

НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ КЛАСУ IgM ДО ВІРУСУ ЗАХІДНОГО НІЛУ

8401-25, West Nile IgM

Каталог. №: 8401-25

Методика від 11-09-2013

Кількість : 96

Виробник : DAI, (США)



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Дослідження	West Nile IgM ELISA
Метод	Твердофазний імуоферментний аналіз
Принцип	ІФА – захоплення; двоетапний ІФА типу «сендвіч»
Діапазон визначення	Якісний: позитивний, негативний контроль та калібратор
Зразок	4 мкл сироватки
Час виконання	180 хв.
Термін придатності	12 міс. з дати виробництва
Специфічність	98,4%
Чутливість	96,2%

ПРИЗНАЧЕННЯ

ІФА захоплення для визначення вірусу Західного Нілу (ЗН) призначений для якісного визначення IgM-антитіл до рекомбінантних антигенів (WNRA) Західного Нілу у сироватці крові людини. Це дослідження призначене для використання в цілях попередньої клінічної лабораторної діагностики вірусу Західного Нілу у хворих з клінічними симптомами менінгоенцефаліту.

Позитивні результати повинні бути підтвержені реакцією нейтралізації бляшкоутворення (PRNT).

Робочі характеристики дослідження не були розроблені для дослідження пуповинної крові, новонароджених, пренатального скринінгу, загального скринінгу населення без симптомів менінгоенцефаліту або для автоматизованих апаратів. Цей аналіз не затверджений FDA для дослідження крові або плазми донорів.

Увага: перехресна реактивність дослідження IgM була помічена в деяких дослідженнях зразків, що містять антитіла до ентеровірусів. Реактивні результати, отримані від дітей, повинні містити попередження про можливу перехресну реактивність з ентеровірусами.

ОПИС І ПОЯСНЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ

(Див. в оригіналі інструкції).

ПРИНЦИП ДОСЛІДЖЕННЯ

Даний набір складається з двокрокового ферментативно посилюючого імуоферментного аналізу типу «сендвіч».

В цьому аналізі контролі та невідомі зразки сироватки інкубують у мікротитраційних лунках, які були попередньо покриті анти-людськими IgM-антитілами з наступною окремою інкубацією білка WNRA вірусу та препаратією контролю (NCA). Зразки сироватки розводяться буфером для розведення зразків для визначення IgM до ЗН. Після 1-годинної інкубації та промивання лунки обробляють антитілами, специфічними для WNRA та мітять фермент пероксидази хрому (HRP). Після другої інкубації і стадії промивки лунки інкубують субстратом тетраметилбензидину (ТМБ).

Потім додається кислотний стоп-розчин і ступінь ферментативної реакції субстрату визначається вимірюванням оптичної щільності при 450 нм. Вище певного порогу, коефіцієнт абсорбції рекомбінантного антигену ЗН та контрольних лунок попередньо визначає наявність антитіл до вірусу ЗН. Набір позитивних і негативних контролів надається для контролю цілісності компонентів набору.

МАТЕРІАЛИ ТА КОМПОНЕНТИ

Кожен набір містить достатню кількість реагентів для 96 лунок (12 х 8). Набір включає наступні реагенти:

1. Планшет ІФА для визначення людського IgM

Смужки, покриті козячим анти-людським IgM, що містять 96 мікротитрувальних лунок із полістиролу, кожна з яких покрита

антитілами до людського IgM. Зберігати при температурі 2-8°C до закінчення терміну придатності.

2. Буфер розведення зразків для IgM

Один флакон (25 мл). Готовий до використання. Фосфатний буферний розчин (pH 7,2-7,6) з Tween 20, консервант (0,01% тимеросал) і консерванти. Використовувати для розведення зразків, позитивних і негативних контролів. Стабільний при -70 ° C до закінчення терміну придатності.

Примітка: Для швидкого відтавання, помістіть пляшку з буфером для розведення зразків в контейнер з чистою водою, яка зберігається при кімнатній температурі (просто занурити до рівня вмісту компонентів). Після повного відтавання викинути пляшку, видалити надлишок води на зовнішній поверхні чистими паперовими рушниками. Якщо спостерігається будь-який осад після процесу відтавання, перемішайте дуже добре на вортексі, щоб отримати гомогенний розчин, а потім застосуйте.

