

CHAGAS **CE**



Western Blot IgG

In vitro διαγνωστική δοκιμασία Immunoblot
Ημι-αυτόνομη / χειροκίνητη τεχνική

#CHA-WB24G: 24 tests

#CHA-WB12G: 12 tests

#CHA-WB96G: 96 tests

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Βρείτε περισσότερες πληροφορίες και οδηγίες χρήσης στη γλώσσα σας στην ιστοσελίδα μας
www.ldbiodiagnostics.com

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το **CHAGAS Western Blot (WB) IgG** είναι μία ποιοτική δοκιμασία μιας χρήσης για την ορολογική διάγνωση IgG μέσω της δοκιμασίας Immunoblot της Αμερικανικής τρυπανοσωμίας (American trypanosomiasis) (*Trypanosoma cruzi*), που προορίζεται για επιβεβαιωτικές εξετάσεις θετικών ή αμφισβητούμενων αποτελεσμάτων που αποκτήθηκαν μέσω κλασικών δοκιμασιών ανίχνευσης.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Τεχνική Western Blot

Τα αντιγόνα των προνυμφών *Trypanosoma cruzi*, αφού διαχωριστούν μέσω ηλεκτροφόρησης, δεσμεύονται μέσω electroblotting στην επιφάνεια μιας μεμβράνης νιτροκυτταρίνης (που ονομάζεται μεταφορά), η οποία κόβεται σε 24 strips αριθμημένα από 1 έως 24.

Διεξαγωγή της δοκιμής

Κάθε δείγμα προς εξέταση επωάζεται ξεχωριστά με ένα strip. Τα ειδικά αντισώματα που ενδέχεται να υπάρχουν στο δείγμα προσδένονται επιλεκτικά στα αντιγόνα. Το σύμπλεγμα αλκαλικής φωσφατάσης-αντί IgG ανθρώπινου τύπου προσδένεται στα δεσμευμένα αντισώματα. Τέλος, τα ανοσοσύμπλοκα αντιδρούν με το υπόστρωμα. Τα αντιγόνα που αναγνωρίζονται από τα ειδικά αντισώματα τύπου IgG που υπάρχουν στα δείγματα αποκαλύπτονται ως μωβ εγκάρσιες ζώνες.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Default: συσκευασία των 24 tests (#CHA-WB24G)

Italic: συσκευασία των 12 tests (#CHA-WB12G) – **Bold:** συσκευασία των 96 tests (#CHA-WB96G)

ID	Ποσότητα	Περιγραφή	Σύσταση
R1	1	Φάκελος(οι) των 24 (12, 4x24) STRIPS: κομμένα + έγχρωμα Πρότυπα. (Κάθε φάκελος και κάθε μεταφορά αναγνωρίζεται με έναν μοναδικό αριθμό σειράς)	Ευαισθητοποιημένη νιτροκυτταρίνη. Έγχρωμο Μοριακό Βάρος (kDa): Μπλε: 250, Μπλε: 150, Μπλε: 100, Ροζ: 75, Μπλε: 50, Πράσινο: 37, Ροζ: 25, Μπλε: 20, Μπλε: 15, Κίτρινο: 10.
R2	1	Φιαλίδιο των (30, 125) mL SAMPLE BUFFER (Έτοιμο προς χρήση – ροζ διάλυμα).	Ρυθμιστικό διάλυμα + επιφανειοδραστική ουσία + NaN3 (<0,1%).
R3	1	Φιαλίδιο(α) των 30 (30, 2x60) mL ANTI IgG CONJUGATE (Έτοιμο προς χρήση – μπλε διάλυμα).	Ρυθμιστικό διάλυμα + πολυκλωνικά anti-ανθρώπινα IgG αντισώματα ορού από αίγα συζευγμένα με Αλκαλική Φωσφατάση + NaN3 (<0.1%) + σταθεροποιητές.
R5	1	Φιαλίδιο των 30 (30, 125) mL SUBSTRATE (Έτοιμο προς χρήση – αδιαφανές καφέ φιαλίδιο).	Ρυθμιστικό διάλυμα + NBT + BCIP + σταθεροποιητές.
R6	1	Φιαλίδιο των 60 (60, 250) mL WASH CONCENTRATE 10X BUFFER (Πρέπει να αραιωθεί 10 φορές με απεσταγμένο νερό – άχρωμο διάλυμα).	Ρυθμιστικό διάλυμα + επιφανειοδραστική ουσία.
R10	1	Σωληνάριο των 100 (100, 2x100) μL POSITIVE CONTROL SERUM (Έτοιμο προς χρήση – κόκκινο καπάκι).	Ρυθμιστικό διάλυμα + μίγμα ανθρώπινου ορού θετικό σε <i>Trypanosoma</i> ορολογία + NaN3 (<0.1%) + σταθεροποιητές.

