

**Magyar**  
**Katalógusszám: V619IM**  
**Készlet formátum: 12 x 8**  
**Dokumentum kód: PEMIV-466-02 11/09**



# **Biotrin**

**Parvovirus-B19**  
**IgM Enzim immun mérőmódszer**

A Parvovirus-B19 IgM antitestek humán szérumban és plazmában való kvalitatív detektálására szolgáló enzim immun mérőmódszer.

**CE**

## Tartalomjegyzék

Felhasználási terület	3
Bevezető	3
A mérés alapelve	4
Óvintézkedések	4
Biztonság	4
Eljárás	5
Kit komponensek	6
Biztosított anyagok	6
További szükséges anyagok	7
Automata vagy félautomata EIA Processzorok	8
Tárolás és stabilitás	8
Mintagyűjtés és -tárolás	8
A reagens és a minta előkészítése	9
A mérés menete	10
Az eredmények értelmezése	12
Minőség-ellenőrzési feltételek	13
A használat korlátozásai	13
Teljesítményjellemzők	14
A Parvovírus IgM eljárás összefoglalása	18
Jelmagyarázat	19
Irodalomjegyzék	20

## Felhasználási terület

A Parvovírus-B19 IgM Enzim immun mérő módszer a Parvovírus-B19 elleni IgM antitestek humán szérumban és plazmában történő kvalitatív kimutatására szolgál. A vizsgálat egy korábbi vagy jelenleg zajló fertőzés jelenlétének meghatározása céljából minden olyan nőnél elvégezhető, akinél felmerül a Parvovírus-B19-cel való érintkezés gyanúja. A Biotrin Parvovírus-B19 IgG Enzim immun mérő módszerrel együtt ez a vizsgálat a foetális hydrops vagy a foetális halálozás kockázatának megállapításához komponensként használható.

## Bevezető

A Parvovírus-B19-et először 1975-ben azonosították mint humán patogént és utólag egy sor klinikai kórkép kórokozójaként nevezték meg, úgymint a csalánkiütés, ízületi fájdalom és a foetális károsodás.<sup>1,2,3</sup> A Parvovírus-B19-fertőzés felnőttekben, különösen nőkben akut arthritist okozhat, amely egy bizonyos ideig perzisztálhat.<sup>4</sup>

A fertőzés életet veszélyeztető anaemiához vezethet immunszupprimált betegeknél és olyan hemolitikus betegségben szenvedőknél, mint a sarlósejtes vérszegénység.<sup>5,6</sup> A vírus 18 – 25 nm átmérőjű, ikozahedrális, burok nélküli, és egy lineáris, egyszálú DNS genomot (5,5 kb) tartalmaz, mely egy külső kapszidba van csomagolva.<sup>7,8</sup> A virális kapszid két strukturális proteinnél áll, amelyek név szerint a VP1 (83 kDA) és a VP2 (53 kDA). A Parvovírus-B19-fertőzés rendszerint légúti váladékkal történő direkt kontaktus útján terjed és helyi járványok formájában fordul elő a téli és tavaszi hónapokban.<sup>8</sup>

A mai álláspont szerint a szeronegatív nők fogékonyak a Parvovírus-B19-fertőzésre.<sup>9,10</sup> Az olyan terhességek többségénél, amelyek során Parvovírus-B19-fertőzés zajlik le, időre jön világra egészséges magzat.<sup>10,11,12</sup> Mindemellett a terhesség alatti fertőzés magában hordozza a magzatra való átvitel kockázatát, amely foetális hydrops-hoz vagy intrauterin halálhoz vezethet. A szakirodalmi becslések az anyai fertőzést követő foetális halálozás mértékét 1 és 11% közé teszik.<sup>10,13,14,17</sup> Feltételezések szerint, mivel a Parvovírus-B19 főként a vörösvérsejt előalakokban replikálódik, a terhesség során jelentkező fertőzés a súlyos foetális anaemia miatt vezet foetális halálozáshoz. Azt gondolják, hogy a foetális hydrops fő oka ez a súlyos anaemia, amely során a hemoglobinszint 2 g/dl alá csökken.<sup>15,16</sup> Egy újabb tanulmány feltételezi, hogy a foetális halálozás veszélye nagy arányban a terhesség első 20 hetében történő anyai B19 fertőzésnek tulajdonítható.<sup>17</sup> Egy friss szakirodalom évente körülbelül 3000, a B19-fertőzés következtében bekövetkező foetális halálozással számol.<sup>18</sup>

A Parvovírus-B19-fertőzéshez köthető tünetek csak a virémiás (fertőző) fázis lezajlása után jelennek meg.<sup>10</sup>

Továbbá ismeretes, hogy az átvitel kockázata olyan helyzetekben magasabb, ahol az egyének között szoros kontaktus alakulhat ki; ilyenek az iskolák, az óvodák és a kórházak. A Járványvédelmi Központ (CDC) nem javasolja, hogy azon személyeket elkülönítsék ezen közösségekből, akik a Parvovírus-fertőzés jeleit magukon hordozzák (úgymint az erythema infectiosum). Ajánlatos azonban, hogy az összes érintett egyén tisztában legyen a betegség terjedésének lehetőségével.<sup>10</sup>

Következésképpen fontos tisztázni a Parvovírus-B19-antitest státuszát azoknál, akiknél fennáll a Parvovírus-B19-fertőzés veszélye, illetve azoknál, akik már megfertőződtek.

