

VIROTECH Enterovirus IgG ELISA
(Enterovirus IgG ELISA)

Nr zamówienia: EC116G00

VIROTECH Enterovirus IgM ELISA
(Enterovirus IgM ELISA)

Nr zamówienia: EC116M00

VIROTECH Enterovirus IgA ELISA
(Enterovirus IgA ELISA)

Nr zamówienia: EC116A00

Kod barwny: IgG: brązowy/ ciemny brązowy
IgM: pasek testowy brązowy
IgM: pasek referencyjny brązowy/przezroczysty
IgA: bezbarwny

TYLKO DO DIAGNOSTYKI IN VITRO

VIROTECH Diagnostics GmbH
Löwenplatz 5
D-65428 Rüsselsheim

Tel.: +49-6142-6909-0
Fax: +49-6142-966613
<http://www.virotechdiagnostics.com>



Freigabedatum: 31.1.2019

REV 15 / VIROTECH Enterovirus IgG & IgM & IgA ELISA PL

TreŚĆ

1. Cel zastosowania	3
2. Zasada badania	3
3. ZawartoŚĆ opakowania	3
3.1 Zestaw do oznaczania IgG.....	3
3.2 Zestaw do oznaczania IgA.....	3
3.3 Zestaw do oznaczania IgM	3
4. Przechowywanie i okres trwałoŚci zestawu testowego oraz gotowych do uŹycia odczynników	4
5. Środki ostroŹnoŚci i ostrzeŹnienia	4
6. Materiały dodatkowe, potrzebne (niezaŹnaczone w zestawie)	4
7. Wykonanie badania.....	5
7.1 Materiały do badania.....	5
7.2 Przygotowanie odczynników.....	5
7.3 Przeprowadzenie testu VIROTECH ELISA	5
7.4 Zastosowanie aparatury ELISA	6
8. Ocena wyników badania	6
8.1 Kontrola badania (IgG i IgA).....	6
8.2 Kontrola badania (IgM).....	6
8.3 Obliczenie Jednostek VIROTECH (VE).....	7
8.4 Obliczenie Jednostek VIROTECH (VE) (IgM)	7
8.5 Schemat oceny IgG, IgM i IgA	7
8.6 Ograniczenia testu.....	8
9. Literatura	8
10. Schemat przebiegu badania	9

1. Cel zastosowania

Test ELISA służy do oznaczenia specyficznych dla grup przeciwciał IgG, IgM i IgA przeciw enterowirusom w surowicy ludzkiej.

2. Zasada badania

Znakowane w surowicy ludzkiej przeciwciała (IgG, IgA) tworzy razem z umieszczonym na mikropłytkę antygenem kompleks immunologiczny. Niezwiązane immunoglobuliny są usuwane w procesach płukania. Z kompleksem tym łączy się koniugat enzymu. Niezwiązane immunoglobuliny są następnie usuwane w procesach płukania. Po dodaniu roztworu substratu (TMB) w wyniku aktywności enzymów (peroksydaza) powstaje niebieski barwnik, który po dodaniu roztworu zatrzymującego reakcję zabarwia się na żółto.

Znakowane w surowicy ludzkiej przeciwciała (IgM) reaguje tak jak opisano dla IgA i IgG. Oprócz mikropłytki opaszczonej antygenami (pasek testowy) dostarczana jest dodatkowo druga mikropłytki (pasek referencyjny). Różnica intensywności barwy pomiędzy paskiem testowym a paskiem referencyjnym jest miarą ilości związanych przeciwciał.

3. Zawartość opakowania

3.1 Zestaw do oznaczania IgG

1. **1 mikropłytki**, składająca się z 96 żłamiwych dołków opaszczonej antygenami, liofilizowane
2. **bufor do rozcieńczania PBS (niebieski, gotowy do użycia), 2x50 ml**, pH 7,2, zawierający środki konserwujące i Tween 20
3. **roztwór do płukania PBS (20x stężony), 50 ml**, pH 7,2, zawierający środki konserwujące i Tween 20
4. **IgG kontrola negatywna, 2000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami białka i środkami konserwującymi, gotowa do użycia
5. **IgG kontrola cut-off, 2000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami białka i środkami konserwującymi, gotowa do użycia
6. **IgG kontrola pozytywna, 2000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami białka i środkami konserwującymi, gotowa do użycia
7. **koniugat IgG (anty-human), 11 ml**, koniugat (owczej lub koza) peroksydazy chrzanowej ze stabilizatorami białka i środkami konserwującymi i w buforze Tris, gotowy do użycia
8. **tetrametylobenzidyna - roztwór substratu (3,3',5,5'TMB), 11ml**, gotowy do użycia
9. **roztwór zatrzymujący reakcje na bazie cytrynianu, 6 ml**, zawiera mieszaninę kwasów