3. Позитивний контроль IgM ЗН

Один флакон, 50 мкл. Інактивована теплом негативна сироватка. Позитивний контроль також сприятиме контролю цілісності набору. Стабільний при -70°C до закінчення терміну придатності. Перед використанням швидко центрифугувати пробірки для збору вмісту в нижній частині.

Примітка: Для тривалого зберігання сироватку слід аліквотувати в менші об'єми і зберігати при -70°C.

4. Негативний контроль IgM ЗН

Один флакон, 50 мкл. Інактивована теплом негативна сироватка. Позитивний контроль також сприятиме контролю цілісності набору. Стабільний при -70°C до закінчення терміну придатності. Перед використанням швидко центрифугувати пробірки для збору вмісту в нижній частині.

Примітка: Для тривалого зберігання сироватку слід аліквотувати в менші об'єми і зберігати при -70°C.

5. Антигени ЗН (WNRA) для IgM

Одна пробірка (3 мл). Готовий до використання. Містить Твін 20, консервант (0,002-0,005% Тімеросал), антибіотики (0.0025-0.004% сульфату G418), антигени ЗН (неінфекційні антигени PrM та E вірусу ЗН) і добавки. Стабільний за -70 ° C до закінчення терміну придатності.

Увага: WNRA не слід заморожувати та розморозувати повторно. Його слід аліквотувати в менші об'єми і зберігати при -70°C.

6. Готовий до використання антиген здорових клітин (NCA) для IgM ЗН

Одна пробірка (3 мл). Готовий до використання. Містить Твін 20, консервант (0,002-0,005% Тімеросал), культуру супернатанту клітин серії COS-1 і добавки. Стабільний за -70 ° C до закінчення терміну придатності.

Увага: WNRA не слід заморожувати та розморозувати повторно. Його слід аліквотувати в менші об'єми і зберігати при -70°C.

7. Готовий до застосування ферментний кон'югат пероксидази хрому (HRP) для IgM ЗН

Один флакон (6 мл). Готовий до використання. Містить 6B6C mAb (до антигену білка E вірусу ЗН), кон'югованого з пероксидазою хрому у фосфатному буферному розчині (PH 7,2-7,6) з Твін 20, консервантом (0,01% тимеросал) і добавками. Стабільний при температурі 2-8 ° C до закінчення терміну придатності.

8. 10X промивний буфер

Один флакон, 120 мл 10x концентрату соляного фосфатного буферу з Твін 20, pH 6.7-7.1. Стабільний 2-8 ° C до закінчення терміну придатності.

Примітка: Для підготовки 1X промивного буферу див. підготовку реагентів в розділі Процедура дослідження.

9. Розчин для промивання: Один флакон (20 мл). Готовий до використання. Фосфатний буферний соляний розчин з твін 20, pH 7,2-7,6. Стабільний при температурі 2-8°C до закінчення терміну придатності.

10. Рідкий субстрат ТМБ:

Один флакон (9 мл). Готовий до використання. Містить 3,3', 5,5' - тетраметилбензидину (ТМБ) і пероксиду водню в цитратному буфері лимонної кислоти (pH 3.3-3.8). Стабільний при 2-8°C до закінчення терміну придатності.

Примітка: Субстрат повинен весь час зберігатися в захищеному від світла місці.

11. Стоп - розчин:

Один флакон (6 мл). Готовий до використання. 1N сірчана кислота. Використовується для зупинки реакції. Стабільний при 2-8 ° C до закінчення терміну придатності.

Увага: сильна кислота, надівати захисні рукавички, лабораторний халат і захисні окуляри. Утилізувати всі матеріали відповідно до правил і норм безпеки.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ

1. Планшетний фотометр, здатний вимірювати оптичну щільність при 450 нм.
2. Біологічна або вода високої очистки.
3. Вакуумний насос.
4. Планшет-вошер.
5. 37°C зволожуючий інкубатор без подачі CO₂.
6. Планшет-вошер.
7. Поліпропіленові пробірки.
8. Мікродозатори та наконечники.
9. Парафільм.
10. Таймер.
11. Вортекс.