## A mérés alapelve

A Biotrin Parvovírus-B19 IgM (Enzim immun mérő módszer) egy, a Parvovírus-B19 elleni IgM osztályú antitestek humán szérumban és plazmában való mérésére szolgáló mu-capture szendvics enzim immun mérő módszer. A specifikus IgM, amennyiben a szérumban vagy a plazmában jelen van, kötődni fog a nyúl anti-humán IgM-hez, amellyel a lyukak be vannak vonva. Mosást követően biotinilált Parvovírus-B19 rekombináns VP2 proteint adunk hozzá, amely kötődik bármilyen jelen lévő humán anti-Parvovírus-B19 IgM-hez. Egy következő mosási lépés után streptavidin-peroxidázt adunk hozzá, amely a jelen lévő biotinilált VP2-höz kötődik. Az egész komplexet ezután tetrametilbenzidin-szubsztrát (TMB) hozzáadásával mutatjuk ki, amely kék színűvé változik peroxidáz jelenlétében. Egy leállító reagens hozzáadásával stabil, sárga színű végterméket nyerünk.

## Óvintézkedések

### Biztonság

- Kizárólag *in vitro* diagnosztikus használatra.
- A \*\*-gal jelölt reagensek POTENCIÁLISAN VESZÉLYES BIOLÓGIAI ANYAGNAK tekintendők. Minden donoregységet, amelyet a pozitív kontroll, a negatív kontroll és a kalibrátor (küszöbkontroll) előkészítése során igénybe vettek, ellenőriztek egy FDA által jóváhagyott módszerrel HBsAg-re, valamint a HIV és HCV elleni antitestekre, és negatívnak találták azokat. Azonban mivel nincs olyan tesztelési eljárás, amely teljes biztonsággal kizárja a fertőző ágensek jelenlétét, így ezen reagensek és a betegektől származó minták mindegyikét a 2. szintű Biológiai Biztonsági előírás szerint kell kezelni, ahogy az ajánlott bármilyen potenciálisan fertőző humán szérum vagy vérminta esetében a CDC/NIH kézikönyv szerint „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories”, 1988.
- Néhány reagens ProClin 950-et, ProClin 300-at és Bronidox L-t tartalmaz, amelyek lenyelve mérgező hatásúak lehetnek.
- A leállító oldat szintén tartalmaz kénsavat, amely korrozív hatású. Kerülje a bőrre és a szembe jutást. Ha érintkezett az oldattal, azonnal öblítse le vízzel, és forduljon orvoshoz.
- A szubsztrát TMB-t tartalmaz, ami irritálhatja a bőrt és a nyálkahártyákat. Bármely, a bőrrel kapcsolatba kerülő szubsztrátot vízzel kell leöblíteni.
- A Biotin VP2 koncentrátum és a Biotin VP2 hígító nátrium-azidot tartalmaz, amely ólom- és rézvezetékeléssel potenciálisan robbanékony fém-azidokat képez. A reagenseket nagy mennyiségű vízzel kell leöblíteni, amennyiben kidobják őket, az azidképződés megelőzése érdekében.
- A helyes laboratóriumi gyakorlat szerint dobja ki a klinikai mintákat, fertőzött vagy potenciálisan fertőzött anyagokat. Az összes ilyen anyagot potenciálisan fertőzőnek tekintve kell kezelni és kidobni.
- A minták kezelése és a mérés elkészítése során viseljen védőruházatot, eldobható gumikesztyűt és védőszemüveget. Alaposan mosson kezet, ha végzett.

- Ne pipettázzon semmilyen anyagot szájjal, és soha ne fogyasszon ételt vagy italt a laboratóriumi munkaasztalnál.
- A kémiai anyagok, készítmények és a kit komponensek maradékai veszélyes hulladéknak tekintendők. Az összes ilyen anyagot a felállított biztonsági előírásokkal összhangban kell kidobni.
- Ez a kit kizárólag képzett laboratóriumi személyzet által történő használatra készült.

### *Eljárás*

- A módszer megadott idő- és hőmérséklet-tartományokon kívüli használata valótlán eredményeket adhat. A megállapított idő- és hőmérséklet-tartományokon kívül eső méréseket meg kell ismételni.
- Ne használjon lejárt szavatossági idejű kitet vagy reagenseket.
- Ne keverjen össze vagy helyettesítsen reagenseket különböző tételszámú kitekből a mosókoncentrátum, a mintahígító és a leállító oldat kivételével.
- A megadott protokolltól való eltérés hibás eredményekhez vezethet.
- Használat előtt az összes reagenst melegítse szobahőmérsékletűre (20 – 25 °C) inkubátorban, és jó alaposan rázza össze őket.
- Ne tegye ki a reagenseket huzamosabb ideig közvetlen napfénynek és/vagy 2 – 8 °C feletti hőmérsékletnek.
- A mosóoldathoz magas minőségű desztillált vagy deionizált víz szükséges. A rossz minőségű vagy szennyezett víz használata háttér-elszíneződéséhez vezethet a mérés során.
- Mindig tiszta, lehetőleg eldobható, üvegből készült eszközöket használjon a reagensek előkészítése során.
- Ügyeljen arra, hogy ne szennyezze be a komponenseket, és minden mintához és komponenshez használjon új pipettahegyet.
- Csak a méréshez szükséges mennyiségű konjugátumot készítse elő. Ne öntse vissza az üvegbe, és ne pipettázza direkt az üvegből a megmaradt reagenst. Amennyiben így tesz, szennyeződést idézhet elő.
- Mivel a konjugátum fényérzékeny, ne tegye ki azt hosszabb ideig fényhatásnak.
- A reagenst a lyuk közepébe kell juttatni vigyázva, hogy ne karcolja meg az oldalakat a pipettahegygel.
- Ne hagyja kiszáradni a lyukakat a mérés menetének egyik stádiumában sem.
- Mindig tartsa a lyukak felső felszínét cseppmentesen. A cseppeket óvatosan itassa fel a mérés végeztével.
- Leolvasás előtt bizonyosodjon meg arról, hogy a lemez alsó felszíne tiszta és száraz.
- A mérés kezdete előtt készítsen tervet az azonosításra és szétosztásra.
- Automata vagy félautomata processzor használata esetén elengedhetetlen annak előzetes kimutatása, hogy a Biotrin Parvovírus-B19 IgG EIA termék esetében ugyanolyan eredményhez jutnak, mint a manuális módszerrel.