3.2 Zestaw do oznaczania IgA

1. **1 mikropłytki**, składająca się z 96 żłamiwych dołków opaszczonej antygenami, liofilizowane
2. **bufor do rozcieńczania PBS (niebieski, gotowy do użycia), 2x50 ml**, pH 7,2, zawierający środki konserwujące i Tween 20
3. **roztwór do płukania PBS (20x stężony), 50 ml**, pH 7,2, zawierający środki konserwujące i Tween 20
4. **IgA kontrola negatywna, 2000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami białka i środkami konserwującymi, gotowa do użycia
5. **IgA kontrola cut-off, 2000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami białka i środkami konserwującymi, gotowa do użycia
6. **IgA kontrola pozytywna, 2000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami białka i środkami konserwującymi, gotowa do użycia
7. **koniugat IgA (anty-human), 11 ml**, koniugat znaczonej (owczej lub koza) peroksydazy chrzanowej z FCS i środkami konserwującymi w buforze Tris, gotowy do użycia
8. **tetrametylobenzidyna - roztwór substratu (3,3',5,5'TMB), 11ml**, gotowy do użycia
9. **roztwór zatrzymujący reakcje na bazie cytrynianu, 6 ml**, zawiera mieszaninę kwasów

3.3 Zestaw do oznaczania IgM

Pudełko 1

1. **1 mikropłytki (pasek testowy)**, składająca się z 96 żłamiwych dołków opaszczonej antygenami, liofilizowane
2. **bufor do rozcieńczania PBS (niebieski, gotowy do użycia), 3x50 ml**, pH 7,2, zawierający środki konserwujące i Tween 20
3. **tetrametylobenzidyna - roztwór substratu (3,3',5,5'TMB), 2x11ml**, gotowy do użycia

Pudełko 2

1. **1 mikropłytki (pasek referencyjny)**, składająca się z 96 żłamiwych dołków opaszczonej antygenami, liofilizowane

2. **roztwór do pijkania PBS (20x stñŮny), 2x50 ml**, pH 7,2, zawierajñcy Œrodki konserwujñce i Tween 20
3. **IgM kontrola negatywna, 4000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami biaŸka i Œrodkami konserwujñcymi, gotowa do uŸycia
4. **IgM kontrola cut-off, 4000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami biaŸka i Œrodkami konserwujñcymi, gotowa do uŸycia
5. **IgM kontrola pozytywna, 4000µl**, surowica ludzka ze stabilizatorami biaŸka i Œrodkami konserwujñcymi, gotowa do uŸycia
6. **koniugat IgM (anty-human), 2x11 ml**, koniugat (owczej lub koza) peroksydazy chrzanowej z FCS i Œrodkami konserwujñcymi w buforze Tris, gotowy do uŸycia
7. **roztwór zatrzymujñcy reakcje na bazie cytrynianu, 2x6 ml**, zawiera mieszkankñ kwasów

4. Przechowywanie i okres trwaŸŸci zestawu testowego oraz gotowych do uŸycia odczynników

Zestaw testowy przechowywaŸ w temperaturze 2-8°C. Okres trwaŸŸci poszczególnych komponentów jest zaznaczony na odpowiedniej etykiecie, okres trwaŸŸci zestawu patrz certyfikat kontroli jakoŸci.