Забір і підготовка зразків

Кров отримана з вени повинна згорнутись при кімнатній температурі (20 - 25 °C) протягом 30 до 60 хвилин, а потім центрифугуватись відповідно до інструкції Національного комітету з клінічних лабораторних стандартів (NCCLS).

1. Тільки сироватка людини повинна бути використана в цьому дослідженні. Цільна кров або плазма не може бути досліджена безпосередньо.
2. Відділити сироватку від згустків червоних клітин яконайскоріше, щоб уникнути гемолізу.
3. Дослідження слід проводити якомога швидше після збору. Не залишайте сироватку при кімнатній температурі протягом тривалого періоду часу.
4. Слід використовувати сироватку і дотримуватись стандартних запобіжних заходів при венепункції. Зразки можна зберігати при температурі 2-8 °C до 48 годин або замороженою при -70 °C до 30 днів. Для підтримки збереженості сироватки зберігати при -70°C. Уникати повторного заморожування і відтавання зразків.
5. Не використовувати гемолізовані або ліпемічні зразки.
6. Заморожені зразки слід розморозити при кімнатній температурі і ретельно перемішати обережно покручуючи або перевертаючи перед використанням. Завжди швидко покрутіть перед використанням.
7. Якщо сироватки транспортуються, їх слід упакувати у відповідності з правилами, що стосуються перевезення носіїв інфекцій.

ПРОЦЕДУРА ДОСЛІДЖЕННЯ

УВАГА: Необхідно чітко дотримуватись процедури дослідження. Будь-які відхилення від процедури може привести до помилкових результатів.

Цей набір не був оптимізований виробником для використання з будь-якою автоматизованою системою проведення ІФА. Використання з автоматизованою системою проведення ІФА вимагатиме належної оцінки, щоб гарантувати результати еквівалентні очікуванню забезпечити очікувані результати, описані в даній інструкції. Можуть бути необхідні зміни в протоколі цих систем та/або об'ємах реагентів.

Перед використанням довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури (20 ~ 25 °C).

Ретельно перемішайте реагенти та зразки перед використанням акуратно перевертаючи.

Примітка: Для тривалого зберігання, всі сироватки, у тому числі експериментальні, не можуть неодноразово розморозуватись та заморожуватись. Сироватки мають бути далі аліквотовані в меншому об'ємі і зберігатись при -70 °C.

Підготовка дослідження:

- Підготовка 1x промивного буферу

Розвести 10X промивний буфер 1X біологічною або високоочищеною водою (змішати 120 мл 10X промивного буферу з 1080 мл води). Після розведення до 1x зберігати при кімнатній температурі протягом максимум 4 місяців.

Примітка: Відмовитись від 1x промивного буфера якщо ви бачите будь-який мікробний ріст.

- Мікротитраційні лунки

Виберіть кількість лунок необхідних для проведення аналізу. Решту невикористаних лунок повинні бути поміщені назад в упаковку, герметичні закриті з осушувачем і зберігатись при температурі 2-8 °C до готовності для використання або до закінчення терміну придатності.

ПРОЦЕДУРА

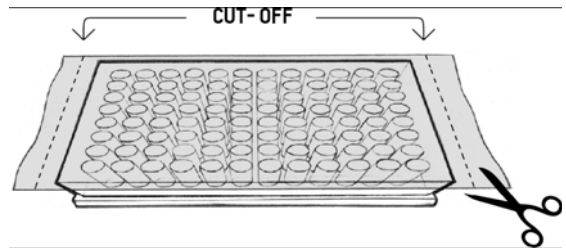
1. Позитивні, негативні та невідомі сироватки слід аналізувати у дублях. Зверніться до блок-схеми наприкінці цього розділу для ілюстрації цієї процедури. Двадцять два зразки для випробувань може бути досліджено в дублі на одному 96-лунковому планшеті.
2. Позначити покриті мікротитраційні смужки, які будуть використовуватись.

