532 Seventeen Mile Rocks Rd, Sinnamon Park, QLD 4073 Australia
T: +61 (0) 7 3363 7100 F: +61 (0) 7 3363 7199
E: panbio@panbio.com www.panbio.com

勿在美国内出售或分销

DENGUE IgG CAPTURE ELISA
用于检测二次登革热感染

产品目录号 E-DEN02G

预期用途

Panbio Dengue IgG Capture ELISA 用于定量推定检测登革热二次感染的患者体内登革热病毒（血清型 1-4）升高的 IgG 抗体。本检验可作为辅助手段，供临床实验室诊断出现与登革热病毒感染表现一致的临床症状的患者，并且应与 Panbio Dengue IgM Capture ELISA 和 Dengue Early ELISA 结合使用，后者也可用于检测初次登革热病毒感染。Panbio Dengue IgG Capture ELISA 能早在病情出现后 3 日便检测到预示着登革热二次感染的 IgG 水平升高。但是，准确二次感染诊断的最佳检测窗口，是在病情出现后的 6-15 日才能做出。阳性结果只是推定性的，还须通过病毒分离、配对血清分析、免疫组织化学法抗原检测或病毒核酸检测，对登革热病毒感染予以证实。

简介

登革热病毒是一种黄病毒，存在于热带和亚热带的广大地区。全世界超过一半的人群生活在有登革热传播危险的地区，因而就发病率和死亡率而言，登革热是人类最重要的虫媒病毒疾病 [1]。目前有四种不同的但与抗原相关的登革热病毒血清型，传播媒介为雌性蚊子，主要是埃及伊蚊 *(Aedes aegypti)*、白纹伊蚊 *(Aedes albopictus)* 和波里尼西亚伊蚊 *(Aedes polynesienses)*。

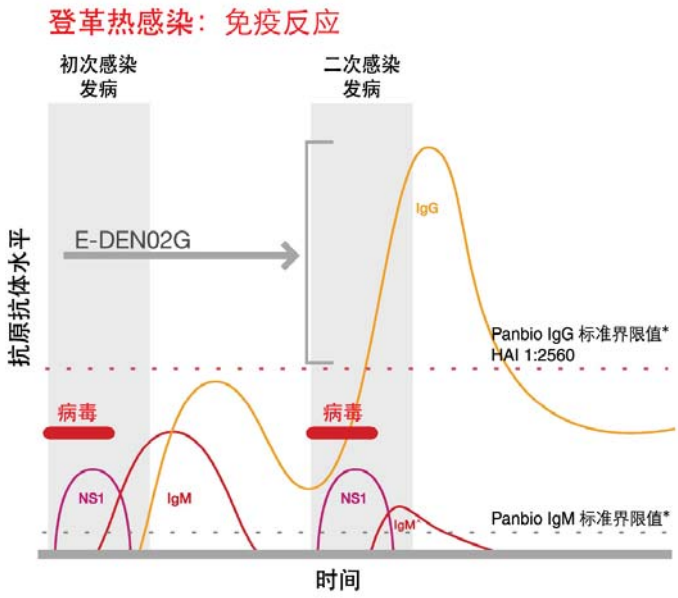
登革热病毒感染的临床表现是多种多样的，从亚临床表现到致命。根据严重程度，本病可分级如下：非特异性发热疾病、典型登革热、登革出血热 (DHF)（I 级和 II 级）和登革热休克综合征 (DSS)（III 级和 IV 级）[1]。典型登革热的特征为出现急性发热，并伴有下述两种或更多症状：头痛、眶后疼痛、肌痛、关节痛、皮疹、出血性表现或白细胞减少 [2]。常见双相热，也常见失眠和食欲缺乏，伴有味觉丧失或口苦。第二个血清型感染常伴有的可能致命的并发症包括 DHF 和 DSS[3]。

登革热地方流行国家/地区的大多数成人患者有二次登革热感染 [4]。用 ELISA 检测登革热病毒特异性 IgG 抗体水平升高有很大的诊断价值，这样能够鉴别并发症出现率高 [5,6] 的登革热二次感染。常规使用血凝抑制 (HAI) 滴度划分初次感染与二次感染。当前的定义依赖于对时间上相隔至少 7 日的配对血清标本的分析，HAI 滴度