R1: Το γράμμα πριν από κάθε αριθμό strip είναι συγκεκριμένο για την παράμετρο.

R2, R3, R5 and R6 είναι κοινά για όλα τα kit και έχουν έναν μοναδικό αριθμό παρτίδας που εξαρτάται μόνο από την ημερομηνία παραγωγής τους. **Συνιστάται να πραγματοποιούνται δοκιμές πολλαπλών παραμέτρων (βλ. LDBIO immunoblot range) για να περιοριστεί ο αριθμός των ανοιγμένων φιαλιδίων και να εξασφαλιστεί καλύτερος έλεγχος ποιότητας.**

R10 είναι βαθμονομημένο σε immunoblot σύμφωνα με μια παρτίδα αναφοράς και είναι μόνο για τη συγκεκριμένη.

R3, R10 (NaN3): EUH 032 – Η επαφή με οξέα απελευθερώνει πολύ τοξικό αέριο.

EUH 210 Δελτίο δεδομένων ασφαλείας είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος καθώς και στην ιστοσελίδα μας www.ldbiodiagnostics.com

ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Ένας δίσκος επώασης πολλαπλών καναλιών από πολυπροπυλένιο για mini-blot (# WBPP- 08 ή ισοδύναμο).
- Μια πλατφόρμα κίνησης για immunoblots, ένα σύστημα αναρρόφησης για υγρά (#WBPP-08 tubs που παρέχουμε μπορούν να αδειάσουν απλά αναποδογυρίζοντας τα).
- Σωληνάκια και υλικό για σχεδιασμό δειγμάτων, ογκομετρικοί κύλινδροι, προσαρμοσμένα δοχεία. Αυτόματες πιπέτες, μικροπιπέτες και tips μιας χρήσεως (όγκοι 10 µL, 1.2 mL και 2 mL).
- Απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό. Απορροφητικό χαρτί (π.χ. Whatman filter paper), διαφανής αυτοκόλλητη ταινία.
- Γάντια, λαβίδες για τη χειρισμό των strips, κόφτης ή νυστέρι, επίπεδος διαφανής χάρακας.

Σημείωση: Τα αντιδραστήριά μας μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αυτοματοποιημένο επεξεργαστή immunoblot. Θα πρέπει να ληφθεί μέριμνα για τις πιθανές χημικές επιμολύνσεις των αντιδραστηρίων μας εάν ο επεξεργαστής μοιράζεται με αντιδραστήρια άλλου κατασκευαστή (γνωστό παράδειγμα: επιμόλυνση από TWEEN 20), καθώς και βακτηριακές επιμολύνσεις. Κρατήστε τα φιαλίδια για τον επεξεργαστή. Μετά την επεξεργασία, μην τοποθετείτε τα υπόλοιπα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πίσω στα αρχικά φιαλίδια.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύστε μεταξύ 2 και 8°C. Τα αντιδραστήρια του kit είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο εξωτερικό κουτί και στις ετικέτες των φιαλιδίων. Μην χρησιμοποιείτε επιμολυσμένα ή θολά αντιδραστήρια. Το αραιωμένο 1/10 διάλυμα πλύσεως είναι σταθερό για 2 μήνες στους +2 έως +8 °C και για μία εβδομάδα σε θερμοκρασία δωματίου.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΧΡΗΣΕΩΣ

