přímým slunečním světlem.
- Test musí být proveden pouze zaškolenými a kvalifikovanými pracovníky.
- Dodatečné modifikace soupravy nebo metodiky testu mohou vést k chybným výsledkům.
- Test je vhodný i pro zpracování na automatu. Bližší informace žádejte u svého dodavatele.

7.3. Příprava roztoků

7.3.1. Příprava pracovního ředění promývacího pufru A

Pufř je používán nejen k promývání, ale i k ředění vzorků séra a konjugátu. Podle počtu testovaných proužků připravte odpovídající objem promývacího pufru A (viz tabulka 3). Nejprve rozpustěte mléčný prášek v koncentrátu promývacího pufru A a pak ke směsi přilijte deionizovanou vodu (ředění 1+9). Testujete-li jiný počet proužků, než je uvedeno v tabulce, je nutné potřebný objem promývacího pufru dopočítat.

Pracovní ředění promývacího pufru A může být při 2-8°C skladováno 4 týdny. Pracovní ředění promývacího pufru A je mírně zakalené a bez zápachu.

Tab. 3: Promývací pufř A potřebný pro daný počet testovacích proužků

Použité proužky	Mléčný prášek	Koncentrovaný promývací pufř A	Deionizovaná voda	Pracovní ředění promývacího pufru A
1	0.1 g	2 ml	18 ml	20 ml
2	0.2 g	4 ml	36 ml	40 ml
3	0.3 g	6 ml	54 ml	60 ml
5	0.5 g	10 ml	90 ml	100 ml
10	1 g	20 ml	180 ml	200 ml
20	2 g	40 ml	360 ml	400 ml

7.3.2. Příprava roztoku konjugátu

Roztok konjugátu musí být připraven těsně před použitím. Pracovní ředění roztoku konjugátu není možné dále skladovat.

1 díl koncentrovaného IgG, IgM (případně i IgA) konjugátu se ředí se 100 díly pracovního ředění promývacího pufru A (1+100).

Potřebná množství jednotlivých roztoků udává tabulka 3. Testujete-li jiný počet proužků, než je uvedeno v tabulce, je nutné potřebné objemy daných roztoků dopočítat.

Tab. 4: Objemy pro ředění anti-lidského IgG, IgM a IgA konjugátu

Použité proužky *	Koncentrovaný IgG, IgM resp. IgA konjugát	Pracovní ředění promývacího pufru A
1	20 µl	2 ml
2	40 µl	4 ml
3	60 µl	6 ml
5	100 µl	10 ml
10	200 µl	20 ml
20	400 µl	40 ml

* Objemy jsou počítány bez „mrtvého objemu“. Připravujte proto roztok konjugátu pro 1-3 proužky navíc v závislosti na způsobu zpracovávání testu (ručně nebo na automatu).

7.3.3. Roztok substrátu

Roztok substrátu je připraven k přímému použití. Před použitím jej vytemperujte na laboratorní teplotu (18-25°C).

Je nutné vyvarovat se kontaminaci roztoku substrátu, např. použitím kontaminované špičky, neboť by se tak ovlivnila citlivost testu.

7.4. Skladování a stabilita

Reagencie skladujte při 2-8°C.

Pracovní ředění promývacího pufru A může být při 2-8 °C skladováno 4 týdny.

Roztok konjugátu musí být připraven vždy čerstvý.

8. VZORKY

Jako vzorek lze použít krevní sérum nebo plazmu, které byly co nejdříve po odebrání separovány od koagula. Za všech okolností předcházejte mikrobiální kontaminaci vzorků. Nerozpustné částice je nutné ze vzorků odstranit ještě před jejich inkubací.

Lipemická, hemolytická nebo zakalená séra způsobují ztmavnutí pozadí testu recomLine Yersinia IgG/IgM/IgA. Mohou rovněž poskytovat falešné výsledky, proto nesmí být používány.

Upozornění!