3. Розвести сироватки для дослідження та контролю 1/100, використовуючи наданий буфер для розведення зразків. Можна використовувати невеликі поліпропіленові пробірки для цих розведень та брати принаймні 4 мл сироватки для аналізу, а також негативного контролю та позитивного контролю; наприклад, додайте 4 мл сироватки до 396 мл буферу для розведення зразків для IgM.
4. Додати 50 мл/лунку 1/100 розбавлених сироваток для аналізу та контрольів у планшет. Наочне розташування двадцяти двох зразків сироватки для дослідження в дублях показані нижче.

Example for sera Application

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	IgM Neg.	S#1	S#3	S#5	S#7	S#9	S#11	S#13	S#15	S#17	S#19	S#21
B	IgM Neg.	S#1	S#3	S#5	S#7	S#9	S#11	S#13	S#15	S#17	S#19	S#21
C	IgM Pos.	S#2	S#4	S#6	S#8	S#10	S#12	S#14	S#16	S#18	S#20	S#22
D	IgM Pos.	S#2	S#4	S#6	S#8	S#10	S#12	S#14	S#16	S#18	S#20	S#22
E	IgM Pos.	S#2	S#4	S#6	S#8	S#10	S#12	S#14	S#16	S#18	S#20	S#22
F	IgM Pos.	S#2	S#4	S#6	S#8	S#10	S#12	S#14	S#16	S#18	S#20	S#22
G	IgM Neg.	S#1	S#3	S#5	S#7	S#9	S#11	S#13	S#15	S#17	S#19	S#21
H	IgM Neg.	S#1	S#3	S#5	S#7	S#9	S#11	S#13	S#15	S#17	S#19	S#21

5. Накрийте планшет парафільмом з двох сторін тільки на рівні відкриття лунок, так щоб не закрити дно лунок.



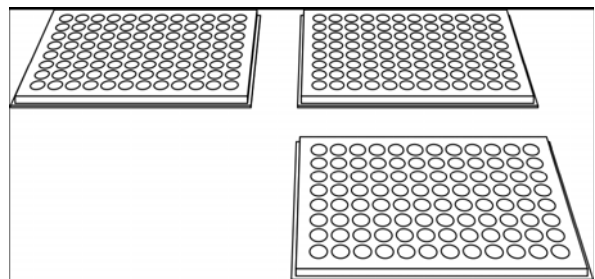
Примітка: Це робиться для того, щоб температура рівномірно розподілялась в усіх лунках по дну і стінках; будь-які залишки парафільму повинні бути відрізані як тільки верх запечатаний, щоб запобігти випаровуванню.

6. Інкубуйте планшет при 37°C в інкубаторі впродовж 1 години.

Примітка: Не складати планшети один на одного. Вони повинні бути розміщені на одному рівні. Це дуже важливо для рівномірного розподілу температури. Не слід використовувати CO₂, або будь-які інші гази, які використовуються для культивування тканини.



НЕПРАВИЛЬНИЙ СПОСІБ



ПРАВИЛЬНИЙ СПОСІБ

- Після завершення інкубації промити смужки 6 (шість) разів 1X промивним буфером, використовуючи автоматичний планшет-вошер (300 мкл/лунку в кожному циклі промивання).
- Додати багатоканальним дозатором 50 мкл/лунку WNRA в ряди A-D рядків та 50 мкл/ лунку NCA в ряди E-H. Наочне розташування WNRA та NCA показано нижче.

