

Türkçe
Katalog numarası: V619IM
Kit biçimi: 12 x 8
Belge kodu: PEMIV-472-01 11/09



Parvovirus B19 IgM Enzim İmmünoassay

İnsan serumu ve plazmasında Parvovirus B19 IgM antikorlarının kalitatif tayini için kullanılan bir enzim immünoassaydir.

CE

İçindekiler

Kullanım Amacı	3
Giriş	3
Tahlilin ilkesi	4
Önlemler	4
<i>Güvenlik</i>	4
<i>İşleme dair</i>	5
Kit Bileşenleri	6
<i>Sağlanan Materyaller</i>	6
<i>Gerekli Ek Materyaller</i>	7
Otomatik veya Yarı Otomatik EIA İşlemcileri	8
Saklama Koşulları ve Stabilite	8
Örnek Alma ve Saklama	8
Reaktif ve Örnek Hazırlama	9
Tahlil İşlemi	10
Sonuçların Yorumlanması	12
Kalite Kontrol Kriterleri	12
Kullanım Sınırlamaları	13
Performans Özellikleri	14
Parvovirus IgM İşlemi Özeti	17
Sembollerin Yorumlanması	18
Bibliyografya	19

Kullanım Amacı

Parvovirus B19 IgM Enzim İmmünoassay insan serumu ve plazmasındaki Parvovirus B19'a karşı IgM antikorlarının kalitatif tayini için tasarlanmıştır. Kısa süre önce yaşanan veya halen mevcut bir enfeksiyonun varlığını belirlemek üzere Parvovirus B19'a maruz kaldığından şüphelenilen tüm kadınlarda kullanılması endikedir. Biotrin Parvovirus B19 IgG Enzim İmmünoassay ile birlikte bu test, klinisyenlerin fetal hidrops veya fetal ölüm riskini değerlendirmesine yardımcı bir bileşen olarak kullanılabilir.

Giriş

Parvovirus B19, ilk olarak 1975 yılında bir insan patojeni olarak tanımlanmış ve hemen ardından döküntü, artralji ve fetal hasar gibi bir dizi klinik koşula neden olan bir ajan olduğu gösterilmiştir.^{1,2,3} Yetişkinlerde, özellikle kadınlarda, Parvovirus B19 enfeksiyonu bir süre devam eden akut artrite neden olabilir.⁴ Enfeksiyon, immün yetmezliği bulunan hastalarda ve orak hücre anemisi gibi öncelikle hemolitik bozuklukları olan kişilerde hayatı tehdit eden anemiye yol açabilir.^{5,6} İkozahedral ve zarfsız olan virüsün çapı 18 – 25 nm'dir ve dış kapsid içinde doğrusal tek zincirli DNA genomuna sahiptir (5.5 kb).^{7,8} Viral kapsid, VP1 (83kDA) ve VP2 (53kDA) olarak adlandırılan, iki yapısal proteinden meydana gelir. Parvovirus B19 enfeksiyonu genellikle solunum salgılarıyla doğrudan temas yoluyla kapılır ve genellikle kış ve ilkbahar aylarında bölgesel salgınlar halinde görülür.⁸

Artık seronegatif kadınların Parvovirus B19 enfeksiyonuna karşı bağışıklıklarının olmadığı kabul edilmiştir.^{9,10} Gebelik süresince Parvovirus B19 enfeksiyonunun yaşandığı durumlarda çoğunlukla zamanında ve sağlıklı fetüs doğumu gerçekleşmiştir.^{10,11,12} Ancak gebelik sırasında oluşan enfeksiyon fetüse bulaşma riski taşır ve bu hidrops fetalis veya intrauterin ölümle sonuçlanabilir. Literatürdeki değerlendirmelere göre, annedeki enfeksiyonu takiben gerçekleşen fetal ölüm oranı %1 ila 11 arasındadır.^{10,13,14,17} Parvovirus B19 ağırlıklı olarak kırmızı kan hücrelerinde kopyalandığı için gebelik sırasındaki enfeksiyonun şiddetli fetal anemisine bağlı olarak fetal ölümüne neden olabileceği öne sürülmüştür. Hemoglobin seviyesinin 2 g/dl altına düştüğü bu şiddetli aneminin fetal hidropsun birincil nedeni olduğu düşünülmektedir.^{15,16} Yakın zamanlı bir çalışmada fetal ölüm riskinin büyük oranda annede gebeliğin ilk 20 haftasında gerçekleşen B19 enfeksiyonuyla sınırlı olduğu ileri sürülmüştür.¹⁷ Yakın zamanda yapılan çalışmalara göre B19 enfeksiyonu nedeniyle yılda yaklaşık 3000 fetal ölümünün gerçekleştiği tahmin edilmektedir.¹⁸