> 1:1280 的任何急性期标本即被定义为黄病毒二次感染患者标本 [7]。

对于登革热二次感染的血清学诊断，Panbio Dengue IgG Capture ELISA 是 HAI 分析的一种替代方法。

如下图所示，登革热病毒二次感染以高 IgG 水平为特征，可能伴有 IgM 水平升高 [8]。Panbio Dengue IgG Capture ELISA 用于检测高于此临界值的登革热感染特异性 IgG 抗体水平升高。但本分析法并不能检测出有既往接触史的人体内的低 IgG 抗体水平，此种现象普遍出现在来自登革热流行地区的人群身上。因此，高 IgG 水平（> 22 Panbio 单位）是登革热病毒二次感染的特征。



Panbio Dengue Duo Cassette 和 IgG Capture ELISA 标准界限值。大约等于 HAI 滴度 1:2560。
* Panbio Dengue Duo Cassette 和 IgM ELISA 标准界限值。
^ 二次感染时可能无法检测到 IgM 水平。

原理

当血清 IgG 抗体存在时，它将与抗人 IgG 抗体相结合，其中抗体被包被到微量孔检验板条（分析板）的聚苯乙烯表面。用抗原稀释液，将登革热 1-4 重组抗原浓缩混合物稀释到正确的工作体积。使用昆虫细胞表达系统产生抗原，并用特异性单克隆抗体免疫纯化抗原。将等体积的辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的单克隆抗体 (MAb) 添加到稀释抗原，随即形成抗原-单克隆抗体复合物。通过洗涤从分析板除去残留的血清，并将抗原-单克隆抗体复合物添加到分析板。然后这些抗原-单克隆抗体复合物与血清登革热特异的 IgG 抗体相结合。在温育后，洗涤微量孔并添加无色的底物系统 — 四甲基联苯胺/过氧化氢 (TMB 色原)。底物由 HRP 分解（如果存在），色原将变成蓝色。在用酸终止反应后，TMB 变成黄色。显色表明检验样品内存在抗登革热 IgG 抗体。

提供的材料

1. *抗人 IgG 包被的微量孔* -**（分析板）**（12 x 8 个孔）。即用型。未使用的微量孔应当立即重新密封并妥善贮存（放入干燥剂）。 失效日之前，在 2-8ºC 下可保持稳定。
2. *登革热 1-4 抗原（重组体）* - 一个有透明帽的小管，150 µL **（红色）**浓缩登革热病毒抗原 1、2、3 和 4。未使用的稀释抗原必须丢弃。失效日之前，浓缩抗原在 2-8ºC 下可保持稳定。
3. *洗涤缓冲液（20 倍）* – 1 瓶，20 倍浓缩度的 60ml 磷酸盐缓冲盐水 (pH 7.2-7.6)，含有 Tween 20 及防腐剂 (0.1% Proclin™)。低温下可能结晶。为确保准确性，请将洗涤缓冲液在 37ºC 下温育至清澈。充分混合。将一份洗涤缓冲液浓缩物用 19 份蒸馏水稀释。稀释的缓冲液可以在 2-25ºC 下贮存 1 星期。
4. *样本稀释液* – 2 瓶，50 ml **（粉红色）**。即用型。Tris 缓冲盐水 (pH 7.2-7.6)，含有防腐剂 (0.1% Proclin™) 及添加物。 失效日之前，在 2-8ºC 下可保持稳定。

5. *抗原稀释液* – 1 瓶，50 ml（**透明**）。即用型。含防腐剂（0.1% Proclin™ 和 0.005% 庆大霉素）的磷酸盐缓冲液。失效日之前，在 2-8ºC 下可保持稳定。
6. *HRP 标记的单克隆抗体示踪剂* – 1 瓶，7 mL（**绿色**）。即用型。辣根过氧化物酶标记的单克隆抗体示踪剂，含有防腐剂 (0.1% Proclin™) 及蛋白质稳定剂。 失效日之前，在 2-8ºC 下可保持稳定。
7. *TMB 色原（TMB）*– 1 瓶，15 mL。即用型。3,3',5,5'-四甲基联苯胺与过氧化氢的混合物的柠檬酸 - 柠檬酸盐缓冲液 (pH 3.5-3.8)。 失效日之前，在 2-8ºC 下可保持稳定。
8. *反应对照品* - 带**红色**管帽的一只小管，200 µL 人血清（含有 0.1% 叠氮钠和 0.005% 硫酸庆大霉素）。 失效日之前，在 2-8ºC 下可保持稳定。
9. *校准品* - 带**黄色**管帽的一只小管，400 µL 人血清（含有 0.1% 叠氮化钠和 0.005% 硫酸庆大霉素）。 失效日之前，在 2-8ºC 下可保持稳定。
10. *阴性对照品* - 带**绿色**管帽的一只小管，200 µL 人血清（含有 0.1% 叠氮钠和 0.005% 硫酸庆大霉素）。 失效日之前，在 2-8ºC 下可保持稳定。
11. *终止溶液* –带**红色**管帽的一只小管，15 mL。即用型。1M 磷酸。 失效日之前，在 2-25ºC 下可保持稳定。