Ασφάλεια

- Μόνο για *in vitro* χρήση. Μόνο για επαγγελματική χρήση. Απευθύνεται μόνο σε τεχνικά καταρτισμένο προσωπικό. Χειριστείτε σύμφωνα με τις Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές και θεωρήστε κάθε αντιδραστήριο και κάθε δείγμα ως ενδεχομένως τοξικό και/ή μολυσματικό.
- Φορέστε εργαστηριακή ποδιά, γάντια και γυαλιά. Μην πίνετε, μην τρώτε ή μην καπνίζετε στο εργαστήριο. Μην βάζετε τις πιπέτες στο στόμα.
- Ο θετικός έλεγχος είναι ορός ανθρώπινης προέλευσης που έχει αδρανοποιηθεί για τους ιούς HIV 1 και 2, ηπατίτιδας Β και ηπατίτιδας C. Ωστόσο, πρέπει να χειρίζεται σαν ενδεχομένως μολυσματικό προϊόν.
- Το υπόστρωμα περιέχει ένα μείγμα NBT και BCIP, το οποίο είναι τοξικό σε επαφή (με το δέρμα και τους βλεννογόνους) και με εισπνοή.
- Τα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου, το οποίο μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικά μεταλλικά άλατα με μόλυβδο και χαλκό. Ξεπλύνετε τυχόν διαρροή με νερό.
- Διενεργείτε την απόρριψη των αποβλήτων (δειγμάτων, tips, σωληναρίων, υγρού πλύσεως, χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων κ.λπ.) σύμφωνα με τις καλές πρακτικές που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία και τους ισχύοντες κανονισμούς της χώρας.
- Κάθε σοβαρό περιστατικό πρέπει να δηλώνεται στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή.

Προφυλάξεις

- Διαβάστε και ερμηνεύστε τα αποτελέσματα κάτω από άμεσο λευκό φως.
- Είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται όλα τα αντιδραστήρια από την ίδια παρτίδα. Αν χρησιμοποιούνται διαφορετικές παρτίδες, εξασφαλίστε την ιχνηλασιμότητα.
- Χρησιμοποιείτε τα strips με τη σειρά αριθμού. Μην αναμειγνύετε strips από διαφορετικούς αριθμούς σειράς. Χρησιμοποιείτε τις μεταφορές κατά σειρά. Καθορίστε ένα συγκεκριμένο σχέδιο κατανομής πριν ξεκινήσετε τη δοκιμή.
- Μην αγγίζετε τα strips με τα δάχτυλα σας, χρησιμοποιείτε λαβίδες.
- Τα αντιδραστήρια πρέπει να αναμειγνύονται καλά πριν τη χρήση, ιδιαίτερα το συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσεως.
- Κλείνετε τα φιαλίδια μετά τη χρήση, μην χρησιμοποιείτε αν έχει εισαχθεί κατά λάθος κάποια ουσία στα αντιδραστήρια. Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήριο από φιαλίδιο που παρουσιάζει σημάδια διαρροής. Μην χρησιμοποιείτε θολό ή ιζηματώδες διάλυμα.
- Χρησιμοποιείτε μόνο μιας χρήσης tips πιπετών. Αποφύγετε οποιαδήποτε διασταυρούμενη μόλυνση μεταξύ καναλιών. Προσέξτε για τη δημιουργία αφρού ή φυσαλίδων στα tips (βακτηριακή επιμόλυνση των φιαλιδίων αντιδραστηρίων).
- Καθαρίζετε τα δισκία επώασης μόνο με απεσταγμένο νερό (μην χρησιμοποιείτε απορρυπαντικά ή χλωρίνη).
- Η παράλειψη δείγματος ή η κατανομή ακατάλληλου όγκου μπορεί να προκαλέσει αρνητικό ή θετικό αποτέλεσμα, ανεξαρτήτως της πραγματικής κατάστασης του δείγματος.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Συλλέξτε τα δείγματα με αποστειρωμένο τρόπο σε στεγνά σωληνάκια. Ο ελάχιστος όγκος ορού που απαιτείται είναι 10 μ L.

Διατηρείτε τα δείγματα στους 2-8 °C μέχρι να επεξεργαστούν. Αν χρειάζεται να αποθηκευτούν για περισσότερο από μια εβδομάδα, καταψύξτε τα δείγματα στους -20 $\pm$ 5 °C. Μην χρησιμοποιείτε μολυσμένο δείγμα. Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων.