Example for WN Antigens Application												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA
B	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA
C	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA
D	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA	WN RA
E	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA
F	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA
G	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA
H	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA	NCA NCA

- Накрийте планшет парафільмом на рівні поверхні лунок (як описано в п. 5).
- Інкубувати планшет при 37 ° C протягом 60 хвилин у вологому інкубаторі.
- Після інкубації промити планшет 6 разів з автоматичним планшет-вошером, використовуючи 1x промивний буфер, 300 мл на лунку.
- Додати 50 мкл/лунку готового до використання ферментного кон'югату HRP для даного набору, використовуючи багатоканальний дозатор.
- Накрийте планшет парафільмом на рівні поверхні лунок (як описано в п. 5).
- Інкубувати планшет при 37 ° C протягом 60 хвилин у вологому інкубаторі.
- Після інкубації промити планшет 6 разів з автоматичним планшет-вошером, використовуючи 1x промивний буфер, 300 мл на лунку.
- Додати 150 мкл на лунку розчину для промивання в усі лунки за допомогою багатоканального дозатора.
- Інкубувати планшет при кімнатній температурі (20-25°C) протягом 5 хвилин без накривання.
- Після інкубації промити планшет 6 разів з автоматичним планшет-вошером, використовуючи 1x промивальний буфер, 300 мл на лунку.
- Додати 75 мкл на лунку рідкого субстрату ТМБ в усі лунки за допомогою багатоканального дозатора.
- Інкубуйте планшет при кімнатній температурі (20-25 ° C) в темному місці (або контейнер) протягом 10 хвилин без накривання планшету.
- Після інкубації додати 50 мкл на лунку стоп-розчину в усі лунки за допомогою багатоканального дозатора та інкубувати при кімнатній температурі (20-25°C) протягом 1 хвилини без накривання планшету.
- Після інкубації зчитати значення ОЩ при 450 нм за допомогою мікротитраційного планшет-рідера. Будь ласка, переконайтеся, що мікропланшетний зчитувач не вираховує або нормалізує будь-які значення бланку або лунок.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Кожен набір містить позитивні і негативні контрольні сироватки. Негативні і позитивні контролю призначені контролювати істотну недостатність реагенту. Позитивний контроль не гарантує точність при пороговому значенні аналізу. Тест є недійсним і повинен бути повторений, якщо значення ISR (коефіцієнт імунного статусу) будь-якого з контролів не відповідають специфікаціям. Прийнятні значення ISR для цих контролів знаходяться в наведеній нижче таблиці. Якщо тест є недійсним, результати пацієнтів не можуть бути зафіксовані. Вимоги контролю якості повинні бути виконані у відповідності з місцевими, державним та / або федеральними правилами або вимогами акредитації та процедурами лабораторного контролю якості. Користувачеві рекомендується звернутися до директив NCCLS C24-A та 42 CFR 493,1256 за інформацією про відповідні методи контролю якості. Результати наведені нижче тільки суто для ознайомлення.

Застосовуються тільки до непідготовлених спектрофотометричних зчитувань.

Розрахунок негативного контролю

Обчислити середні негативного контролю 3Н з WNRA та контрольним антигеном:

Приклад: ОЩ негативного контролю

	WNRA	NCA
№1	0,085	0,076
№2	0,075	0,060
Всього	0,160	0,136

Середні (WNRA) = $0,160 \div 2 = 0,080$

(NCA) = $0,136 \div 2 = 0,068$

Обчислити співвідношення WNRA / NCA: $0,080 \div 0,068 = 1,18$

Будь-який коеф. негативного контролю WNRA/NCA більше 4,47 вказує, що дослідження недійсне та необхідно повторити процедуру дослідження.

Розрахунок позитивного контролю

Обчислити середні позитивного контролю WNRA та NCA:

Приклад: ОЩ позитивного контролю

	WNRA	NCA
№1	0,935	0,090
№2	0,955	0,078
Всього	1,890	0,168

Середні (WNRA) = $0,890 \div 2 = 0,945$

(NCA) = $0,168 \div 2 = 0,084$

Обчислити співвідношення WNRA / NCA: $0,945 \div 0,084 = 11,3$

Будь-який коеф. позитивного контролю WNRA/NCA менше 5,66 вказує, що необхідно повторити процедуру дослідження.

Результати, наведені в таблиці нижче, повинні бути отримані з тим, щоб результати виконання дослідження можна було зафіксувати. Невиконання цих критеріїв є показником погіршення реагентів або помилки в процедурі дослідження і аналіз повинен бути повторений.