Parvovirus B19 enfeksiyonu ile ilgili semptomlar ancak virüslü (bulaşıcı) evre tamamlandıktan sonra belirgin hale gelir.¹⁰ Ayrıca okullar, kreşler veya hastaneler gibi kişilerin birbirleriyle yakın temasta oldukları durumlarda bulaşma riskinin arttığı bilinmektedir. Centres for Disease Control (CDC-Hastalık Kontrol Merkezleri), Parvoviral enfeksiyon (örn. beşinci hastalık) belirtileri gösteren kişilerin bu gibi ortamlardan uzak tutulmalarını önermez. Ancak ilgili kişilerin hastalığın bulaşma olasılığından haberdar edilmeleri önerilir.¹⁰

Sonuç olarak, Parvovirus B19 enfeksiyonu bulaşma riski taşıyan veya enfeksiyona maruz kalmış kişilerin Parvovirus B19 antikor durumlarının belirlenmesi önemlidir.

Tahlilin İlkesi

Biotrin Parvovirus B19 IgM (Enzim İmmünoassay) insan serumu ve plazmasındaki Parvovirus B19'a karşı IgM sınıfı antikorların tayini için yapılan bir mü yakalama sandviç enzim immünoassaydır. Spesifik IgM serum veya plazmada mevcutsa, tavşan anti-insan IgM ile kaplı kuyucuklara bağlanacaktır. Yıkama adımını takiben, mevcut insan anti-Parvovirus B19 IgM ile bağlanan biyotinlenmiş Parvovirus B19 rekombinant VP2 proteini eklenir. Diğer bir yıkama adımının ardından, mevcut biyotinlenmiş VP2 ile bağlanan streptavidin-peroksidaz eklenir. Ardından tüm kompleks, peroksidaz varlığında mavi bir renk alan Tetrametilbenzidin substratı (TMB) eklenerek tespit edilir. Durdurma reaktifi eklenerek sarı renkli stabil son ürün elde edilir.

Önlemler

Güvenlik

- Sadece *in vitro* tanısal kullanım için.
- ** işareti taşıyan reaktifler BİYOTEHLİKE POTANSİYELİ OLAN MATERYALLER olarak nitelendirilir. Pozitif kontrol, negatif kontrol ve Kalibratör (Kesme Kontrolü) hazırlamada kullanılan her bir donör birimi, FDA tarafından aklanmış yöntemlerle, HBsAg ve HIV ile HCV antikorları için test edilmiş ve sonuç negatif bulunmuştur. Bununla birlikte, hiçbir test yöntemi enfeksiyöz ajanların bulunmadığı konusunda kesin güvence veremediği için tüm bu reaktifler ve hasta örnekleri, enfeksiyöz olabilecek insan serumu veya kan örnekleri için CDC/NIH kılavuzu "Mikrobiyoloji ve Biyomedikal Laboratuvarlarında Biyogüvenlik" 1988 tarafından önerildiği gibi, Biyogüvenlik Seviyesi 2 düzeyinde ele alınmalıdır.
- Bazı reaktifler yutulduğunda zehirli olabilecek ProClin 950, ProClin 300 ve Bronidox L içerirler.
- Stop Çözeltisi ayrıca aşındırıcı olan sülfürik asit içerir. Cilt ve gözlerle temasından kaçının. Temas etmesi durumunda derhal suyla durulayın ve tıbbi yardım alın.
- Substrat, cildi ve muköz dokuları tahriş edebilecek TMB içerir. Ciltle temas eden tüm substrat suyla durulanmalıdır.
- Biotin VP2 konsantresi ve Biotin VP2 seyreltici, kurşun ve bakır tesisatla patlayıcı olabilecek metal azitler oluşturabilecek sodyum azit içerir. Atılırken azit oluşumunu engellemek için reaktif bol miktarda su ile yıkanmalıdır.
- Tüm klinik örnekleri, enfekte olmuş veya enfekte olma olasılığı taşıyan tüm materyalleri iyi laboratuvar uygulamalarına uygun olarak atın. Benzeri tüm materyaller enfeksiyöz olma ihtimali göz önünde tutularak ele alınmalı ve atılmalıdır.
- Örnekleri ele alırken ve tahlili gerçekleştirirken koruyucu giysiler, atılabilir lateks eldivenler ve göz koruması kullanın. Tamamlandığında ellerinizi iyice yıkayın.
- Materyalleri asla ağızınızla pipete çekmeyin ve laboratuvar tezgahında asla bir şeyler yiyip içmeyin.
- Kimyasalların, hazırlama ve kit bileşenlerinin artıkları genellikle tehlikeli atık olarak kabul edilir. Benzeri tüm materyaller mevcut güvenlik işlemlerine uygun olarak atılmalıdır.
- Bu kit sadece kalifiye laboratuvar personeli tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