Αν και δεν έχει παρατηρηθεί καμία ιδιαίτερη διασταυρούμενη αντίδραση με αιμολυμένους, ικτερικούς ή λιπιδικούς ορούς, συνιστάται η προσεκτική ερμηνεία των αποτελεσμάτων από τη χρήση τέτοιων δειγμάτων.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Wash buffer: Για 4 δοκιμές, σε ένα καθαρό μπουκάλι, αραιώστε 10 mL Συμπυκνωμένου Διαλύματος Πλύσεως 10X (R6) σε 90 mL απεσταγμένου ή αποιονισμένου νερού. Φροντίστε να αναμίξετε καλά το αραιωμένο διάλυμα πλύσεως.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

Σημείωση: Συνιστάται να πραγματοποιούνται δοκιμές πολλαπλών παραμέτρων (βλ. LDBIO immunoblot range) για να περιοριστεί ο αριθμός των ανοιγμένων φιαλιδίων και να εξασφαλιστεί καλύτερος ποιοτικός έλεγχος.

1. Προετοιμάστε ένα σχέδιο κατανομής για τα δείγματα και τον θετικό έλεγχο C+ (R10).

Μόνο με τη χρήση αυτού του ελέγχου μπορεί η δοκιμή να επικυρωθεί τεχνικά και να γίνει αναγνώριση, για ένα δεδομένο αριθμό σειράς, των συγκεκριμένων ζωνών που αναπτύχθηκαν. Ένα strip C+ δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων από ένα blot διαφορετικού αριθμού σειράς.

2. Κόψτε τον απαιτούμενο αριθμό strips (R1) χρησιμοποιώντας ένα νυστέρι και έναν καθαρό και στεγνό επίπεδο διαφανή χάρακα (R1), διατηρώντας τη μπλε γραμμή τοποθέτησης στα strips: κρατήστε τα strips σταθερά με τον χάρακα και κόψτε τα από την πλευρά της λωρίδας (οι αριθμοί είναι ορατοί μέσω του χάρακα).
3. Διανείμετε 1.2 mL του sample buffer (R2) σε κάθε κανάλι σύμφωνα με το καθορισμένο σχέδιο.
4. Τοποθετήστε τα αριθμημένα strips, με τη σειρά τους, στα κανάλια: αφήστε τα strips να ενυδατωθούν ξανά στην επιφάνεια του διαλύματος για περίπου 2 λεπτά, με τον αριθμό ορατό στην κορυφή, ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ανακινήστε απαλά τον δίσκο για να τις βυθίσετε πλήρως στο διάλυμα.
5. Διανείμετε τα δείγματα και τον θετικό έλεγχο σύμφωνα με το σχέδιο κατανομής, με ρυθμό 10 μL ανά κανάλι. Ανακινήστε απαλά τον δίσκο μετά από κάθε διανομή. Τοποθετήστε τον δίσκο στην πλατφόρμα κίνησης.
Επώαστε για 90 λεπτά ± 5 λεπτά στους 20-26 °C.
6. Βήμα πλύσεως: Αδειάστε το περιεχόμενο των καναλιών με μία πιπέτα Pasteur ή αναποδογυρίζοντας τον δίσκο επώασης. Διανείμετε 2 έως 3 mL αραιωμένου Wash Buffer σε κάθε κανάλι. Επώαστε στην πλατφόρμα κίνησης για 3 λεπτά. Επαναλάβετε 2 φορές, στη συνέχεια αδειάστε το περιεχόμενο των καναλιών. Βεβαιωθείτε ότι τα strips δεν περιστρέφονται κατά τη διάρκεια αυτών των βημάτων.
7. Διανείμετε 1.2 mL του anti IgG conjugate (R3) σε κάθε κανάλι. Τοποθετήστε τον δίσκο στην πλατφόρμα κίνησης.
Επώαστε για 60 λεπτά ± 5 λεπτά στους 20-26 °C.
8. Βήμα πλύσεως: επαναλάβετε το βήμα 6.
9. Διανείμετε 1.2 mL του NBT/BCIP substrate (R5) σε κάθε κανάλι. Τοποθετήστε τον δίσκο στην πλατφόρμα κίνησης και προστατέψτε το από το άμεσο φως. **Επώαστε για 60 λεπτά ± 5 λεπτά στους 20-26 °C.**