## Kit komponensek

### *Biztosított anyagok*

1. Bevont ELISA-lemez  
12 x 8-as strip bevonva nyúl anti-humán IgM-mel visszazárható zacskóban.

PLA	IgM
-----	-----

Piros szélű

2. Pozitív kontroll\*\*  
1 x 3 ml pozitív szérum/plazma stabilizáló pufferben ProClin 950-nel (0,05%) és Bronidox L-lel (0,02%).

CONTROL	+	IgM
---------	---	-----

Piros kupak

3. Negatív kontroll\*\*  
1 x 3 ml negatív szérum stabilizáló pufferben ProClin 950-cel (0,05%) és Bronidox L-lel (0,02%).

CONTROL	-	IgM
---------	---	-----

Zöld kupak

4. Kalibrátor (küszöbkontroll\*\*)  
1 x 3 ml pozitív szérum stabilizáló pufferben ProClin 950-nel (0,05%) és Bronidox L-lel (0,02%).

CAL
-----

Barna kupak

5. Biotin VP2 Koncentrátum  
1 x 1,7 ml koncentrált (10 x) Biotinilált VP2 oldat stabilizátorokat és nátrium-azidot (0,01%) tartalmazó pufferben.

BVP2	10X
------	-----

Fehér kupak

6. Biotin VP2 Hígító  
1 x 17 ml, stabilizátorokat, ProClin 950-et (0,05%) és Bronidox L-t (0,02%) tartalmazó hígító puffer.

BVP2	DIL
------	-----

Fehér kupak

7. Enzimkonjugátum-koncentrátum  
1 x 1,7 ml Streptavidin-HRP konjugátum (10 x) stabilizáló pufferben ProClin 950-nel (0,05%) és Bronidox L-lel (0,02%).

CONJ	ENZ	10X
------	-----	-----

Kék kupak

8. Enzimkonjugátum-hígító

1 x 17 ml, stabilizátorokat, ProClin 950-et (0,05%) és Bronidox L-t (0,02%) tartalmazó hígító puffer.

CONJ	ENZ	DIL
------	-----	-----

Kék kupak

9. Használatra kész mintahígító 1 x 110 ml, stabilizátorokat és ProClin 300-at (0,05%) tartalmazó PBS puffer.

DIL	SPE	1X
-----	-----	----

Átlátszó kupak

10. Mosókoncentrátum

1 x 55 ml koncentrált (25 X) Tris pufferolt só Tween 20-szal és ProClin 950-nel (0,15%).

BUF	WASH	25X
-----	------	-----

Átlátszó kupak

11. Szubsztrát

1 x 17 ml tetrametilbenzidin (TMB) oldat.

SUBS	TMB
------	-----

Barna kupak

12. Leállító oldat

1 x 17 ml 0,5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

SOLN	STP
------	-----

Átlátszó kupak

13. Használati utasítás.



\*\* potenciálisan veszélyes biológiai anyag

**A manuális feldolgozáshoz szükséges további anyagok Feldolgozás**

- Szérum mintavevő felszerelés.
- Magas minőségű desztillált vagy deionizált víz.
- Pontos pipetták, mikropipetták és eldobható, 10 µl-es, 100 µl-es, 1 ml-es és 5 ml-es pipettahegyek.
- Kémcsövek vagy annak megfelelőek a minta előkészítéséhez.
- Tiszta volumetrikus laboratóriumi eszközök.
- Mérőhengerek.
- Műanyag fedél vagy ragasztószalag a mikrotiter lemezhez.
- Papírtörülők vagy nedvszívó papír.
- Stopper.
- Kézi vagy automatikus mosóeszköz.
- ELISA leolvasó 450 nm-es szűrővel (a kiegészítő 630 nm-es szűrő nem tartozék, de javasolt).
- 37 °C-os inkubátor.

## **Automata vagy félautomata EIA Processzorok**

A Biotrin Parvovírus IgM EIA számos automata vagy félautomata ELISA processzossal használható. Elengedhetetlen, hogy a Biotrin Parvovírus IgM EIA automata processzossal nyert eredményei megegyezzenek az ugyanazon mintát vizsgáló manuális módszer eredményeivel.

### **Tárolás és stabilitás**

- A kit 2 – 8 °C-os hőmérsékleten tárolva a csomagolás külsején található címkén jelzett lejáratú ideig stabil.
- A 8-as stripek a visszazárható zacskóban tárolandók a páraelszívó tasakkal együtt.
- Minden fel nem használt komponens használat után azonnal vissza kell helyezni 2 – 8 °C közötti hőmérsékletre.
- A rekonstruált Biotin VP2 és mosóoldat 1 hónapig stabil 2 – 8 °C-os hőmérsékleten történő tárolás esetén.
- A rekonstruált mosóreagens szobahőmérsékleten is stabil 2 hétig.
- A rekonstruált enzimkonjugátum 2 – 8 °C-os hőmérsékleten, üveg tárolóedényekben tárolva egy hónapig stabil.