Proclin™ 300 是 Rohm and Haas Company 公司的注册商标。

Xn - Harmful **(Xn – 有害) 对照品和校准品的安全保护措施：**

这些成分中的叠氮钠浓度是有害的，适用于风险术语 R22、R32：“吞食有害”和“遇酸产生极毒气体”。

所需其它材料（并未提供）

(1) 精密可调节的微量加样器，具有可弃置的吸头（容量 5-1000 µL）
(2) 去离子水
(3) 微量板洗涤系统
(4) 具有 450 nm 滤光片的微量板读数仪
(5) 计时器
(6) 刻度量筒
(7) 烧杯
(8) 用于血清稀释的试管或微量滴定板

注意事项

用于*体外*诊断

(i) 制备对照品所用的全部人源材料已接受人类免疫缺陷病毒 1 和 2 (HIV 1 和 2) 抗体、丙型肝炎病毒 (HCV) 抗体以及乙型肝炎表面抗原检验，发现均为阴性。然而，目前尚无检验方法能够完全确保其安全性，故应将所用人对照孔和抗原作为潜在的感染性材料处理。美国 Centers for Disease Control and Prevention（疾病控制和预防中心）和 National Institutes of Health（国立卫生研究院）推荐在 2 级生物安全水平下处理潜在传染物 [9]。
(ii) 该检验应当仅在血清上开展。尚未建立对全血、血浆或其它标本基质的用法。
(iii) 不应使用黄疸性血清或脂血血清，或显示溶血、微生物生长的血清。
(iv) 勿对血清进行热灭活。
(v) 开始分析前，请确保全部试剂均已平衡至室温 (20-25°C)。本分析会受到温度变化影响。 在微量孔达到室温 (20-25ºC) 之前，勿从密封袋内取出它们。
(vi) 使用干净吸头直接从瓶内分配液体。转移试剂可能导致污染。
(vii) 未使用的微量孔应当立即重新密封并妥善贮存（放入干燥剂）。否则可能得出错误的结果。
(viii) 底物系统：
  (a) TMB 对来自金属离子的污染敏感，因此勿使底物系统接触金属表面。
  (b) 避免长时间暴露于直射光线。
  (c) 某些去垢剂可能干扰 TMB 的性能。
  (d) TMB 可能呈淡蓝色。这不会影响底物的活性或分析的结果。

(ix) 某些试剂盒成分含有叠氮化钠，而叠氮化钠可与铅质或铜质管道起反应，形成高度爆炸性的金属氮化物。当通过管道系统处置这些试剂时，要用大量水冲洗以防止下水道内积聚氮化物。
(x) 叠氮化钠抑制缀合物活性。添加缀合物时必须使用清洁吸头，以免从其它试剂中带入叠氮化钠。

相关的详细安全信息，可参考 PANBIO 提供的物质安全数据表 (MSDS)。

标本采集和制备

通过静脉穿刺得到的血液可在室温 (20-25ºC) 下凝结，然后根据美国临床和实验室标准协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) ［Approved Standard - Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture（获批标准 - 通过静脉穿刺收集诊断性血液标本的方法），H3-A5，2003］离心。

血清应尽快分离，若在两日内不检验，则应在 2-8ºC 下冷藏或在 -20ºC 或更低温度下冷冻贮存。建议不要使用自除霜式冰箱贮存。建议不使用黄疸性血清或表现溶血、脂血或微生物生长的血清。贮存血液标本请依据 CLSI 提供的建议［Approved Standard - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens（获批标准 - 操作和加工血液标本的方法），H18-A3，2004］。