Коефіцієнт (для контролю аналізу)	Допустимі межі
Середнє ОЩ негативного контролю у WNRA	<0.300
Середнє ОЩ позитивного контролю IgM в WNRA	>0.500
Коеф. імунного статусу (ISR) позитивного контролю	>5.66
Коеф. імунного статусу (ISR) негативного контролю	<4.47

РОЗРАХУНОК

Розрахунок коефіцієнту імунного статусу (ISR): обчислити середнє значення двох реплікацій з WNRA, та реплікацій з NCA, а потім розрахуйте співвідношення WNRA / NCA (ISR) для невідомих зразків та для позитивного та негативного контролів.

Розрахунок значень ISR для досліджуваних сироваток

Розрахувати середнє значення ISR сироватки:

Приклад: ОЩ досліджуваної сироватки № 1

	WNRA	NCA
№ 1	0.195	0.066
№ 2	0.205	0.070
Всього	0.400	0.136

Середні (WNRA) = $0,400 / 2 = 0,200$ (NCA) = $0,136 / 2 = 0,068$

Обчислити коеф. WNRA / NCA $0,200 / 0,068 = 2,94$

Будь-який коеф. сироватки WNRA / NCA менше 4,47 вказує на відсутність антитіл класу IgM, що виявляються. Див. розділ інтерпретації результатів.

Приклад: ОЩ досліджуваної сироватки № 2

	WNRA	NCA
№ 1	0,695	0,085
№ 2	0,725	0,100
Всього	1,420	0,185

Середні (WNRA) = $1,42 / 2 = 0,71$ (NCA) = $0,185 / 2 = 0,0925$

Обчислити коеф. WNRA / NCA $0,710 / 0,0925 = 7,68$

Будь-який коеф. сироватки WNRA/NCA більше 5,66 вказує на присутність антитіл класу IgM, що виявляються. Див. розділ інтерпретації результатів.

Приклад: ОЩ досліджуваної сироватки № 3

	WNRA	NCA
№ 1	0,310	0,065
№ 2	0,295	0,070
Всього	0,605	0,135

Середні (WNRA) = 0,605 / 2 = 0,3025 (NCA) = 0,135 / 2 = 0,0675

Обчислити коеф. WNRA / NCA: 0,3025 / 0,0675 = 4,48

Будь-який коеф. сироватки WNRA / NCA більше 4,47, але менше 5,66 вказує на сумнівність результату, що не дає підстав на заключення. Див. розділ інтерпретації результатів.

Вибір порогу (cut-off): поріг був визначений за допомогою сироваток від ендемічного населення в Сполучених Штатах. 282 проби склалися з 163 позитивних зразків і 119 негативних зразків, визначених ІФА CDC антитіла захоплення IgM. Поріг був визначений аналізом робочих характеристик отриманих двома графіками (TG-ROC).

Інтерпретація результатів: Даний набір ІФА визначає наявність IgM-антитіл до вірусу ЗН в сироватці пацієнтів з клінічними симптомами менінгоенцефаліту. Позитивний результат свідчить про передбачуваний менінгоенцефаліт вірусу ЗН. Наведена нижче таблиця показує, як слід інтерпретувати результати.

ISR	Результат	Інтерпретація
<4,47		Не виявлено IgM-антитіл, людина не вважається інфікованою вірусом ЗН. Проте результат не виключає інфікування вірусом ЗН. Додатковий зразок повинен бути перевірений протягом 7-14 днів, якщо є підозра на ранню інфекцію. Інші дослідження вірусу ЗН повинні бути виконані, щоб виключити гостру інфекцію. Див. інструкції CDC для діагностики цього захворювання.
4,47-5,66		Сумнівні зразки слід повторити в дублях. Якщо обидва дублі вище або нижче порогу, зразки можуть вважатися відповідно як позитивні чи негативні. Про зразки, які залишаються сумнівними після повторного тестування слід повідомляти, що IgM-антитіла до вірусу ЗН не можуть бути визначені, і потрібно провести дослідити альтернативним методом або зібрати інший зразок.
>5,66	Позитивний	Наявність IgM-антитіл що виявляються передбачає зараження вірусом ЗН. Результат повинен бути підтверджений PRNT, або, як варіант, звернутися до інструкції CDC щодо принципів діагностики цього захворювання. Позитивний результат на IgM може не вказувати на недавню інфекцію. IgM-антитіла до вірусу ЗН, як було показано, зберігаються протягом більш ніж 500 днів. Серологічна перехресна реактивність до групи флавівірусів є загальновідомою (тобто між енцефалітом Сент-Луїс; Денге серотипами 1, 2, 3 і 4; австралійським енцефалітом; японським енцефалітом; і вірусами жовтої лихоманки). Крім того, перехресна реактивність була помічена в деяких аналізах ЗН до ентеровірусів. Реактивні результати відносно дітей повинні містити попередження про можливу перехресну реактивність з ентеровірусами. Ці захворювання повинні бути виключені до підтвердження діагнозу.