### **Mintagyűjtés és -tárolás**

Szérum és plazma is használható a Biotrin Parvovírus-B19 IgM EIA eljáráshoz. A vénás vérvétel során nyert vért 1500-as fordulaton 10 perc centrifugálás után, szobahőmérsékleten (20 – 25 °C) hagyni kell megalvadni. Amennyiben a szérum vagy plazma nem kerül felhasználásra 8 órán belül, legfeljebb 2 – 3 napig, 2 – 8 °C-on, vagy ha hosszabb idejű tárolás vagy szállítás szükséges, -20°C-on fagyasztva tárolható, (a minták -20°C-on legalább 1 évig stabilak). A lítium-heparin, az EDTA és a citrátos plazma kompatibilis a mérési folyamattal. Hemolizált, icterusos, lipaemiás vagy mikrobiálisan szennyezett szérumot nem ajánlott mérésre használni. Végezetül a tesztmintákat nem lehet ismételtelen lefagyasztani és kiolvasztani.

**Megjegyzés:** Az összes plazmakomponens teljes koncentrációja citrátos plazma esetén kismértékben csökkenhet, a koaguláció megelőzésére használt citrátpuffer térfogata miatt.

## A reagens és a minta előkészítése

### *A reagens előkészítése*

- A reagenstérfogatok duplikált mintamérésen alapulnak.
- Mosóoldat  
Minden 8-as striphez 4 ml mosókoncentrátum adandó 96 ml deionizált víz mellé. Az elkészített reagens 2 – 8 °C-on tárolva 1 hónapig stabil.  
Az elkészített reagens 2 hétig szobahőmérsékleten is stabil.
- Biotin VP2  
Minden, használatban lévő 8-as striphez 100 µl Biotin VP2 koncentrátum adandó 900 µl Biotin VP2 hígító mellé.
- Enzimkonjugátum  
Minden 8-as striphez 100 µl enzimkonjugátum-koncentrátum adandó 900 µl enzimkonjugátum-hígító mellé. Az elkészített reagens 2 – 8 °C-os hőmérsékleten tárolva 1 hónapig stabil.

Minden megmaradt reagens használatra kész és megfelelő hígításban van.

### *Minta előkészítése*

Minden mintához öntsön 1 ml mintahígítót egy felcímkézett kémcsőbe vagy ezzel megegyező edénybe. Ehhez adjon 10 µl szérumot vagy plazmát, majd keverje össze.

**Megjegyzés:** A minták hígítva nem tárolhatók, amennyiben a teszt ismételt elvégzése szükséges, friss preparátumot kell készíteni.

## A mérés menete

**Megjegyzés:** Ha automata műszert használ:

- Nem szükséges műanyag fedél/ragasztószalag.
  - Nem szükséges mosás után nedvszívó papírtörülőhöz óvatosan hozzáérinteni a lemezt.
1. Használat előtt hagyja az összes reagenst és mintát inkubátorban szobahőmérsékletűre (20 – 25 °C) melegedni.
  2. Határozza meg, hány 8-as stripe van szüksége. Dolgozzon ki egy rendszert a kontrollok és minták azonosítására és szétosztására, ahogy azt az 1. ábra mutatja. Az első strip 1 beteg mintájának vizsgálatára elegendő, minden további strip még 4 beteg mintáinak vizsgálatát teszi lehetővé.

1. ábra 1. Strip

<b>A</b>	negatív kontroll
<b>B</b>	negatív kontroll
<b>C</b>	pozitív kontroll
<b>D</b>	pozitív kontroll
<b>E</b>	Kalibrátor (küszöbkontroll)
<b>F</b>	Kalibrátor (küszöbkontroll)
<b>G</b>	1. számú beteg
<b>H</b>	1. számú beteg

A reagenstérfogatok duplikált mintaméréseken alapulnak. A felhasználóknak a működési sajátosságokkal ajánlatos megismerkedni, és saját laboratóriumukban validálni a mérést, mielőtt egyedül kezdenék alkalmazni azt.

3. Készítse elő a szükséges mennyiségű 8-as stripeket, helyezze azokat egy műanyag keretbe és takarja le őket műanyag fedővel/ragasztószalaggal. Tegye vissza a megmaradt stripeket a zacskóba a páraelszívó tasakkal együtt, és zárja vissza azt.
4. Készítse el a mosóoldatot (lásd: „A reagens és a minta előkészítése”).
5. Készítse elő a betegek szérumait (lásd: „A reagens és a minta előkészítése”).
6. Távolítsa el a stripek fedőit és pipettázzon a lyukakba 100 µl-t a használatra kész negatív kontrollból, a használatra kész pozitív kontrollból, a használatra kész kalibrátorból (küszöbkontroll) és a betegek előkészített mintáiból.