检验流程

注： 开始分析前，请确保全部试剂均已平衡至室温 (20-25°C)。
在规定的时间范围和温度范围外开展本分析可能产生无效结果。不符合已建立的时间和温度范围要求的分析必须重新进行。

血清预稀释

(i) 从箔袋中取出所需数量的微量孔，并插入板条夹持器内。阴性对照品 (N)、反应对照品 (R) 和校准品 (CAL)（一式三份）需要 5 个微量孔。确保将剩余未用微量孔密封在箔袋内。
(ii) 使用适当的试管或微量滴定板，稀释阴性对照品、反应对照品、校准品和患者样本：
  (a) 向 10 µL 血清添加 1000 µL 样本稀释液。充分混合。
  或者
  (b) 向 10 µL 血清添加 90 µL 样本稀释液。取 20 µL 已稀释血清，添加 180 µL 样本稀释液。
  充分混合。

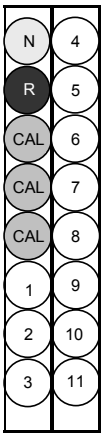
ELISA 操作

有关方法摘要，参见附图。

(a) 抗原

(i) 确定分析所需的孔数。使用抗原稀释液以 1/250 的比例稀释抗原。建议至少将 10 µL 抗原稀释到 2.5 mL 抗原稀释液中。这足够用于五个板条（40 个孔）。每个板条需要 0.5 mL 的稀释抗原。在将抗原添加到抗原稀释液后，溶液变成淡红色。确保仍将剩余的未使用浓缩抗原保存在 2-8ºC 下。
(ii) 除去所需量的稀释抗原，并在干净的玻璃或塑料小管内与等量的单克隆抗体示踪剂混合。轻轻混合抗原-单克隆抗体示踪剂，放在室温 (20-25ºC) 下待用（需要 60 分钟的温育时间）。丢弃未使用的稀释抗原。

(b) 分析板



(i) 在将单克隆抗体示踪剂和稀释抗原混合之后 10 分钟内，吸取 100 µL 稀释患者样本和对照品到各微孔内。

(ii) 盖好平板并在 37°C ±1°C 下温育 60 分钟。

(iii) 用稀释的洗涤缓冲液洗涤六 (6) 次（参见下文的洗涤步骤）。

(iv) 在转移之前，将抗原-单克隆抗体示踪剂溶液混合。从抗原小管内吸取 100 µL 抗原-单克隆抗体复合物到分析板的相应孔内。

(v) 盖好平板并在 37°C ± 1°C 下温育 60 分钟。

(vi) 用稀释的洗涤缓冲液洗涤六 (6) 次（参见下文的洗涤步骤）。

(vii) 将 100 µLTMB 吸取至各孔。

(viii) 在室温 (20-25ºC) 下温育 10 分钟，从第一次添加 TMB 开始计时。将显现蓝色。

(ix) 将 100 µL 终止溶液按照添加 TMB 时的顺序移至全部孔并计时。充分混合。蓝色将变成黄色。

(x) 在 30 分钟内，用 600-650nm 参考滤光片在 450nm 处读取各孔的吸光度。

注： 若可使用双波长分光光度计，请将参考滤光片设定在 600-650nm 之间。在无参考滤光片的情况下在 450nm 上对微量孔读数，可能会因背景而产生较高的吸光度值。

洗涤步骤

有效除去未复合的样本或成分是 ELISA 操作的关键要求。

A. 自动洗板机

(1) 彻底抽空全部孔。
(2) 在洗涤循环期间将全部孔注满至与孔缘齐平 (350 µL)。
(3) 在完成六 (6) 次洗涤后，倒转平板并用力在吸水纸巾上拍打以确保除去全部洗涤缓冲液。
(4) 请养护好自动洗板机以确保洗涤效果。任何时候均应遵守制造商的清洁要求。

B. 手工洗涤

(1) 将平板的内容物弃置于适当的废物容器内。
(2) 使用合适的洗瓶，用洗涤缓冲液注满各孔。避免使洗涤缓冲液起泡，因为这可能降低洗涤效率。立即从孔内弃去洗涤缓冲液。
(3) 用洗涤缓冲液再次注满各孔并立即倒掉。
(4) 重复执行第 (3) 步 4 次。即用洗涤缓冲液总共进行六 (6) 次洗涤。
(5) 在最后一次洗涤后，弃去孔内容物并将平板在吸水纸巾上拍打以确保除去全部洗涤缓冲液。