İşleme dair

- Tahlilin belirtilen süre ve sıcaklık aralıkları haricinde gerçekleştirilmesi hatalı sonuçlar alınmasına neden olabilir. Belirtilen süre ve sıcaklık aralıklarında yapılmayan testler tekrar edilmelidir.
- Son kullanma tarihi geçmiş olan kitleri veya tek tek reaktifleri kullanmayın.
- Yıkama Konsantresi, Numune Seyreltici ve Stop Çözeltisi dışında, farklı lot numaralı kitlelere ait reaktifleri karıştırmayın veya birbirleri yerine kullanmayın.
- Belirtilen protokolden sapmalar hatalı sonuçlara neden olabilir.
- Tüm reaktiflerin bir inkübatör içinde oda sıcaklığına (20 – 25°C) gelmesini bekleyin ve kullanmadan önce iyice karıştırın.
- Reaktifleri uzun süreyle doğrudan güneş ışığına ve/veya 2 – 8°C üzerindeki sıcaklıklara maruz bırakmayın.
- Yıkama Çözeltisi için Yüksek Kalite distile veya deiyonize su gerekmektedir. Düşük kalitede veya kontamine su kullanılması tahlil sırasında arka planda renk oluşmasına neden olabilir.
- Tüm reaktiflerin hazırlanmasında daima temiz, tercihen tek kullanımlık, cam malzeme kullanın.
- Bileşenlerin kontamine olmaması için dikkat gösterilmeli ve her bir numune ve bileşen için daima yeni pipet uçları kullanılmalıdır.
- Sadece tahlil için gereken hacimde konjugatı çıkarın. Kullanılmayan reaktifi şişeye geri dökmeyin veya doğrudan şişeden pipetle almayın. Aksi halde kontamine olabilir.
- Konjugat ışığa duyarlı olduğundan uzun süre ışığa maruz kalmasından kaçınılmalıdır.
- Reaktif, kuyucukların kenarındaki orta noktaya, pipetin ucuyla kenarı çizmemeye dikkat ederek verilmelidir.
- Tahlil işlemi sırasında hiçbir aşamada kuyucukların kurummasına izin vermeyin.
- Kuyucukların üst yüzeyinde hiçbir zaman damlalar olmamasına dikkat edin. İşlem aşaması tamamlandığında damlalar yavaşça kurulanmalıdır.
- Okuma öncesinde plakanın alt yüzeyinin temiz ve kuru olduğundan emin olun.
- Tahlile başlamadan önce tanımlama ve dağılım planı yapılmalıdır.
- Otomatik veya yarı otomatik bir işlemci kullanılıyorsa, Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA ürününün manuel test yöntemiyle denk olduğunun gösterilmesi zorunludur.

Kit Bileşenleri

Sağlanan Materyaller

1. Kaplı ELISA plakası

Tekrar kapatılabilen paket içinde yer alan tavşan anti-insan IgM ile kaplı 12 x 8 kuyucuk.

PLA | IgM

Kırmızı Kenarlık

2. Pozitif Kontrol**

ProClin 950 (%0.05) ve Bronidox L. (%0.02) ile dengeleyici bir tampon içinde 1 x 3 ml pozitif serum/plazma.

CONTROL | + | IgM

Kırmızı Kapak

3. Negatif Kontrol**

ProClin 950 (%0.05) ve Bronidox L. (%0.02) ile dengeleyici bir tampon içinde 1 x 3 ml negatif serum.

CONTROL | - | IgM

Yeşil Kapak

4. Kalibratör (Kesme Kontrolü**)

ProClin 950 (%0.05) ve Bronidox L. (%0.02) ile dengeleyici bir tampon içinde 1 x 3 ml pozitif serum.