7. Takarja le a lyukakat műanyag fedővel/ragasztószalaggal és inkubálja szobahőmérsékleten (20 – 25 °C) 60 percen keresztül (+/- 5 perc) inkubátorban.
8. Távolítsa el a fedőt és öblítsen négyszer minden lyukat mosóoldattal (250 – 320 µl). Az öblítés után óvatosan érintse hozzá a lemezt nedvszívó papírtörülőhöz.
9. Készítsen elő Biotin VP2-t (lásd: „A minta és a reagens előkészítése”).
10. Az öblítés befejeztével azonnal juttasson 100 µl előkészített Biotin VP2-t minden lyukba.
11. Fedje a lyukakat műanyag fedéllel/ragasztószalaggal, és inkubálja 30 percen keresztül (+/- 5 perc) 35 – 39 °C-on inkubátorban.
12. Távolítsa el a fedőt, és minden lyukat négyszer öblítsen mosóoldattal (250 – 320 µl). Az öblítés után óvatosan érintse hozzá a lemezt nedvszívó papírtörülőhöz.
13. Készítse el az enzimkonjugátumot (lásd: „A reagens és a minta előkészítése”).
14. Az öblítés befejeztével azonnal juttasson 100 µl IgM enzimkonjugátumot minden lyukba.
15. Fedje a lyukakat műanyag fedéllel/ragasztószalaggal és inkubálja 30 percen keresztül (+/- 5 perc) 35 – 39 °C-on inkubátorban.
16. Távolítsa el a fedőt, és minden lyukat négyszer öblítsen mosóoldattal (250 – 320 µl). Az öblítés után óvatosan érintse hozzá a lemezt nedvszívó papírtörülőhöz.
17. Az öblítés befejeztével azonnal juttasson 100 µl szubsztrátot minden lyukba.
18. Inkubálja 30 percen keresztül (+/- 2 perc) 35 – 39 °C-on inkubátorban.
19. Juttasson 100 µl leállító oldatot minden lyukba, és keverje el azokat. Bizonyosodjon meg arról, hogy minden hozzáadás abban a sorrendben és időrendben zajlott, ahogy a szubsztrát hozzáadása.
20. Olvassa le 30 percen belül ELISA lemezleolvasóval.

**Megjegyzés:** Kettős hullámhosszú leolvasás ajánlott 450 nm-rel, 630 nm-es referencia hullámhossz mellett (használjon levegőt semlegesként a 630 nm szűrőhöz). Ha ez a funkció nem elérhető az ELISA lemezleolvasón, használjon egy hullámhosszas leolvasást 450 nm-en.

## **Az eredmények értelmezése**

Az anti-Parvovírus IgM jelenléte vagy hiánya egy kalkulált küszöbértékhez (COV) viszonyítva határozható meg.

### ***A COV számítása***

COV = A kalibrátor (küszöbkontroll) átlag optikai denzitása

### ***Értelmezés (1): Abszorbancia***

Azok a minták tekintendők reaktívnak (pozitívnak) anti-Parvovírus-B19 IgM ellen, amelyeknek átlag abszorbanciája nagyobb, mint  $COV \times 1,1$ .

Azok a minták tekintendők nem reaktívnak (negatívnak) anti-Parvovírus-B19 IgM ellen, amelyeknek átlag abszorbanciája kisebb, mint  $COV \times 0,9$ .

Azok a minták, amelyeknek átlag abszorbanciája nagyobb vagy egyenlő, mint  $COV \times 0,9$  és kisebb vagy egyenlő, mint  $COV \times 1,1$ , nem egyértelműek.

Megjegyzés: Ha automata műszer eredményeit hasonlítja össze egy másikkal, csak az indexált értékeket szabad figyelembe venni (utalunk az Értelmezés (2)-re).

### ***Értelmezés (2): Indexált érték***

Különböző mérések közötti adatok összehasonlítását könnyíti meg az indexált érték használata, ahol a minta abszorbanciája a mérés küszöbértékéhez viszonyítva van kifejezve. Ebben az esetben, ha az indexált érték  $< 0,9$  vagy  $> 1,1$ , ez sorrendben negatív vagy pozitív mintát jelent. Kétértelmű eredményt kapunk, ha az indexált érték 0,9 és 1,1 közé esik.

$$\text{Indexált érték} = \frac{\text{Minta abszorbanciája}}{\text{Küszöbérték (COV)}}$$

Azok a minták, amelyek sem reaktívak (pozitívak), sem pedig nem reaktívak (negatívak), kétértelműek, és újra kell őket vizsgálni. Ha az újbóli vizsgálat eredménye is kétértelmű, egy héttel később másik mintavétel szükséges. A második minta vizsgálati eredményének kétértelműsége esetén a minta reaktívnak (pozitívnak) tekintendő anti-Parvovírus-B19 IgM ellen.

## **Minőség-ellenőrzési feltételek**

A pozitív kontrollt, a negatív kontrollt és a kalibrátort (küszöbkontroll) mindig használni kell, hogy meghatározhassuk az eredmények validitását. A módszer eredményei valósnak tekinthetők, ha a következő feltételek teljesülnek.

1. A pozitív kontroll átlag abszorbanciája nagyobb vagy egyenlő, mint 0,8 optikai denzitás egység.
2. A negatív kontroll átlag abszorbanciája kisebb vagy egyenlő, mint 0,15 optikai denzitás egység és a COV x 0,9-nél is kisebb.

Ha a fenti feltételek nem teljesülnek, a mérés nem tekinthető érvényesnek, és meg kell ismételni.