质量控制

每个试剂盒均含有校准品、反应对照品和阴性对照品。这些血清的可接受值可参见随后的规格页。阴性对照品和反应对照品旨在监测严重的试剂失效。反应对照不确保分析界限值的精确性。若阴性或阳性对照品或校准品的吸光度读数不符合规格说明，则检验无效，必须进行重复检验。若检验无效，则不能报告患者结果。

必须按照当地、州或联邦规定或授权要求以及您实验室的标准 QC 措施执行质量控制 (QC)。

建议用户参考 CLSI C24-A 和 42 CFR 493.1256，以获得正确的 QC 规范指导

计算

重要说明：校准系数是特定于生产批次的，在规格页有详细说明。在开始计算之前，需获得校准系数值。

(1) 计算三次重复校准的平均吸光度，并乘以校准系数。由此产生界限值。

(2) 样本吸光度除以步骤 (1) 所得的界限值，计算出指标值。

或者，

(3) 用步骤 (2) 所得的指标值乘以 10，计算出 Panbio 单位。

指标值 = $\frac{\text{样本吸光度}}{\text{界限值}}$

例如： 样本 A 吸光度 = 0.949
样本 B 吸光度 = 0.070

校准品的平均吸光度 = 0.802
校准系数 = 0.62
界限值 = 0.802 x 0.62 = 0.497

样本 A (0.949/0.497) = 1.91 指标值
样本 B (0.070/0.497) = 0.14 指标值

Panbio 单位 = 指标值 X 10

样本 A 1.91 X 10 = 19.1 Panbio 单位
样本 B 0.14 X 10 = 1.4 Panbio 单位

结果的解释

Panbio Dengue IgG Capture ELISA 推定性测定患者血清中登革热 IgG 抗体的水平升高。阳性结果（> 22 Panbio 单位）是现行性二次感染的特征。如果怀疑为初次登革热感染，则应结合使用 Panbio Dengue IgM Capture (E-DEN01M) ELISA 检测。

指标值	PANBIO 单位	结果
<1.8	<18	阴性
1.8 – 2.2	18 – 22	不确定
>2.2	>22	阳性

结果	解释
阴性	没有检测到 IgG 抗体水平升高。检测不到 IgG 抗体水平升高是证实患者未患登革热二次感染的推定性证据。应该用 Panbio Dengue IgM Capture ELISA (E-DEN01M) 检测 Panbio 单位 <18 的样本，以检测初次登革热病毒感染。此外，还应使用其它登革热检测方法来排除急性感染（如病毒培养、PCR、NS1 抗原检测）。 有关确诊登革热感染的信息，请参考美国 CDC 1997 年出版的 MMWR Recommendations and Reports（MMWR 建议和报告）第 45-46 页的 *46 RR-10*。
不确定	应当对不确定样本进行两次重复检测。如两次检测均发现结果皆大于或小于界限值，那么标本可分别报告为阳性或阴性。如一次检测结果大于界限值而另一次小于界限值，或重复检测后结果仍然不确定，那么应报告为检测不到登革热病毒 IgG 抗体水平升高，须用其他检测方法再次测试。或者，应再次采集样本。
阳性	检测到 IgG 抗体水平升高可推定性认为患者近来有接触史或正患有登革热二次感染。结果必须符合 CDC 目前公布的登革热诊断指导条例。 有关确诊登革热感染的信息，请参考美国 CDC 1997 年出版的 MMWR Recommendations and Reports（MMWR 建议和报告）第 45-46 页的 *46 RR-10*。

报告所得结果的建议方式："下列结果采用 Panbio Dengue IgG Capture ELISA 得出。用不同方法得到的值不可交换使用。所测量结果的幅度若高于界限值，它并不代表抗体的总量。"结果应当报告为阳性、阴性或不确定，而不是数值。报告的结果应当包含适当的解释。