Ανεξαρτήτως της παραμέτρου, παρακολουθήστε την ανάπτυξη του χρώματος. Η ανάπτυξη μπορεί να διακοπεί αν το χρώμα του υποβάθρου του strip σκουρύνει σε σημείο που να δυσχεραίνει την ανάγνωση (η ποιότητα των βημάτων πλύσεως έχει θεμελιώδη επίδραση στο χρωματισμό του υποβάθρου). Σημειώστε ότι τα strips θα γίνουν πιο ανοιχτόχρωμα καθώς στεγνώνουν.

10. Σταματήστε την αντίδραση αναρροφώντας το υπόστρωμα με μία πιπέτα Pasteur ή αναποδογυρίζοντας τον δίσκο επώασης και διανέμοντας 2 mL απεσταγμένου ή αποιονισμένου νερού στα κανάλια. Επαναλάβετε αυτό το τελευταίο βήμα πλύσεως μία ακόμη φορά.
11. Στέγνωμα των strips: Με τα κανάλια ακόμα γεμάτα με νερό, ακουμπήστε τα strips από την αριθμημένη άκρη με τις λαβίδες και τοποθετήστε τα, με τον αριθμό ορατό, σε ένα απορροφητικό χαρτί Whatman. Αφήστε τα να στεγνώσουν στον αέρα. Το χρώμα των strips θα γίνει πιο ανοιχτόχρωμο κατά το στέγνωμα. Η ερμηνεία πρέπει να γίνει μόνο μετά την ολοκλήρωση του στεγνώματος.

12. Αποθήκευση: Μεταφέρετε τα strips σε ένα φύλλο χαρτιού, το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για την αρχειοθέτησή τους. Ευθυγραμμίστε τις μπλε γραμμές τοποθέτησης. Κρατήστε τις σταθερές με τον επίπεδο χάρακα και κολλήστε το πάνω μέρος των strips με διαφανή αυτοκόλλητη ταινία.

Για καλή ερμηνεία, τα strips πρέπει να τοποθετούνται με τη σειρά μεταφοράς και τη σειρά αριθμού τους, με απόσταση να μην ξεπερνά μερικά χιλιοστά. Είναι αναξιόπιστο να συγκρίνετε strips που είναι τοποθετημένα πολύ μακριά το ένα από το άλλο (π.χ. no.2 με no.15). **Είναι επικίνδυνο** (ψευδή αποτελέσματα) να συγκρίνετε strips από διαφορετικά kits (strips με διαφορετικούς αριθμούς σειράς).

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

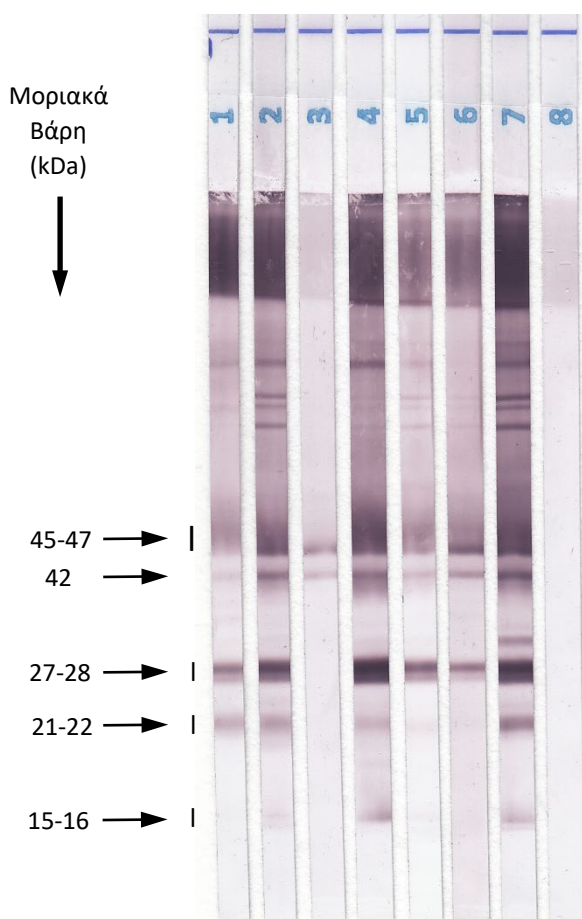
Ο ορός ελέγχου (R10) που παρέχεται με το kit πρέπει να περιλαμβάνεται συστηματικά σε κάθε σειρά immunoblot. Δείχνει το τυπικό προφίλ και επιτρέπει την τεχνική επικύρωση της καλής διεξαγωγής της δοκιμής (οι ζώνες πρέπει να εμφανίζονται πολύ καθαρά στο strip) και την ακριβή βαθμονόμηση της θέσης και της εμφάνισης των συγκεκριμένων ζωνών, ώστε να επιτραπεί η ερμηνεία των αποτελεσμάτων των strips από την ίδια μεταφορά (ίδιος αριθμός σειράς).