1. Po pobraniu wymaganych pojedynczych doŸkŸw pozostajñce pojedyncze doŸki/paski przechowywaŸ w zamkniñtym woreczku z osuszaczami w temperaturze 2-8°C. Odczynniki natychmiast po uŸyciu przechowywaŸ ponownie w temperaturze 2-8°C.
2. Gotowy do uŸycia koniugat oraz roztwór substratu TMB sñwraŸliwe na ŒwiatŸ i muszñbyŸ przechowywane w ciemnoŸci. JeŸeli po dostaniu siñ ŒwiatŸa dojdzie do przebarwienia roztworu substratu, naleŸy go wyrzuciŸ.
3. WyjñŸ tylko potrzebñ do testu iloŸŸ gotowego do uŸycia koniugatu lub TMB. Nadmiar wyjñtego koniugatu lub TMB nie moŸe byŸ z powrotem odŸŮny, lecz naleŸy go usunñŸ.

MateriaŸ	Stan	Przechowywanie	TrwaŸŸŸ
PrŸbki	po rozcieŸczeniu	+2 do +8°C	max. 6 h
	bez rozcieŸczenia	+2 do +8°C	1 tydzieŸ
Kontrole	po otwarciu	+2 do +8°C	3 miesiñce
PŸtka mikrotitracyjna	po otwarciu	+2 do +8° (przechowywanie w dostarczonej torebce z osuszaczem)	3 miesiñce
Absorbent czynnika reumatoidalnego	bez rozcieŸczenia, po otwarciu	+2 do +8°C	3 miesiñce
	po rozcieŸczeniu	+2 do +8°C	1 tydzieŸ
Koniugat	po otwarciu	+2 do +8°C (chroniñc przed ŒwiatŸem)	3 miesiñce
Tetrametylobenzzydina (TMB)	po otwarciu	+2 do +8°C (chroniñc przed ŒwiatŸem)	3 miesiñce
Roztwór zatrzymujñcy reakcje	po otwarciu	+2 do +8°C	3 miesiñce
	po otwarciu	+2 do +8°C	3 miesiñce
Roztwór do pijkania	po ostatecznym rozcieŸczeniu (gotowy do uŸycia)	+2 do +25°C	4 tygodnie

5. Œrodki ostroŸnoŸci i ostrzeŸnienia

1. Jako surowice kontrolne stosowane sñtylko te surowice, ktŸre byŸy przebadane i uzyskaŸy wynik negatywny na HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK i antygen powierzchniowy wirusa Hepatitis B. Wszystkie prŸbki, rozcieŸczone prŸbki, kontrole, koniugaty i mikropaski do miareczkowania naleŸy mimo to traktowaŸ jako materiaŸpotencjalnie zakaŸny i obchodziŸ siñ z nimi odpowiednio ostroŸnie. Obowiñzujñce wytyczne dotyczñce prac laboratoryjnych.
2. Komponenty zawierajñce Œrodki konserwujñce, roztwór zatrzymujñcy reakcjñ na bazie cytrynianu i TMB podraŸniajñ skŸrñ, oczy i bŸŸny Œluzowe. W przypadku kontaktu naleŸy natychmiast przemyŸŸ dane miejsca ciagnñ bieŸñcñ wodñ i ewentualnie pŸjŸŸ do lekarza.
3. Usuwanie zuŸytych materiaŸŸw nastŸpuje zgodnie z wytycznymi obowiñzujñcymi w danym kraju.

6. MateriaŸy dodatkowe, potrzebne (niezaŸñczone w zestawie)

1. woda destylowana/demin.
2. pipety wielokanaŸowe 50µl, 100µl
3. mikropipety: 10µl, 100µl, 1000µl
4. probŸwki
5. chusty z masy celulozowej

6. przykrywka płytek ELISA
7. pojemnik do usuwania materiałów zakaźnych
8. ręczna płytko ELISA lub automatyczna płytko mikropłytek
9. spektrofotometr do odczytu mikropłytek z filtrem 450/620nm (referencyjna długość fali 620-690nm)
10. inkubator

7. Wykonanie badania

Dokładne przestrzeganie przepisów roboczych VIROTECH Diagnostics jest warunkiem uzyskania prawidłowych wyników.

7.1 Materiał do badania

Jako materiał badawczy można zastosować surowicę i osocze (przy tym nie ma znaczenia rodzaj antykoagulantów), nawet jeśli w ulotce informacyjnej wymieniona jest tylko surowica.

Rozcieńzone próbki od pacjentów muszą być zawsze świeże podczas zastosowania.