检验局限性

1. 临床诊断必须依据患者的临床病征和症状加以解释。来自本试剂盒的结果本身并不是诊断性的，应当连同其它临床资料和患者症状进行考虑。
2. 不必对普通人群开展筛查。阳性预测值取决于病毒存在的可能性。检验应仅对具有临床症状的患者或怀疑发生病毒感染时才开展。
3. 本分析目前尚未对可视结果的判定建立性能特征。
4. 必须谨慎解释来自免疫抑制患者的结果。
5. 常见黄病毒组范围内的血清学交叉反应（即在圣路易斯脑炎病毒、墨累山谷脑炎病毒、日本脑炎病毒、西尼罗河病毒和黄热病病毒之间）。在确诊之前，必须排除这些疾病。
6. 一般初次反应者主要表现为单一型的抗体反应。然而，在连续感染期间，抗体反应可扩大到对同一或不同抗原组中其它黄病毒产生异型反应[3]。
7. 通过 Panbio Dengue IgG Capture ELISA 检验法显示阳性结果的全部血清应提交至参考实验室，以证实结果及流行病学记录。
8. 对于感染登革热病毒的患者，本检测结果可能为阴性。在感染初始期采集的样本可能无法测到抗体。 怀疑急性感染的患者，应使用 Panbio Early ELISA 或其它可检测急性感染的方法进行检测。
9. 对于初次感染的登革热患者，其康复期样本中测得的 IgG 抗体水平可能超过本检测的临界值。 对于鉴别诊断初次感染和二次感染，推荐在 6-15 天内进行样本检测。

期望值

登革热病毒二次感染以病情出现后 3 天内早期检测到 IgG 水平升高为特征，可能伴有 IgM 水平升高[5,8]。本检测方法的准确度取决于感染后样品采集的时机。 虽然本检测方法可在感染后 3 天内早期检测样品，然而要取得本方法的最佳性能，须在病情出现后 6-15 天内采集样品检测。

在一些二次感染中，检测到的 IgG 抗体水平可能很低。如症状持续，我们建议患者在首次采集样本后 4-7 日再次接受检查。

性能特征

研究地点 1

在澳大利亚的布里斯班，Panbio 公司用 Panbio Dengue IgG Capture ELISA 共检测了 316 份回顾性血清。血清组包括来自地方流行人群的健康者捐赠的 161 份样本，来自非流行人群的 66 份样本，已被 HAI 确定为初次登革热感染阳性的 35 份样本，以及已被 HAI 确定为二次登革热感染阳性的 54 份样本。 结果用于确定分析的血清学敏感度、特异性和符合性。数据汇总于表 1。

表 1 – 研究地点 1
Panbio ELISA 的血清学敏感度和特异性与登革热疾病状态
Panbio Dengue IgG Capture ELISA

登革热状态	阳性	不确定*	阴性	总计
地方流行性	5	4	152	161
非地方流行性	0	0	66	66
初次感染	3	0	32	35
二次感染[a]	52	1	1	54
总计	**60**	**5**	**251**	**316**

*因为不能获得样本，没有实施对不确定性样品的再检验。

			95% CI[#]
血清学敏感度（二次感染）[b]	= 52/54	= 96.3%	73.8 – 93.6%
血清学特异性（初次感染）[b]	= 32/35	= 91.4%	76.9 – 98.2%
血清学特异性（地方流行性）	= 152/161	= 94.4%	88.4 – 100.0%
血清学特异性（非地方流行性）	= 66/66	= 100.0%	88.4 – 100.0%
血清学符合度[b]	= 302/316	= 95.6%	92.7 – 97.6%

[a] *HAI 证实登革热二次感染阳性的样本（滴度 ≥1280）。*

[b] *由于没有对不确定样本进行重新检验，不包括不确定样本（参见上面的 *）。*

[#]置信区间

研究地点 2

马来西亚的一所大学使用 Panbio Dengue IgG Capture ELISA 检测了已通过结合使用血凝抑制 (HAI)、IgM ELISA、NS1 ELISA 和 PCR 方法鉴定登革热的 404 份血清。 血清组包括来自地方流行人群的 125 份血清阴性样本、已经被确定为有登革热初次感染的 101 份样本（主要基于成对样品分析）以及已经被确定为有登革热二次感染的 178 份样本（基于成对样品分析）。 这些样品测试表现出病情出现后 2-15 天内的情况。结果用于确定分析的血清学敏感度、特异性和符合性。 数据汇总于表 2。