## **A módszer korlátai**

- A Parvovírus-B19-fertőzés diagnózisának felállításakor az eredményeket a beteg klinikai és epidemiológiai profiljával és más klinikai laboratóriumi eredményeivel összefüggésben kell vizsgálni.
- A nem reagáló (negatív) eredmény nem zárja ki a Parvovírus-B19-fertőzés lehetőségét. Negatív eredményt adó Parvovírus-B19-fertőzés gyanújának esetén két hét múlva meg kell ismételni a tesztet.
- Nem áll megfelelő adat rendelkezésre, hogy alátámassza az egyéb testfolyadékokon vagy szérumkészleteken végzett tesztek eredményeinek kiértékelését.
- A teszt teljesítményére hatással lehet a módszertől, a kiértékeléstől vagy az ajánlott óvintézkedéstől való eltérés.
- Anti-nukleáris antitestet tartalmazó minták kétértelmű vagy pozitív teszteredményeket mutathatnak Biotrin Parvovírus-B19 IgM enzim immun mérőmódszerrel (lásd a Teljesítményjellemzők című részt).
- EBV IgM pozitív minták szintén mutathatnak pozitív vagy kétértelmű teszteredményeket Biotrin Parvovírus-B19 IgM enzim immun mérőmódszerrel (lásd a Teljesítményjellemzők című részt).
- Immunszupprimált betegek mintáinak teszteredményeit nehéz lehet kiértékelni.
- A módszer teljesítményét dupla minták tesztelésével validálták. A laboratóriumi dolgozóknak ajánlott tisztában lenniük a teljesítményjellemzőkkel, mielőtt a betegek mintáit egyedül elemeznék.

## Teljesítményjellemzők

### Érzékenység és specificitás

Összesen 184 mintát teszteltek 3 különböző Biotrin negyedik generációs Parvovírus-B19 IgM EIA tételen. A mintákat pozitívként vagy negatívként jellemezték a Biotrin harmadik generációs Parvovírus-B19 IgM EIA használata alapján. A pozitív mintákat kezdetben Parvovírus-B19-fertőzéssel társult klinikai tünetek és/vagy PCR jellemezte. A Biotrin harmadik generációs Parvovírus-B19 IgM EIA és a Biotrin negyedik generációs Parvovírus-B19 IgM EIA kapott eredményeinek az összehasonlítása az 1. táblázatban látható.

<b>Biotrin harmadik generációs Parvovírus B19 IgM EIA</b>					
		Pozitív	Negatív	Kétértelmű	Teljes
Biotrin negyedik generációs Parvovírus B19 IgM EIA	Pozitív	100	0	0	100
	Negatív	0	84	0	84
	Kétértelmű	0	0	0	0
	Teljes	100	84	0	184

**1. táblázat:** Érzékenységi és specificitási számítások a Biotrin negyedik generációs Parvovírus-B19 IgM EIA-hoz a Biotrin harmadik generációs Parvovírus-B19 IgM EIA eredményeivel összevetve.

A számításokba a kétértelmű eseteket is belevettük az FDA irányelvei szerint.

A százalékos érzékenységet és specificitást a következő formulák használatával számítottuk ki:

Érzékenység = Valódi Pozitív (VP) osztva a (VP + Fals Negatív + Kétértelmű) x 100  
**%Érzékenység = (100/100) x 100 = 100%**

Specificitás = Valódi Negatív (VN) osztva a (VN + Fals Pozitív + Kétértelmű) x 100  
**%Specificitás = (84/84) x 100 = 100%**

## Vizsgálaton belüli reprodukálhatóság

Szérummintáknak a Parvovírus-B19 IgM szint szerint a nem reagálótól az erősen reagálóig terjedő sorozatát, külön-külön harmincszor vizsgálták. Az ismétléseket szimpla ELISA-lemezen tesztelték. Az eredő OD-értékeket összeadták és a közép OD-értéket, standard deviációt (SD) és a változás százalékos együtthatóját (%CV) kiszámolták, 2. táblázat. Ugyanezek az eredmények láthatók a módszer indexált érték formájában a 3. táblázatban. A százalékos CV, ami OD (indexált) értékben van kifejezve, 9,6%-os nem reagáló minta (negatív 2) és a 4,7%-os erősen reagáló minta között mozog.

Tesztminta	Átlag OD	SD	%CV	N
SR-A	1,452	0,068	4,7	30
MR-B	0,606	0,038	6,4	30
WR-C	0,453	0,022	4,8	30
UR-D	0,022	0,002	8,1	30
UR-E	0,022	0,002	9,6	30

**2. táblázat:** Vizsgálaton belüli reprodukálhatóság OD-értékben kifejezve, 5 különböző szérummintán végzett 30 ismétlés Parvovírus-B19 IgM szint szerint a nem reagálótól az erősen reagálóig.

Tesztminta	Átlag indexált	SD	%CV	N
CLB 14	7,3	0,344	4,7	30
CLB 74	3,04	0,193	6,4	30
CLB 17	2,28	0,110	4,8	30
CLB 36	0,15	0,012	8,1	30
CLB 34	0,15	0,015	9,6	30

**3. táblázat:** Vizsgálaton belüli reprodukálhatóság indexált értékben kifejezve, 5 különböző szérummintán végzett 30 ismétlés Parvovírus-B19 IgM szint szerint a nem reagálótól az erősen reagálóig.

## Vizsgálatok közötti reprodukálhatóság

A vizsgálatok közötti reprodukálhatóságot 3 tétel (negyedik generációs) Biotrin Parvovírus-B19 IgM EIA segítségével tanulmányozták. A mintákat tartalmazó panel erősen reagáló (5), közepesen reagáló (2), gyengén reagáló (6) és nem reagáló (7) mintákból állt, és minden egyes tételét összesen 10-szer tesztelték. Ez minden mintából egy 30-as teljes mintaszámot (n) eredményezett.