Nemůžete-li test provést okamžitě, mohou být vzorky skladovány při teplotě 2-8°C až 2 týdny. Dlouhodoběji lze skladovat při minimální teplotě -20°C. Opakované zmrazování a rozmrazování vzorků není doporučováno, neboť se tím ovlivňuje kvalita výsledků.

9. PRACOVNÍ POSTUP

9.1. Obecné informace

Reprodukovatelnost výsledků závisí především na preciznosti promývání proužků (postup promytí uveden v bodech 9.3. a 9.5.).

9.2. Inkubace vzorku

1. 1 inkubační žlábek je určen pro 1 testované sérum. Do každého žlábků napipetujte 2 ml pracovního ředění promývacího pufru A. Plastovou pinzetou opatrně ponořte testovací proužek do příslušného žlábků naplněného promývacím pufrem. Číslo proužku musí směřovat vzhůru.

Upozornění! Testovací proužek musí být zcela ponořen do promývacího pufru.

Do vyhodnocovací tabulky zaznamenejte číslo zkumavky s použitými testovacími proužky a číslo každého proužku.

2. Přidání vzorků

IgG/IgM/IgA test: Do příslušných žlábků napipetujte **20 µl** neředěného vzorku - lidské sérum nebo plazma (**ředění 1 + 200**).

Dbejte na to, abyste vzorek přidávali u konce proužku ponořeného v promývacím pufru A a co možná nejdříve opatrně promíchali.

Do vyhodnocovací tabulky zaznamenejte číslo vzorku a třídu imunoglobulinů (IgG, IgM nebo IgA).

Inkubační misku přikryjte víčkem a za jemného třepání při laboratorní teplotě **1 hodinu** inkubujte.

Upozornění! Dbejte na to, aby se roztoky nedostaly do jiných žlábků. Víčko otevírejte a zavírejte opatrně, aby jednotlivé roztoky nevystříkly ven ze žlábků (riziko křížové kontaminace).

9.3. Promytí

1. Po uplynutí inkubační doby opatrně odstraňte plastové víčko.

- Zředěné sérum ze žlábků opatrně odsajte.
Upozornění! Odsávejte roztoky ze žlábků vždy čistou špičkou nebo špičky vždy řádně promyjte deionizovanou vodou. Používáte-li promývačku, řiďte se pokyny výrobce.
- Následně do každého žlábků přidejte **2 ml** pracovního ředění promývacího pufru A a za jemného třepání **5 minut** inkubujte. Poté pufr odsajte.
- Promytí dle bodu 3 opakujte ještě **tříkrát**.

9.4. Inkubace s konjugátem

Po promytí proužků do každého žlábků přidejte **2 ml** připraveného **roztoku konjugátu** (viz tabulka 3). Za jemného třepání při laboratorní teplotě **45 minut** inkubujte. Během inkubace musí být žlábků zakryty plastovým víčkem.

9.5. Promytí

Roztok konjugátu ze žlábků odsajte a proužky opět promyjte (viz bod 9.3).

9.6. Reakce substrátu

Do každého žlábků přidejte **1.5 ml roztoku substrátu** a za jemného třepání inkubujte při laboratorní teplotě **5-10 minut**. Reakci můžete ukončit, jakmile je viditelný band „cut-off“ kontroly.

9.7. Zastavení reakce

- Po odsátí roztoku substrátu proužky **tříkrát** promyjte deionizovanou vodou.
- Plastovou pinzetou proužky opatrně vyjměte, umístěte je mezi dvě vrstvy absorbčního papíru a nechte 2 hodiny sušit. Suché proužky vlepíte do vyhodnocovací tabulky a odečtené výsledky zapišete do protokolu.
- Proužky by měly být uchovávány na temném místě