W celu dłuższego przechowywania surowicy muszą być zamrożone. Należy unikać wielokrotnego rozmrażania.

1. Stosować tylko świeże, niedeaktywowane surowice.
2. Nie stosować próbek hiperlipemicznych, hemolitycznych, mikrobiologicznie zanieczyszczonych oraz mętnych surowic (fałszywie pozytywne/negatywne wyniki).

7.2 Przygotowanie odczynników

Diagnostyka Systemowa VIROTECH Diagnostics oferuje duży stopień elastyczności poprzez możliwość zastosowania buforu do rozcieńczenia i pływania, TMB, roztworu zatrzymującego reakcję na bazie cytrynianu oraz koniugatu niezależnie od parametrów i serii. Gotowe do użycia kontrole (kontrola pozytywna, kontrola cut-off, kontrola negatywna) należy stosować swoiście dla parametrów i wyńcznie z serii płytek podanych w certyfikacie kontroli jakościowej.

1. Ustawić inkubator na temperaturę 37°C i przed rozpoczęciem inkubacji sprawdzić, czy osiągnięto daną temperaturę.
2. Wszystkie odczynniki doprowadzić do temperatury pokojowej, dopiero wtedy otworzyć opakowanie z paskami testowymi.
3. Wszystkie płynne komponenty należy dobrze wymieszać przed użyciem.
4. Koncentrat roztworu do pływania dopełnić do 1 litra wodą destylowaną/demineralizowaną (w przypadku ewentualnej krystalizacji koncentratu należy przed rozcieńczeniem doprowadzić go do temperatury pokojowej i przed użyciem dobrze wstrząsnąć).
5. Wysokie miana IgG lub czynniki reumatoidalne (RF) mogą zaburzyć specyficzne oznaczenie przeciwciał IgM oraz prowadzić do fałszywie pozytywnych lub fałszywie negatywnych wyników **Surowice potraktować wstępnie RF-SorboTech** (adsorbentem firmy VIROTECH). W kontrolach IgM nie ma wstępnej adsorpcji.

7.3 Przeprowadzenie testu VIROTECH ELISA

Wszystkie próbki, które mają być badane, są testowane w IgM zarówno na **paskach testowych** (pasek z antygenami enterowirusów), jak również na **paskach referencyjnych** (pasek z antygenami kontrolnymi). Dlatego przed badaniem liczba pasków testowych i pasków referencyjnych zgodna z liczbą próbek jest ustawiana na jednym uchwycie. **Przy tym możliwe jest łączenie ze sobą tylko pasków testowych i pasków referencyjnych z numerami serii podanymi w certyfikacie kontroli jakości.**

Badania na IgA i IgG są przeprowadzane z tylko **jedną** mikropłytką

1. Na jedną próbkę odpipetować po 100 µl gotowego do użycia buforu do rozcieńczenia (Śepa próba), kontroli negatywnej, kontroli cut-off i pozytywnej kontroli IgG, IgM i IgA oraz rozcieńczonych surowic pacjentów. Zalecamy za każdym razem podwójne oznaczenie (Śepa próba, kontrole i surowice pacjentów), w kontroli cut-off podwójne oznaczenie jest obowiązkowo konieczne. Rozcieńczenie robocze surowic pacjentów: 1+100; np. 10 µl surowicy + 1 ml buforu do rozcieńczenia.
2. Po pipetowaniu następuje inkubacja przez 30 min w temperaturze 37 °C (z przykryciem).
3. Zakończenie okresu inkubacji poprzez 4-krotne pływanie, każdorazowo 350-400 µl roztworu do pływania na dołek. Nie pozostawiać roztworu do pływania w dołkach, lecz usunąć pozostałości płynu poprzez wystukanie na podłokcie z waty celulozowej.
4. Dodać pipetami 100 µl gotowego do użycia koniugatu do wszystkich dołek.
5. Inkubacja z koniugatem: 30 min. w temperaturze 37°C (z przykryciem).
6. Zakończenie inkubacji z koniugatem poprzez 4-krotne pływanie (patrz pkt 3).