表 2 – 研究地点 2
Panbio ELISA 的血清学敏感度和特异性与登革热疾病状态
Panbio Dengue IgG Capture ELISA

登革热状态	阳性	不确定*	阴性	总计
地方流行区阴性样本	0	0	125	125
初次感染	10[a]	3	88	101
二次感染	144	3	31[b]	178
总计	**154**	**6**	**244**	**404**

*因为不能获得样本，没有实施对不确定性样品的再检验。

			95% CI[#]
血清学敏感度（二次感染）	= 144/178	= 80.9%	75.1 – 86.7%
血清学特异性（初次感染）	= 88/101	= 87.1%	80.6 – 93.7%
血清学特异性（地方流行区阴性样本）	= 125/125	= 100.0%	97.1– 100.0%
血清学符合度	= 357/404	= 88.4%	85.2 – 91.5%

[a] 因在 7 日内分别采集成对样品，且随后的样品的 *HAI 滴度为 1：640，10 份样品中的 7 份*未确定登革热初次感染。

[b] *31 份样品中的 27 份在病情出现后的 2-5 日内采集。 二次感染检测的准确度在病情出现后 6-15 日是最理想的，是本检测方法的推荐检测窗。 在 6-15 日窗口内，二次感染敏感度为 95.4%。*

*因为不能获得样本，没有实施对不确定性样品的再检验。

[#]置信区间

可重复性

Panbio Dengue IgG Capture ELISA 的可重复性通过 3 次检验 8 份血清而确定，一个操作者分别于 3 个不同日期在 3 个批号的 Panbio 试剂盒上进行。批内精确度、日间精确度、批间精确度和总精确度通过分析变异性 (II 型 ANOVA) 确定，列于表 3 中。

表 3
Panbio Dengue IgG Capture ELISA
精确度测量值（使用指标值*）

			批内		日间		批间		总计	
样本	**n**	***平均值**	***SD**	**CV**	***SD**	**CV**	***SD**	**CV**	***SD**	**CV**
#1	27	3.53	0.19	5.4%	0.29	8.2%	0.30	8.5%	0.40	11.2%
#2	27	2.45	0.11	4.4%	0.05	2.1%	0.04	1.6%	0.12	4.9%
#3	27	2.60	0.11	4.4%	0.14	5.4%	0.20	7.7%	0.23	8.9%
#4	27	1.53	0.09	6.1%	0.04	2.6%	0.04	2.8%	0.11	6.96%
#5	27	1.76	0.10	5.6%	0.08	4.4%	0.14	8.0%	0.17	9.4%
#6	27	1.35	0.07	5.2%	0.00	0.0%	0.07	5.1%	0.09	6.6%
#7	27	0.80	0.03	4.2%	0.00	0.0%	0.06	7.3%	0.06	7.3%
#8	27	0.74	0.04	5.4%	0.03	4.3%	0.05	7.4%	0.07	9.0%

全部值均根据指标值（使用 OD 的界限值）计算
SD = 标准差；CV = 变异系数

注：出于制表目的，已经将标准差结果四舍五入至小数点后两位。

*指标值通过样本吸光度除以界限值得出。

交叉反应性

对来自证实患有非登革热疾病患者的 65 份标本组进行了检验，以建立 Panbio Dengue IgG Capture ELISA 的分析特异性。标本来自患有可能具备交叉反应性的疾病的患者。本研究中包含的每份标本在以 Panbio Dengue IgG Capture ELISA 法分析前，已就疾病诊断方面得到表征。具体请参考表 4 的结果汇总。

表 4
Panbio Dengue IgG Capture ELISA –
交叉反应性分析

疾病类型	**标本总数**	**阳性结果**
西尼罗河病毒	10	0/10
疟疾	10	0/10
羌虫病	7	0/7
螺旋体	12	2/12
甲型肝炎病毒	6	0/6
类风湿因子	10	0/10
抗核抗体	10	0/10
总计	**65**	**2/65**