Σημείωση: Το προφίλ θετικού ελέγχου (R10) μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τον αριθμό παρτίδας των χρησιμοποιούμενων αντιδραστηρίων. Οι αντίστοιχες εικόνες είναι διαθέσιμες στην ιστοσελίδα μας www.ldbiodiagnostics.com ως παράδειγμα.

Περιγραφή των ζωνών

- Ένα θετικό δείγμα μπορεί να παρουσιάσει πολυάριθμες ζώνες που βρίσκονται μεταξύ 8 και 200 kilodaltons (kDa).
- Η περιοχή ανάγνωσης βρίσκεται στο κάτω μέρος του strip, μεταξύ 15 και 47 kDa.
- 5 ζώνες είναι συχνότερα παρούσες: **P15-16, P21-22, P27-28, P42 και P45-47** στα αντίστοιχα μοριακά βάρη (βλ. φωτογραφία στην **Εικ. 1**).

Η όψη των ζωνών μπορεί να είναι μεταβλητή. Οι ζώνες P15-16, P21-22, P27-28 μπορούν να έχουν τη μορφή μιας μεγάλης ζώνης, ενός διπλού ζεύγους 2 στενότερων ζωνών, ή 1 εκ των 2 ζωνών του διπλού ζεύγους. Οι P45-47 μπορεί να εμφανίζονται ως μια πιο ασαφής ζώνη.



Εικ. 1: Παραδείγματα θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων.

Τα προφίλ δίνονται ως παραδείγματα. Τα strips σημειώνονται με το γράμμα "J" που είναι ειδικό για την παράμετρο από την παρτίδα "09003".

Ερμηνεία

Η ταυτόχρονη παρουσία των **δύο καλά καθορισμένων ζωνών** μεταξύ **P15-16, P21-22, P27-28, P42 και P45-47** είναι ενδεικτική της παρουσίας anti-*T. cruzi* αντισωμάτων στο δείγμα.

Για την επικύρωση των αποτελεσμάτων, συγκρίνετε πάντα το προφίλ του immunoblot κάθε δείγματος με αυτό του θετικού ελέγχου R10. Η όψη των ζωνών είναι σημαντική κατά την ερμηνεία της δοκιμής.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΧΡΗΣΗΣ

- Η διάγνωση μίας λοιμώδους ασθένειας δεν μπορεί να βασιστεί σε ένα μόνο αποτέλεσμα εξέτασης.
- Τα ορολογικά αποτελέσματα πρέπει να ερμηνεύονται σύμφωνα με τις διαθέσιμες πληροφορίες (π.χ. επιδημιολογία, κλινική εικόνα, απεικόνιση, βιολογία...) προκειμένου να τεθεί η διάγνωση. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση μόνο με βάση τη θετικότητα τους.

ΑΠΟΔΟΣΗ (βλέπε αναφορές βιβλιογραφίας)

Ένα ανεξάρτητο γαλλικό εργαστήριο αναφοράς αξιολόγησε την απόδοση του **CHAGAS WB IgG** kit σε σύγκριση με 2 τρέχουσες εμπορικές δοκιμές σάρωσης, ELISA και IFA. Οι επιδόσεις ευαισθησίας και ειδικότητας των δοκιμών έχουν υπολογιστεί, καθώς και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% σύμφωνα με τη μέθοδο Wilson με διόρθωση συνέχειας.