7. Dodać pipetami 100µl gotowego do użycia roztworu substratu TMB do każdego dołka.
8. Inkubacja roztworu substratu: 30 min w temperaturze 37°C (z przykryciem, w ciemności).
9. Zatrzymanie reakcji substratu: do wszystkich dołków dodać pipetami po 50µl roztworu zatrzymującego reakcję na bazie cytrynianu. Ostrożnie i dokładnie wstrząsnąć płytki, a płytki całkowicie się wymieszają i widoczny będzie bardziej jednolity kolor.
10. Dokonać pomiaru ekstynkcji przy 450/620nm (referencyjna długość fali 620-690nm). Ustawić tak fotometr, żeby zmierzona ślepa próba była odliczona od wszystkich pozostałych ekstynkcji. Pomiar fotometryczny powinien być przeprowadzony w ciągu godziny po dodaniu roztworu zatrzymującego reakcję.

Schemat przebiegu badania patrz ostatnia strona

7.4 Zastosowanie aparatury ELISA

Wszystkie testy VIROTECH Diagnostics ELISA mogą być przetwarzane za pomocą aparatów ELISA. Użytkownik jest zobowiązany do regularnego przeprowadzania walidacji urządzenia.

VIROTECH Diagnostics zaleca następujące postępowanie:

1. Przy nastawianiu urządzenia lub większych naprawach aparatów ELISA firma VIROTECH Diagnostics zaleca przeprowadzenie walidacji urządzenia zgodnie z wytycznymi producenta urządzenia.
2. Zaleca się również sprawdzenie aparatu ELISA za pomocą zestawu do walidacji (EC250.00). Regularne sprawdzanie zestawem do walidacji powinno być przeprowadzane przynajmniej raz na kwartał.
3. Podczas każdego testu muszą być spełnione zezwalające kryteria zawarte w certyfikacie kontroli jakości produktu. Takie postępowanie gwarantuje nienagane działanie aparatu ELISA i służy ponadto do zapewnienia jakości pracy laboratorium.

8. Ocena wyników badania

Gotowe do użycia kontrole służą do ilościowego oznakowania specyficznych przeciwciał IgG, IgA i IgM, których stężenie jest podawane w Jednostkach VIROTECH (=VE). Odchylenia uwarunkowane przeprowadzeniem badania są wyrównywane metodami obliczeniowymi i dzięki temu osiągnięta jest duża odtwarzalność. W celu obliczenia VE stosowane są średnie wartości OD.

8.1 Kontrola badania (IgG i IgA)

a) wartości OD (gęstości optycznej)

Wartość OD ślepej próby powinna wynosić <0,15.

Wartości OD kontroli negatywnej powinny być mniejsze od wartości OD podanych w certyfikacie kontroli jakości, a wartości OD kontroli pozytywnej powinny być większe od wartości OD podanych w certyfikacie kontroli jakości.

b) Jednostki VIROTECH (VE)

Jednostki VIROTECH (VE) kontroli cut-off są zdefiniowane jako 10 VE. Obliczone VE kontroli pozytywnych powinny znajdować się w przedziale podanym w certyfikacie kontroli jakości.

Jeżeli wymagania (wartości OD, VE) nie są spełnione, należy powtórzyć test.

8.2 Kontrola badania (IgM)

1. Od wszystkich wartości ekstynkcji kontroli pozytywnej, cut-off i negatywnej oraz surowic pacjentów na paskach testowych są odejmowane ślepe próby (=wartości testowe).

2. Od wszystkich wartości ekstynkcji kontroli pozytywnej, cut off i negatywnej oraz surowic pacjentów na paskach referencyjnych są odejmowane ślepe próby (=wartości referencyjne).

3. Dla wszystkich kontroli pozytywnych, cut off i negatywnych oraz surowic pacjentów obliczane są różnice wartości testowe minus wartości referencyjne poprzez odjęcie od danych wartości testowych odpowiednich wartości referencyjnych.

a) wartości OD (gęstości optycznej)

Wartości OD kontroli negatywnej powinny być mniejsze od wartości OD podanych w certyfikacie kontroli jakości, a wartości OD kontroli pozytywnej powinny być większe od wartości OD podanych w certyfikacie kontroli jakości.

b) Jednostki VIROTECH (VE)

Jednostki VIROTECH (VE) kontroli cut-off sŃzdefiniowane jako 10 VE. Obliczone VE kontroli pozytywnej powinny znajdowaŃ siŃ w przedziale podanym w certyfikacie kontroli jakoŖci.