10. SOUHRN PRACOVNÍHO POSTUPU

1.	Vytemperujte všechny reagenty na laboratorní teplotu
2.	Vložte proužky do 2 ml pracovního ředění promývacího pufru A a zkontrolujte, zda jsou v pufru zcela ponořeny
3.	Přidejte 20 µl vzorku
4.	Za jemného třepání při laboratorní teplotě 1 hodinu inkubujte
5.	Na třepačce třikrát po pěti minutách promývejte 2 ml pracovního ředění promývacího pufru A
6.	Přidejte 2 ml odpovídajícího roztoku konjugátu
7.	Za jemného třepání při laboratorní teplotě 45 minut inkubujte
8.	Na třepačce třikrát po pěti minutách promývejte 2 ml pracovního ředění promývacího pufru A
9.	Přidejte 1.5 ml roztoku substrátu a za jemného třepání při laboratorní teplotě inkubujte 5–10 minut
10.	Proužky promyjte nejméně třikrát deionizovanou vodou
11.	Proužky nechte mezi 2 vrstvami absorbčního papíru 2 hodiny sušit a poté odečtěte výsledky

11. VYHODNOCENÍ

11.1. Vyhodnocení intenzity bandů

- Do přiložené vyhodnocovací tabulky zapišete datum, šarži, číslo zkumavky a detekovanou podtřídou protilátek.
- Dále zapišete identifikační čísla vzorků.
- Přilepte jednotlivé proužky na odpovídající pole vyhodnocovací tabulky tak, aby band kontroly reakce byl na vyznačené linii. Proužek poté transparentní lepicí páskou nalevo od této linie zafixujte. Pokud byste proužek přilepili lepidlem nebo lepicí páskou po celé délce, zbarvení jednotlivých bandů by vymizelo.
- Podle kontrolního proužku vytištěného na vyhodnocovacím protokolu pro každou třídu imunoglobulinů zvlášť určete u jednotlivých bandů intenzitu reakce (tabulka 5). Výsledek zapišete do protokolu.

11.2. Kontrola výsledků

Výsledky testu lze hodnotit, pouze pokud jsou splněna následující kritéria:

- band kontroly reakce (nejbližší band pod číslem proužku) musí být zřetelně zbarvený
- kontrolní band reakce protilátek (druhý až čtvrtý band) – u odpovídající třídy protilátek musí být viditelný jasně zbarvený proužek; u bandů dalších 2 tříd protilátek se může vyvinout slabé nespecifické zbarvení
- cut-off kontrola (pátý band) – slabé, ale zřetelně viditelné zbarvení

Tab. 5: Intenzita bandů v porovnání s intenzitou zbarvení cut-off bandu

Proužky	Intenzita
Žádná reaktivita	-
intenzita slabší než u cut-off bandu	±
stejná intenzita jako u cut-off bandu	+
silná intenzita (silnější než u cut-off bandu)	++
velmi intenzivní zbarvení	+++

Upozornění!

Při detekci IgG, IgM a IgA protilátek mohou vzorové bandy vykazovat různou intenzitu zbarvení. Intenzita jednotlivých bandů závisí na koncentraci *Yersinia*-specifických protilátek, je tedy možné, že v testu *recomLine* IgG (v porovnání s IgA testem) budou mít bandy tmavší, intenzivnější zbarvení.

11.3. Výsledky a interpretace testu

Při hodnocení výsledků by měl být posuzován IgG, IgM a IgA test současně.

Interpretace použitá u všech tří tříd:

Tab. 5: Klíčové antigeny různých fází infekce

<ul style="list-style-type: none"> • žádný band • nebo band se slabší (+/-) intenzitou v porovnání s cutoff • nebo izolovaný band (kromě YOP D) se stejnou (+) nebo vyšší (++) intenzitou ve srovnání s cutoff 	<i>negativní</i>
<ul style="list-style-type: none"> • žádný YOP D band (-) nebo slabý YOP D band (+/-), ale aspoň dva další bandy se stejnou (+) nebo vyšší (++/+++) 	<i>hraniční</i>
<ul style="list-style-type: none"> • YOP D band vykazuje stejnou (+) nebo vyšší (++/+++) 	<i>pozitivní</i>

11.4. Poznámky k interpretaci výsledků

Po infekci *Yersinií* dochází k vymizení IgM protilátek obvykle do tří až šesti měsíců, IgG protilátky mohou být detekovány o pár měsíců déle a IgG na rozdíl od obou předchozích přetrvávají roky. Pro onemocnění doprovázené chronickou *Yersiniosou* nebo imunopatologickými komplikacemi jako je artritida, je typický vysoký titer protilátek IgA a IgG, který přetrvává dlouhou dobu. Pro interpretaci IgA reaktivity je velmi důležité do výsledků zahrnout stav IgG a IgM protilátek.