参考文献

1. Mairuhu, A. T. A., Wagenaar, J., Brandjes, D. P. M. and van Gorp, E. C. M. (2004). Dengue: an arthropod-borne disease of global importance. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **23:**425-33.
2. Kuhn, R. J., Zhang, W., Rossmann, M. G., Pletnev, S. V., Corver, J., Lenches, E., Jones, C.T., Mukhopadhyay, S., Chipman, P. R., Strauss, E. G., Baker, T. S. and Strauss, J. H. (2002). Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell*. **108:**717-725.
3. Innis, B. L., Nisalak, A., Nimmannitya, S., Kusalerdchariya, S., Chongswasdi, V., Suntayakorn, S., Puttisri, P. and Hoke, C. H. (1989). An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. *Am J Trop Med Hyg*. **40:**418-427.
4. Sutherst R. W. (1993). Arthropods as Disease Vectors in a Changing Environment *in* Environmental Change and Human Health. (Ciba Foundation Symposia 175): John Wiley and Sons Ltd, United Kingdom.
5. Hawkes, R. A., Boughton, C. R., Naim, H. M., Wild, J. and Chapman, B. (1985). Arbovirus infections of humans in New South Wales. Seroepidemiology of the flavivirus group of togaviruses. *Med J Aust*, **143:**555-561.
6. Chen W., Hwang K. and Fang A. (1991). Detection of IgM antibodies from cerebrospinal fluid and sera of dengue fever patients. *Southeast Asian J of Trop Med Public Health*. **22:**659 - 663.
7. James, P. (1992). Use and Interpretation of Tests in Medical Microbiology. Specialty Laboratories Inc, USA.
8. World Health Organisation. (1997). Dengue Haemorrhagic Fever: diagnosis, treatment, prevention and control, p34-36. 2nd edition. World Health Organisation Offie of Publications Geneva, Switzerland.
9. U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. (1999). p. 8-16. *In* (ed.) Richmond JY, McKinney RW, Guidelines: Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 4th Edition. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

根据美国专利号 6,165,477 和 6,136,561 及国外等效专利授权 Panbio Limited 将产品用于 IVD 分析中。本产品在 Hawaii Biotechnology Group, Inc 许可协议下销售。

EC REP

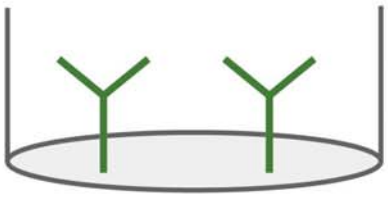
授权代表：
MediMark Europe
11, rue Éile Zola – BP 2332
38033 Grenoble Cedex 2 – France
电话：+33(0)476 864 322
传真： +33(0)476 171 982

CE

DENGUE IgG CAPTURE ELISA
E-DEN02G

抗原小管
稳定登革热抗原

分析板
抗人 IgG 抗体



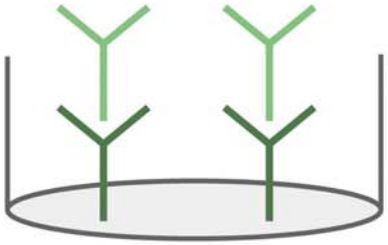
1. 将 10 µL 抗原添加到 2.5 mL 抗原稀释液中并混合。未使用的浓缩抗原应当在 2-8°C 下储藏。

2. 除去所需量的稀释抗原，并在单独的玻璃小管或试管内与等量的单克隆抗体示踪剂混合。丢弃未使用的稀释抗原。

3. 将 100 µL 稀释样本和对照品添加到分析板。

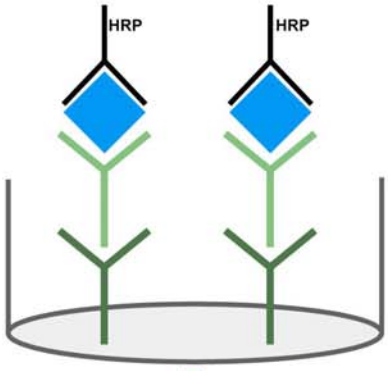
4a. 在 20-25°C 下温育 1 小时。

4b. 盖好平板并在 37°C ± 1°C 下温育 1 小时。



5. 洗涤分析板六次 （x 6）。在轻轻振荡并混合抗原-单克隆抗体溶液之后，将 100 µL/孔转移到分析板内。

6. 盖好平板并在 37°C ± 1°C 下温育 1 小时。



7. 洗涤分析板六次。在最终洗涤之后，添加 100 µL TMB/孔，并在 20-25°C 下温育 10 分钟。用 100 µL 终止溶液终止反应，然后在 450nm（参考 600 - 650nm）下读取。