JeŤeli wymagania (wartoŖci OD, VE) nie sŃspeŤnione, naleŤy powtŃrzyŃ test.

8.3 Obliczenie Jednostek VIROTECH (VE)

Ekstynkcja próby Ŗepej (450/620nm) musi byŃ odliczona od wszystkich ekstynkcji.

$$VE_{(kontrola\ pozytywna)} = \frac{OD_{(kontrola\ pozytywna)}}{OD_{(kontrola\ cut - off)}} \times 10$$

$$VE_{(surowica\ pacjenta)} = \frac{OD_{(surowica\ pacjenta)}}{OD_{(kontrola\ cut - off)}} \times 10$$

8.4 Obliczenie Jednostek VIROTECH (VE) (IgM)

Ekstynkcja próby Ŗepej (450/620nm) musi byŃ odliczona od wszystkich ekstynkcji.

$$VE_{(kontrola\ pozytywna)} = \frac{\text{roznica (wartosc test. - wartosc ref. kontroli pozytywnej)}}{\text{roznica (wartosc test. - wartosc ref. kontroli cut - off)}} \times 10$$

$$VE_{(surowica\ pacjenta)} = \frac{\text{roznica (wartosc test. - wartosc ref. surowicy pacjenta)}}{\text{roznica (wartosc test. - wartosc ref. kontroli cut - off)}} \times 10$$

PrzykŤad:

- OD na paskach testowych kontroli pozytywnej: 0,853
- OD na paskach referencyjnych kontroli pozytywnej: 0,107
- RŃnica wartoŖi testowa i wartoŖi referencyjna kontroli pozytywnej: 0,746
- OD na paskach testowych kontroli cut-off: 0,341
- OD na paskach referencyjnych kontroli cut-off: 0,073
- RŃnica wartoŖi testowa i wartoŖi referencyjna kontroli cut-off: 0,268

$$VE_{(kontrola\ pozytywna)} = \frac{0,746}{0,268} \times 10 = 27,8$$

8.5 Schemat oceny IgG, IgM i IgA

Wynik (VE)	Ocena
< 9,0	negatywne
9,0 - 11,0	wartoŖci graniczne
> 11,0	pozytywne

1. JeŤeli zmierzone jednostki VE próbki sŃwyŤsze od zakresu granicznego, to próbki te sŃtraktowane jako pozytywne.
2. JeŤeli zmierzone jednostki VE znajdujŃ siŃ w podanym zakresie granicznym, nie wystŤpuje istotnie duŤe strŃŤenie przeciwciaŤŃ próbki sŃtraktowane jako wartoŖci graniczne. W celu pewnego stwierdzenia zakaŤenia konieczne jest oznaczenie zawartoŖci przeciwciaŤŃdwŃch próbek surowicy. Pierwsza próbka surowicy powinna byŃ zbadana bezpoŖrednio po rozpoczŃciu zakaŤenia, a druga próbka 5-10 dni pŃŤniej (surowica rekonwalescencyjna). StrŃŤenie przeciwciaŤŃobydwŃch próbek musi byŃ oznaczone równoleŤle, to znaczy w jednym badaniu. Nie jest moŤliwa prawidŤowa diagnoza na podstawie oceny pojedynczej próbki surowicy.

3. Jeżeli zmierzone jednostki VE próbki s'ni'ższe od zakresu granicznego, w próbce nie wyst'puj' daj'ce si' zmierzyl' specyficzne dla antygenów przeciwcia'a. Próbki s'ntaktowane jako negatywne.

8.6 Ograniczenia testu

Odpowied' immunologiczna mo'e by' homotypowa lub heterotypowa. Przeciwcia'a homotypowe s'nskierowane przeciwko swoistym dla serotypu determinantom antygenowym, podczas gdy przeciwcia'a heterotypowe rozpoznaj' determinanty antygenowe, które s'identyczne lub podobne mi'dzy serotypami.