Sporné výsledky je nutno po třech až pěti týdnech opakovat.

Samostatný pozitivní výsledek u IgA protilátek je nutno správně interpretovat. Je nutno zvážit, zda je o infekci čerstvou nebo dlouhodobě persistentní.

Výsledky serologických testů je vždy nutné posuzovat v souvislosti s klinickými příznaky, z toho důvodu je doporučována blízká spolupráce s ošetřujícím lékařem.

Titr IgG protilátek přetrvává roky, dle literatury až 30-40 % německé populace má protilátky IgG proti *Yersinii*. Převaha IgA protilátek je přibližně u 11 % německé populace.

Z celkového počtu 2000 pacientů testovaných v klinických laboratořích, vykazovalo zhruba 50% pozitivitu v IgG a asi 25 % pozitivitu v IgA. Příslušný serologický výsledek lze popsat následovně: IgG protilátky proti YOP D a pravděpodobně i dalším YOPs se slabou nebo žádnou reakcí IgA a nulovou reakcí IgM.

S *Yersiniemi* spjatá reaktivní artritida se typicky odráží ve vysokém titru IgG a IgA, zatímco titer IgM je velmi nízký nebo žádný.

Tmavě zbarvené testovací proužky:

Séra některých pacientů (např. s alergií na mléčné proteiny) mohou vytvářet tmavé zbarvení celého nitrocelulózoového pásu. Tento efekt je vyvolán mnoha různými faktory v séru každého pacienta. Vyhodnocení proužků je pak obvykle možné pouze s určitou restrikcí. Např. „inverzní bandy“ (bílé bandy na tmavém pozadí) jsou hodnoceny jako negativní. Dané sérum však musí být v každém případě testováno znovu jinými serologickými metodami.

12. Klinické výsledky

Tabulka 6: Srovnání Widal aglutinace a *recomWell Yersinia* a *recomLine Yersinia*. Výsledky Widal jsou zde vyznačena jako titry. Výsledky *recomWell Yersinia* jsou vyznačena v jednotkách. Šedá pole označují pozitivní a bílá negativní výsledky

Serum	Widal			Serotyp					
	Y. ent.		Y. pseud.	recomWell Yersinia			recomLine Yersinia		
	O3	O9	Typ1	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
1	1:1600	<1:100	<1:100	215	171	296	positive	positive	positive
2	1:800	<1:100	<1:100	118	112	296	positive	positive	positive
3	1:200	<1:100	<1:100	215	171	296	positive	positive	positive
4	1:800	<1:100	<1:100	215	171	296	positive	positive	positive
5	1:400	<1:100	<1:100	215	171	155	positive	positive	positive
6	<1:100	1:100	<1:100	215	64	68	positive	positive	positive
7	<1:100	<1:100	<1:100	218	55	12	positive	positive	negative
8	<1:100	<1:100	<1:100	218	117	16	positive	positive	negative
9	<1:100	<1:100	<1:100	198	110	10	positive	positive	negative
10	<1:100	<1:100	<1:100	147	150	10	positive	positive	negative
11	<1:100	<1:100	<1:100	218	74	13	positive	positive	negative
12	<1:100	<1:100	<1:100	218	47	11	positive	positive	negative
13	<1:100	<1:100	<1:100	218	50	11	positive	positive	negative
14	<1:100	<1:100	<1:100	254	74	10	positive	positive	negative
15	<1:100	<1:100	<1:100	33	8	11	positive	negative	negative
16	<1:100	<1:100	<1:100	94	7	11	positive	negative	negative
17	<1:100	1:200	<1:100	85	13	19	positive	negative	negative
18	<1:100	<1:100	<1:100	51	6	13	positive	negative	negative
19	<1:100	<1:100	<1:100	6	4	8	negative	negative	negative
20	<1:100	<1:100	<1:100	6	7	12	negative	negative	negative