Ezen adatokat a módszerek közötti és a tételen belüli megismételhetőség szempontjából megvizsgálva, a Biotrin Parvovírus-B19 IgM EIA nagyon jó korrelációt mutat a teszteredményekben a különböző módszerek és különböző tételek között. Hat tesztminta megismételhetőségi adatait adtuk meg a 4. táblázatban.

Minta Típus	Teszt minták	Átlag	SD	% CV	n
Nem reagáló	CLB 80	0,1	0,01978	20%	30
Nem reagáló	CLB36	0,1	0,025944	24%	30
Gyengén reagáló	2908	2,0	0,301846	15%	30
Gyengén reagáló	4923	1,5	0,246982	16%	30
Mérsékelten	CLB 82	3,4	0,44587	13%	30
Erősen reagáló	CLB 75	7,3	1,205097	17%	30

**4. táblázat:** Teljes, vizsgálatok közötti megismételhetőség. Az (indexált) adatok a Biotrin Parvovírus-B19 IgM EIA 3 tételéből lettek kigyűjtve.

## Módszer specificitás

A Biotrin Parvovírus-B19 IgM enzim immun mérőrendszer specificitásának megállapítása vírusfertőzött vagy Parvovírus-19-fertőzés tüneteire hasonló klinikai tüneteket okozó betegségben szenvedő betegek mintáinak tesztelésével történt (5. táblázat).

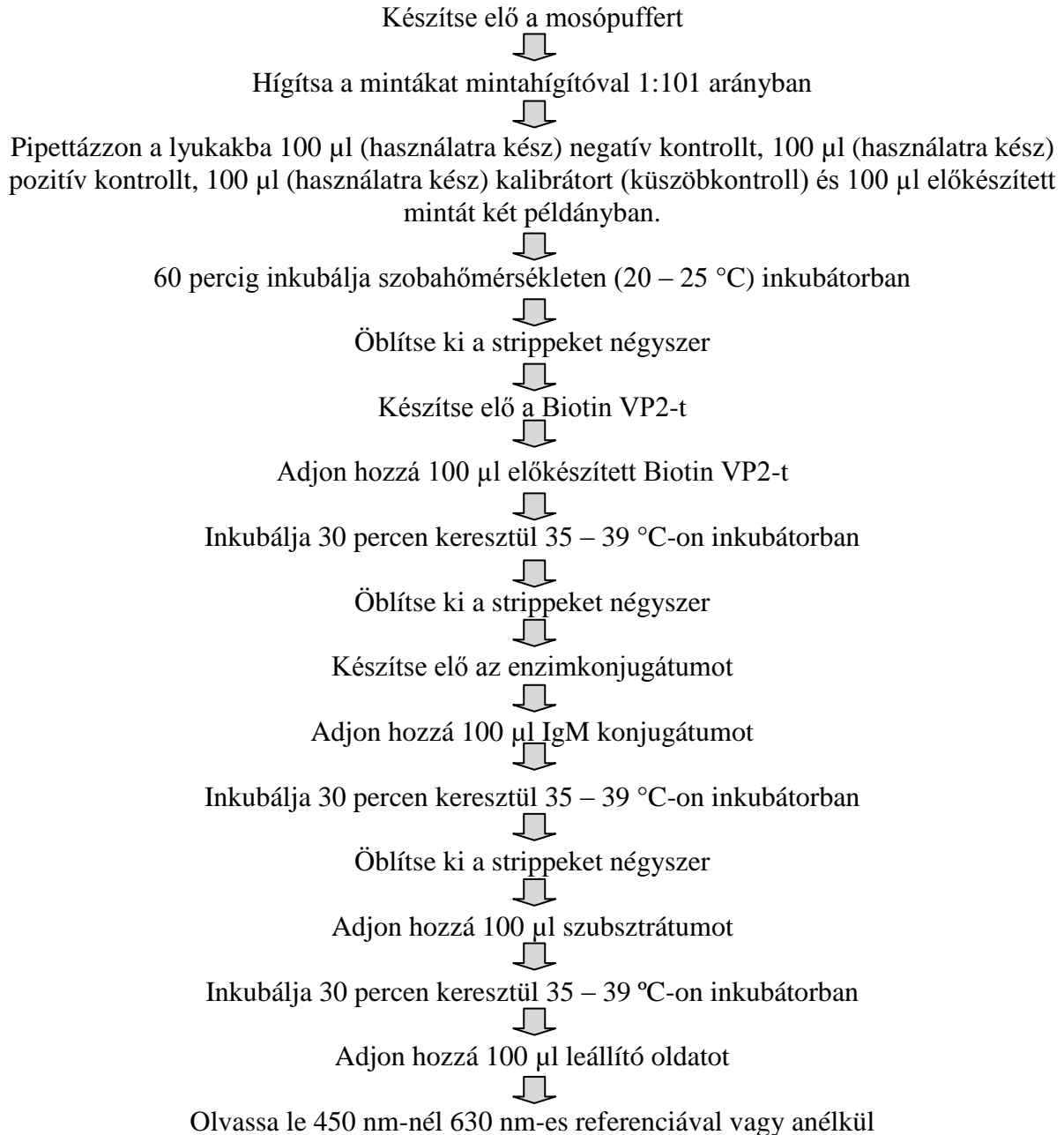
Vizsgált minták	Pozitív esetek száma
Anti-Nukleáris Antitestek (ANA)	1/10†
Autoimmun Betegség	0/4
Cytomegalovírus (CMV)	0/16
Epstein-Barr Vírus (EBV)	1/32†
Haemolizált Minta	0/3
Herpes Simplex Vírus (HSV)	0/2
Influenza B	0/5
Lipaemiás Minta	0/3
Lupus erythematosus	0/6
Mumpsz vírus	0/1
Mycoplasma	1/5†
Parainfluenza	0/1
Reuma Faktor (RF)	0/15
Rubeola vírus	0/10
Toxoplasma gondii	0/14
Varicella Zoster Vírus (VZV)	0/3