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Захворювання вірусом Західного Нілу в загальному визначається наявністю антитіл класу IgM протягом одного тижня з виявлення симптомів. Рівні IgM, що визначаються можуть бути низькі на початку інфекції. 200 зразків були заздалегідь зібрані у Флориді, Техасі і Пенсільванії протягом березня 2004 року. Розподіл жінок склав 50% (100/200) і чоловіків також 50% (100/200). Дані в таблиці 1 ілюструють поширеність IgM антитіл в різних вікових групах при використанні даного ІФА.

З 200 сироваток в нормі, одна виявилась позитивною і одна сумнівною. Останній зразок був повторений у дублях і залишився сумнівним. Позитивні та сумнівні сироватки були з Пенсільванії. З 200 сироваток 66 були з Пенсільванії, виливаючись у 3,0% поширеність (2/66) в Пенсільванії.

Таблиця 1

Вік	Всього	Сумнівні	Позитивні	Поширеність
10-70	12	0	0	0.0%
21-30	68	1	0	1.5%
31-40	63	0	0	0.0%
41-50	47	0	1	2.1%
51-60	10	0	0	0.0%
Total	200	1	1	1.0%

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ / ВИВЧЕННЯ ВІДТВОРЮВАНOSTI (Див. в оригіналі інструкції).

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- Всі позитивні результати досліджень ІФА на IgM-антитіла захоплення до вірусу ЗН попередні і вимагають підтвердження реакцією нейтралізації бляшкоутворення (PRNT) або використання останніх інструкцій Центру контролю за хворобами (CDC) для діагностики цього захворювання.
- Дослідження слід проводити тільки на хворих з клінічними симптомами менінгоенцефаліту. Цей тест не призначений для скринінгу населення загалом. Позитивна прогностична цінність залежить від імовірності присутності вірусу.
- Серологічна перехресна реактивність через групу флавівірусів є загальнопринятною (тобто між енцефалітом Сент-Луїс; Денге серотипами 1, 2, 3 і 4; австралійським енцефалітом; японським енцефалітом; і вірусами жовтої лихоманки). Ці захворювання повинні бути виключені до підтвердження діагнозу.
- IgM-антитіла можуть зберігатися протягом більш ніж 500 днів в 60 % випадків. Позитивні результати слід інтерпретувати в контексті клінічних та інших лабораторних досліджень, і можуть не вказувати на активну хворобу, спричинену вірусом Західного Нілу.
- Результати аналізу повинні бути інтерпретовані тільки в контексті інших лабораторних досліджень та загального клінічного стану пацієнта.
- Реагенти, що поставляються в цьому наборі оптимізовані для вимірювання реактивної рівні антитіл до WNRA в сироватці крові.
- Робочі характеристики аналізу не були створені для візуального визначення результатів.
- Результати пацієнтів з ослабленим імунітетом слід інтерпретувати з обережністю.
- Загалом первинні реакції проявляються в основному у монотипній реакції антитіл, тим не менше, під час наступних інфекцій відповідь антитіл розширюється, включаючи гетеротипну реактивність до інших флавівірусів в одній або різних антигенних групах.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

ТІЛЬКИ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ В ДІАГНОСТИЦІ IN VITRO.