Tabulka 7: Séra dárců krve testovaná pomocí recomLine Yersinia (n = 100)

	IgG	IgA	IgM
Pozitivní	26	9	0
Hraniční	0	0	0
Negativní	74	91	100

12. LITERATURA

- (1) Michale Hammer and Jürgen Wollenhaupt Postenteritische reaktive Arthritiden and Spondarthritiden. *Deutsches Ärzteblatt* 1995, 92 (41):2738-2749
- (2) Riita Lahesmaa, Marie-Claude Shanafelt, Lawrence Steinman and Gary Peltz Immunopathogenesis of Human Inflammatory Arthritis: Lessons from Lyme and Reaktive Arthritis. *The Journal of Infectious Diseases* 1994, 170:978-985
- (3) Josef Cremer, Michael Putzker, Michael Faulde and Lothar Zöller *RecomLining* of Yersinia plasmid-encoded released proteins: A tool for serodiagnosis. *Electrophoresis* 1993, 14:962-969
- (4) Jorgen H. Larsen, Susanne H. Hartvig and Michael Parm The determination of specific IgA-Antibodies to Yersinia Enterocolitica and their role in enteric infections and their complications. *Acta path. microbiol. immunol. scan. Sect. B* 1985, 93:331-339
- (5) Riita Lahesmaa-rantala, Jürgen Heesemann, Olli-Pekka Lehtonen, Kaisa Granfors and Auli Toivanen Avidity of antibodies against released proteins of Yersinia spp: comparison of patients with or without reaktive arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1989, 48:1003-1006
- (6) Tom H. Stahlberg, Jürgen Heesemann, Kaisa Granfors and Auli Toivanen *RecomLine* analysis of IgM, IgG, and IgA response to plasmid encoded released proteins of Yersinia enterocolitica in patients with or without yersinia triggered reaktive arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1989, 48:577-581
- (7) S. Aleksic and J. Bockemühl: Mikrobiologie und Epidemiologie der Yersiniosen. *Immun. Infekt.* 1990, 18, 178-85
- (8) J. Heesemann: Enteropathogene Yersinien: Pathogenitätsfaktoren and neue diagnostische Methoden. *Immun. Infekt.* 1990, 18, 186-91
- (9) J.A.A. Hoogkamp-Korstanje and J. de Koning: Klinik, Diagnostik and Therapie von Yersinia-enterocolitica-Infektionen. *Immun. Infekt.* 1990, 18, 192-7
- (10) J.B. Kaper, Jörg Hacker: Pathogenicity Islands and Other Mobile Virulence Elements. 1999 American Society for Microbiology, Washington, D.C.

13. VYSVĚTLIVKY SYMBOLŮ

	Počet testů v soupravě
EVATFORM	Vyhodnocovací formulář
INSTRU	Návod k použití
	Podívejte se do pracovního postupu
CONT	Obsah soupravy
IVD	<i>In vitro</i> diagnostická souprava
LOT	Číslo šarže
	Nezmrazujte
REF	Katalogové číslo
	Použitelné do uvedené doby expirace
	Teplotní limitace. Skladujte při x-y°C

14. KONTAKTY

Výrobce:

ALL.DIAG

10, rue Ettore Bugatti – BP6

67038 Strasbourg Cedex 2

tel: 03 88 78 80 88, fax: 03 88 78 76 78

www.alldiag.com; info@alldiag.com

Dodavatel:

LABOSERV s.r.o.

Hudcova 78b, 612 00 Brno

Tel: +420 541 243 113, Fax: +420 541 243 114

email: laboserv@laboserv.cz

http://www.laboserv.cz