**5. táblázat:** Parvovírus-B19 IgM enzim immun mérőrendszer specificitása.








† Az EBV IgM, Mycoplasma IgM és ANA-minták, amelyek reaktívak voltak a Biotrin negyedik generációs Parvovírus-B19 IgM enzim immun mérőrendszerrel, a Biotrin harmadik generációs Parvovírus-B19 IgM enzim immun mérőrendszerrel szintén reaktívnak bizonyultak. Ennélfogva a hiteles Parvovírus-B19 IgM reaktivitás valószínűségét nem lehet kizárni.

## A Parvovirus-B19 IgM EIA eljárás összefoglalása

Kérjük, olvassa el a termék teljes használati útmutatóját, mielőtt elkezdi a mérést. Ez az összefoglaló csak gyors tájékoztatásként szolgál.



## Jelmagyarázat

- <i>In vitro</i> diagnosztikus orvosi műszer	
- Hőmérséklet-korlátozás	
- Gyártó	
- Használati utasítás	
- Felhasználható	
- Tételszám	
- Katalógus szám	

## Irodalomjegyzék

1. Cossart YE, Field AM, Cant B, et al.: Parvovirus – Like Particles in Human Sera. *The Lancet*, 1: 72 – 73, 1975.
2. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, et al.: Experimental Parvovirus Infection in humans. *J. Infect Dis* 152: 257 – 265, 1985.
3. Knott PD, Welply GAC, Anderson MJ, et al.: Serologically proved intrauterine infection with Parvovirus. *Br. Med. J.* 289: 1660, 1984.
4. Reid DM, Reid TM, Brown T, et al.: Human Parvovirus-associated arthritis: a clinical and laboratory description. *Lancet* 1: 422 – 425, 1985.
5. Serjeant GR, Topley JM, Mason K, et al.: Outbreak of aplastic crises in sickle cell anaemia associated with Parvovirus-like agent. *Lancet* 2: 595 – 597, 1981.
6. Kurtzman G, Frickhofen N, Kimball J, et al.: Pure red-cell aplasia of 10 years' duration due to persistent Parvovirus B19 infection and its cure with immunoglobulin therapy. *N. Engl. J. Med.* 321: 519 – 523, 1989.
7. Ozawa K, Ayub J, Yu-Shu H, et al.: Novel Transcription Map for the B19 (human) Pathogenic Parvovirus. *J. Virol.* 61: 2395 – 2406, 1987
8. Török T. Human Parvovirus B19 in Infectious Diseases of the Fetus and Newborn infant. Eds: Remington JS and Klein JO. 4th ed 668702 ISBN: 0-7216-6782-1.
9. Jordan JA. Identification of human Parvovirus B19 in idiopathic nonimmune hydrops fetalis. *Am J Obstet Gynecol* 174: 37 – 42, 1996.
10. Centres for Disease Control. Risks Associated with Human Parvovirus B19 Infection. *MMWR CDC Surveill. Summ.*, 38: 81 – 89, 1989.
11. Woernle CH, Anderson LJ, Tattersall P, et al.: Human Parvovirus B19 during pregnancy. *J. Infect. Dis.* 156: 17-20, 1987.
12. Gratacos E, Torres PJ, Vidal J, et al.: The incidence of Human Parvovirus B19 infection during pregnancy and its impact on perinatal outcome. *J Infect. Dis.* 171: 1360 – 1363, 1995.
13. Public Health Laboratory Service Working Party on Fifth Disease. Prospective Study of Human Parvovirus (B19) infection in pregnancy. *Br. Med. J.* 300: 1166 – 1170, 1990.
14. Rodis JF, Hovick TJ, Quinn DL, et al.: Human Parvovirus Infection in pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 72: 733-738, 1988.
15. Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G, et al.: Resistance to Parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (Erythrocyte P Antigen). *N. Eng. J. Med.* 330: 1192-1196, 1994.

16. Anderson MJ, Khouzam MN, Maxwell DJ, et al.: Human Parvovirus B19 and Hydrops Fetalis. Lancet 1: 535,1988.
17. Enders M, Weidner A, Zoellner I, Searle K, Enders G : Fetal morbidity and mortality after acute human parvovirus B19 infection in pregnancy: prospective evaluation of 1018 cases. Prenatal Diagnosis 24: 513-518, 2004
18. Corcoran A, Doyle S. Advances in the biology, diagnosis and host – pathogen interactions of Parvovirus B19, Journal of Medical Microbiology 53: 459 – 475, 2004



**Biotrin International Ltd.**  
**93 The Rise, Mount Merrion**  
**Co Dublin**  
**Ireland**  
**Tel: + 353 (01) 2831166**  
**Fax: + 353 (01) 2831232**  
**e-mail: [info@biotrin.ie](mailto:info@biotrin.ie)**  
**[www.biotrin.com](http://www.biotrin.com)**

**Dokumentum kód: PEMIV-466-02 11/09**