Test VIROTECH-ELISA oznacza reaguj'ce krzy'owo, heterotypowe przeciwcia'a przeciw enterowirusom za pomoc' denaturowanych termicznie preparatów antygenów. Podczas ustalania rozpoznania wzgl'dem wyst'puj'cego zaka'enia enterowirusami nale'y uwzgl'dni' :

1. Przejaw reaguj'cych krzy'owo epitopów na inaktywowanych termicznie enterowirusach mo'e wykazywa' ilo'ciowe i jako'ciowe ró'nice w zale'no'ci od tego, jakie typy serologiczne i jakie izolaty by'y zastosowane do spreparowania antygenów. Odpowiednio do tego mo'e si' równie'zmienia' spektrum przeciwcia'gheterotypowych, które jest rozpoznawane za pomoc'ró'nych systemów testowych.
2. Ilo'ciowy stosunek przeciwcia'ghomotypowych do heterotypowych w surowicy pacjentów mo'e by' ró'ny. Badania King et al. (6) wskazuj' e w przebiegu pierwszych zaka'eenterowirusowych w wieku dzieci'ym w przewa'aj'ym stopniu wytwarzane s'przeciwcia'a homotypowe, a dopiero wraz ze starszym wiekiem i wi'kszn' wtedy liczb'ju'przebytych zaka'eenterowirusowych wzrasta udzia'przeciwcia'gheterotypowych. W testach VIROTECH ELISA Enterovirus mog' w zwi'zku z tym wyst'powa' wyniki negatywne w przypadkach, w których heterotypowa odpowied' odporno'ciowa jest tylko s'abo wykszta'ona w stosunku do homotypowej.
3. Poniewa'test ELISA wykazuje równie'surowice polio pozytywne, nie mo'e by' wykluczone, e wyst'puj'ce miano poszczepienne prowadzi do wyniku pozytywnego.
4. Opisano reakcje krzy'owe pomi'dzy enterowirusami a Hepatitis A, wirusem Epsteina-Barra (EBV), wirusem cytomegalii (CMV) i rinowirusami (7).
5. Interpretacja wyników serologicznych powinna zawsze uwzgl'dnia' obraz kliniczny, dane epidemiologiczne oraz ewentualnie dalsze b'rd'ce do dyspozycji wyniki laboratoryjne.

9. Literatura

1. Diagnostische Bibliothek: Coxsackie- und Echoviren; In vitro Diagnostica Nachrichten; 24 (1994) 1-8.
2. MIQ 13; Infektionen des Mundes und der oberen Atemwege; 35-37 (2000).
3. RKI, Übersicht zu Erkrankungen durch Enteroviren, Stand: Mai 2002.
4. Bomann J et al., Serum IgA, IgG und IgM Responses to different Enteroviruses as measured by a Coxsackie B5-based indirect ELISA; J. Med.Virol.; 38:32-35 (1992).
5. Swanink CMA et al., Coxsackie B1-Based Antibody-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin G (IgG), IgM, and IgA with Broad Specificity for Enteroviruses, J. Clin. Microbiol. 31:3240-3246 (1993)
6. King M.J., Bidvell D., Shaikh A., Voller A., Banatvala J.E. Coxsackie-B-virus-specific IgM responses in children with insulin-dependent (juvenile-onset; type 1) diabetes mellitus, Lancet i: 1397-9 (1983)
7. Samuelson, A. et al., Aspects on the serodiagnosis of enterovirus infections by ELISA, Serodiagn. Immunother. Infect. Dis.; 4:395-406 (1990).

Przygotowanie próbek pacjentów i roztworu do pękania

Σ **Roztwór do pękania:** Koncentrat dopełnić do 1 litra wodą destylowaną/demin.

Σ **Rozcieńczenie próbki IgG/IgA w stosunku 1:101**

np.:
10 µl surowicy/osocza + 1000 µl buforu do rozcieńczenia
(Roztwór do rozcieńczenia surowicy jest gotowy do użycia)

Σ **Rozcieńczenie próbki IgM w stosunku 1:101**
Adsorpcja czynnika reumatoidalnego za pomocą RF-SorboTech

np.:
5 µl surowicy/osocza + 450 µl buforu do rozcieńczenia +
1 kroplę RF SorboTech inkubować przez 15 min w temp.
pok.

Wykonanie badania