Ευαισθησία (Se)

100 οροί ασθενών μολυσμένοι με νόσο Chagas (συμπεριλαμβανομένων 11 οξέων φάσεων) εξετάστηκαν με WB, ELISA και IFA σύμφωνα με τις συστάσεις που περιγράφονται στις οδηγίες κάθε κιτ. Η νόσος Chagas αποδείχθηκε με κλινικά δεδομένα.

	CHAGAS WB IgG	ELISA	IFA
ΘΕΤΙΚΟ	100	99	96
ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0	1	4
Se 95% (%)	100% [95.4 ; 100]	99% [93.8 ; 100]	96% [88.2 ; 98.1]

Πίνακας 1: Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν μεταξύ της δοκιμασίας CHAGAS WB IgG και δύο εμπορικών δοκιμών σάρωσης, ELISA και IFA, σε 100 θετικά δείγματα Chagas.

Ειδικότητα (Sp)

178 οροί που αντιστοιχούσαν σε 178 διαφορετικούς ασθενείς εξετάστηκαν ακολουθώντας τις ενδείξεις που παρουσιάζονται στις οδηγίες κάθε δοκιμής. Αυτοί οι οροί ανήκαν σε υγιείς ασθενείς (79), ελονοσία (22), λεϊσμανίαση (44), αμοιβάδωση (6) και τοξοπλάσμωση (27).

	CHAGAS WB IgG	ELISA	IFA
ΑΡΝΗΤΙΚΟ	178	160	148
ΘΕΤΙΚΟ	0	18	30
Sp 95% (%)	100% [97.4 ; 100]	89.9% [85.9 ; 91.8]	83.1% [76.6 ; 88.2]

Πίνακας 2: Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν μεταξύ της δοκιμασίας CHAGAS WB IgG και δύο εμπορικών δοκιμών σάρωσης, ELISA και IFA σε 178 αρνητικά δείγματα Chagas.

Σε αυτόν τον πληθυσμό, η ειδικότητα του CHAGAS WB IgG ήταν **100%**.

Η ELISA παρουσίασε 10% ψευδώς θετικά αποτελέσματα (14% των ασθενών που έχουν μολυνθεί με *Leishmania*).

Η IFA παρουσίασε 17% ψευδώς θετικά αποτελέσματα (30% των ασθενών που έχουν μολυνθεί με *Leishmania*).

Συμπέρασμα

Στον πληθυσμό που μελετήθηκε, το WB παρουσίασε επιδόσεις ευαισθησίας και ειδικότητας ανώτερες από εκείνες των τεχνικών ELISA και IFA που χρησιμοποιήθηκαν συγκριτικά. Συγκεκριμένα, δεν παρατηρήθηκε καμία διασταυρούμενη αντίδραση με ορούς θετικούς για *Leishmania*. Αυτές οι επιδόσεις καθιστούν το Chagas WB μια εξαιρετική δοκιμασία για την επιβεβαίωση της λοίμωξης από *T. cruzi*.

Αναπαραγωγικότητα

Εξετάστηκε η αναπαραγωγικότητα εντός σειρών και εντός παρτίδων. Και στις δύο περιπτώσεις, η συσχέτιση ορού προς ορού σε σχέση με τις ειδικές ζώνες είναι εξαιρετική.

Παρεμβολές

Αν και δεν παρατηρήθηκε καμία ιδιαίτερη διασταυρούμενη αντίδραση με αιμολυμένα, ικτερικά ή λιπιδικά δείγματα ορού, συνιστάται η προσεκτική ερμηνεία των αποτελεσμάτων από τη χρήση τέτοιων δειγμάτων.

ΕΠΙΛΥΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

«Οι ζώνες είναι αχνές με μικρή αντίθεση»: Ορισμένα δείγματα ορού με χαμηλές συγκεντρώσεις αντισωμάτων μπορεί να δώσουν τέτοια αποτελέσματα.

«Σκιασμένες περιοχές είναι ορατές, περισσότερο ή λιγότερο χρωματισμένες, ελαφρώς διαχεόμενες»: Το strip δεν ήταν πλήρως βυθισμένο σε κάποιο από τα αντιδραστήρια και δεν επώαστηκε σωστά σε όλο το μήκος του.