- Оскільки це непрямий методом скринінгу, необхідно враховувати наявність помилкових позитивних і негативних результатів.
- Всі реактивні зразки повинні бути оцінені підтверджуючим тестом.
- Реагенти, що поставляються в цьому наборі оптимізовані для вимірювання рівня реактивних антитіл WNRA у сироватці крові.
- Серологічні перехресні реактивності до флавівірусів є загальними. Деякі сироватки від пацієнтів, інфікованих Денге, Західного Нілу і вірус Сент-Луїс, можуть дати неправдиві позитивні результати. Тому будь-які позитивні сироватки ЗН повинні бути підтвержені іншими дослідженнями.
- У місцях, де ЗН і Денге співіснують, позитивні зразки ЗН також повинні бути досліджені на реактивність до Денге. Зразки, які межують з позитивністю до ЗН, та з середньою до високої реактивністю до Денге, можна запідозрити на інфекцію Денге, що вимагає подальших підтверджуючих аналізів.
- Характеристики виконання аналізу не були встановлені для візуального визначення результату.
- Результати пацієнтів з ослабленим імунітетом повинні інтерпретуватися з обережністю. Результати аналізу слід інтерпретувати тільки в контексті інших лабораторних даних і загального клінічного стану пацієнта.
- Цей набір не був оптимізований для дослідження сероконверсії введення вакцини, і його використання з цією метою може призвести до багатьох «сумнівних» результатів.

ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

- Всі людські матеріали, використані при підготовці контролів під час перевірки виявились негативними на антитіла до ВІЛ-1 і 2, гепатиту С і поверхневого антигену гепатиту В. Проте, жодне дослідження не може гарантувати 100 % ефективності. Таким

чином, всі людські контролі та антигени слід розглядати як потенційно інфіковані матеріали. Центр контролю за захворюваннями та Національний інститут охорони здоров'я рекомендують поводитися з потенційно інфекційними носіями за рівнем біобезпеки 2.

2. Глибоке розуміння цієї інструкції необхідне для успішного використання виробу. Достовірні результати тільки будуть отримані з використанням точних лабораторних методів і чітким дотриманням інструкції користувача.
3. Не змішуйте компоненти наборів з різних партій в одному дослідженні.
4. Не використовуйте будь-який компонент після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
5. Уникайте впливу реагентів від надмірного нагрівання і впливу прямих сонячних променів під час зберігання та інкубації.
6. Деякі реагенти можуть утворювати незначні осади, які слід акуратно перемішувати перед використанням.
7. Неповне промивання негативно позначиться на результатах аналізу і точності.
8. Щоб звести до мінімуму збою в аналізі через зміну часу інкубації субстрату, слід подбати про додавання стоп-розчину в лунки в одному порядку з однаковою швидкістю додавання розчину ТМБ.
9. Уникайте мікробної контамінації реагентів, особливо в готовому до застосування ферментного кон'югату-HRP для аналізу NS1. Уникайте забруднення розчину субстрату ТМБ кон'югатом-HRP.
10. Носіть захисний одяг, засоби захисту очей і одноразові рукавички під час проведення аналізу. В кінці руки слід ретельно помити.
11. Використовуйте чисті одноразові наконечники для кожного реагенту, стандарту, контролю або зразка.
12. Накрийте робочу зону одноразовим промокальним папером.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ: потенційно біологічно небезпечний матеріал

Цей набір може містити реагенти виготовлені з людської сироватки або плазми. Сироватка або плазма була інактивована теплом, якщо не вказано інше. Поводитися з усіма сироватками й наборами як такими, що містять носії інфекцій.

Дотримуйтесь встановлених застережень щодо мікробіологічного ризику при виконанні всіх процедур і дотримуйтесь стандартних заходів по утилізації зразків.

ХІМІЧНА НЕБЕЗПЕКА

Паспорти безпеки матеріалів (MSDS) доступні для всіх компонентів цього набору. Перегляньте всі відповідні MSDS до проведення цього аналізу. Уникайте контакту з руками і очима або слизовими оболонками під час дослідження. Якщо контакт все ж відбувається, зверніться до MSDS відносно усунення наслідків.



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com