Μπορεί να υπάρχουν κηλίδες στο σημείο όπου το δείγμα εναποτέθηκε, εάν η πλάκα δεν ανακινήθηκε μετά τη διανομή του δείγματος.

«Ο θόρυβος του υποβάθρου είναι σημαντικός, κάνοντας την ανάγνωση πολύ δύσκολη»: Οι καθαρισμοί ήταν ανεπαρκείς ή η τελευταία επώαση ήταν πολύ μεγάλη. Διασφαλίστε τις σωστές τεχνικές εκτέλεσης της δοκιμασίας, τηρείτε τους χρόνους πλυσίματος και εξασφαλίστε την ποιότητα του νερού. Μειώστε τον χρόνο της τελευταίας επώασης. Με εξαίρεση, ορισμένα δείγματα ορού μπορεί να αντιδρούν μη ειδικά. Σε αυτήν την περίπτωση, το αποτέλεσμα του immunoblot δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί.

Αυτός ο μη ειδικός θόρυβος στο υπόβαθρο μπορεί να επηρεάσει μόνο ένα μέρος του strip, κάνοντας το αποτέλεσμα μη αναγνώσιμο μόνο για αυτό το μέρος.

«Εμφανίζεται ίζημα στο διάλυμα κατά το τελευταίο στάδιο ανάπτυξης»: Το υπόστρωμα μπορεί να καθιζάνει μερικώς (μαύρα σωματίδια) στο διάλυμα κατά το τέλος της ανάπτυξης. Αυτό το φαινόμενο δεν αλλοιώνει την ποιότητα της ανάπτυξης, η οποία πρέπει να συνεχιστεί κανονικά. Η τελευταία πλύση με απεσταγμένο νερό εξαλείφει τα πιθανά στερεά σωματίδια που ενδέχεται να υπάρχουν.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abras A *et al.* Towards a New Strategy for Diagnosis of Congenital *Trypanosoma cruzi* Infection. *Journal of Clinical Microbiology* **55**, 1396–1407 (2017).

Abras A *et al.* Serological Diagnosis of Chronic Chagas Disease: Is It Time for a Change? *Journal of Clinical Microbiology* **54**, 1566–1572 (2016).

Angheben A *et al.* Chagas disease and transfusion medicine: a perspective from non-endemic countries. *Blood Transfusion* (2015). doi:10.2450/2015.0040-15

Capuani L *et al.* Mortality among blood donors seropositive and seronegative for Chagas disease (1996–2000) in São Paulo, Brazil: A death certificate linkage study. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **11**, e0005542 (2017).

Carneiro CM, *et al.* Experimental and Clinical Treatment of Chagas Disease: A Review. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **97**, 1289–1303 (2017).

De Noya BA, & González ON. An ecological overview on the factors that drives to *Trypanosoma cruzi* oral transmission. *Acta Tropica* **151**, 94–102 (2015).

Pinazo MJ, & Gascon J. The importance of the multidisciplinary approach to deal with the new epidemiological scenario of Chagas disease (global health). *Acta Tropica* **151**, 16–20 (2015).

Soriano-Arandes A, *et al.* Control and management of congenital Chagas disease in Europe and other non-endemic countries: current policies and practices. *Tropical Medicine & International Health* **21**, 590–596 (2016).

ΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗΣ – Παρακαλώ διαβάστε προσεκτικά

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ	ΕΚΔΟΧΗ	ΣΥΝΟΨΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ
09/08/2021	Vs04	Αφαίρεση της προειδοποίησης ασφάλειας R5 - P45-47 περισσότερο ασαφής ζώνη. Διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου επικοινωνίας – Παραδείγματα φωτογραφιών – NaN3 EUH 032.
30/11/2022	Vs05	Νέα διεύθυνση
05/07/2023	Vs06	R6 χωρίς NaN3. Strip που προσδιορίζεται με γράμμα. Πιθανή χρήση αντιδραστηρίων από διαφορετικές παρτίδες.



NF EN ISO 13485

24 Av. Joannes MASSET – 69009 LYON – FRANCE
Tel : +33(0)4 7883 3487 – Fax : +33(0)4 7883 3430
www.ldbiodiagnostics.com – info@ldbiodiag.com