CAL

Kahverengi Kapak

5. Biotin VP2 Konsantresi

Dengeleyiciler ve sodyum azit (%0.01) içeren bir tampon içinde 1 x 1.7 ml konsantre (10x) Biotinlenmiş VP2 çözeltisi.

BVP2 | 10X

Beyaz Kapak

6. Biotin VP2 Seyreltici

Dengeleyiciler ve ProClin 950 (%0.05) ile Bronidox L. (%0.02) içeren 1 x 17 ml seyreltici tampon.

BVP2 | DIL

Beyaz Kapak

7. Enzim Konjugat Konsantresi

ProClin 950 (%0.05) ve Bronidox L. (%0.02) ile dengeleyici bir tampon içinde 1 x 1.7 ml Streptavidin-HRP konjugatı.

CONJ | ENZ | 10X

Mavi Kapak

8. Enzim Konjugat Seyreltici

Dengeleyiciler ve ProClin 950 (%0.05) ile Bronidox L. (%0.02) içeren 1 x 17 ml seyreltici tampon.

CONJ | ENZ | DIL

Mavi Kapak

9. Kullanıma Hazır Numune Seyreltici
Dengeleyiciler ve ProClin 300 (%0.05) içeren 1 x 110 ml PBS tampon

DIL | SPE | 1X

Şeffaf Kapak

10. Yıkama Konsantresi
Tween 20 ve ProClin 950 (%0.15) ile birlikte 1 x 55 ml konsantre (25X) Tris tamponlu salin

BUF | WASH | 25X

Şeffaf Kapak

11. Substrat
1x17 ml tetrametilbenziden (TMB) çözeltisi.

SUBS | TMB

Kahverengi Kapak

12. Stop çözeltisi
1 x 17 ml 0.5 mol/L H₂SO₄.

SOLN | STP

Şeffaf Kapak

13. Kullanma talimatları.



** Biyotehlike Potansiyeli Olan Materyaller

Manuel İşlem için Gerekli Ek Materyaller

- Serum toplama ekipmanı.
- Yüksek kalitede distile veya deiyonize su.
- 10 µl, 100 µl, 1 ml ve 5 ml hacimlerle çalışmak için uygun pipetler, mikropipetler ve tek kullanımlık uçlar.
- Numune hazırlamak için test tüpleri veya dengi malzemeler.
- Temiz volümetrik laboratuvar malzemeleri.
- Mezürler.
- Mikro kuyucuk plakası için plastik kapak veya sızdırmaz bant.
- Kağıt havlu veya emici kağıt.
- Kronometre.

- Manuel veya Otomatik yıkama cihazı.
- 450 nm filtrelili ELISA plaka okuyucusu (ek 630 filtre isteğe bağlıdır, ancak önerilir).
- 37°C İnkübatör

Otomatik veya Yarı Otomatik EIA İşlemciler

Biotrin Parvovirus IgM EIA, otomatik veya yarı otomatik çeşitli ELISA işlemcileriyle birlikte kullanılabilir. Biotrin Parvovirus IgM EIA ile otomatik işlemci kullanılarak elde edilen sonuçların aynı örnekler için manuel test yöntemleri kullanılarak elde edilenlere denk olması gerekir.

Saklama Koşulları ve Stabilite

- Kit 2 – 8°C aralığında saklandığında dış kutusundaki etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.
- 8 kuyucuklu stripler kurutucu keseciğiyle birlikte tekrar kapatılabilen paketinde saklanmalıdır.
- Kullanılmayan tüm bileşenler, kullanımın hemen ardından 2 – 8°C sıcaklığındaki saklama koşullarına geri koyulmalıdır.
- Sulandırılarak hazırlanan Biotin VP2 ve Yıkama Çözeltisi 2 – 8°C sıcaklığında saklandığında bir ay boyunca stabildir.
- Sulandırılarak hazırlanan Yıkama reaktifi de oda sıcaklığında 2 hafta boyunca stabildir.
- Suyu seyreltilerek hazırlanan Enzim Konjugatı 2 – 8°C sıcaklıkta cam kaplarda saklandığında bir ay boyunca stabildir.

Örnek Alma ve Saklama

Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA ile birlikte serum veya plazma kullanılabilir. Venipunktür ile alındıktan sonra kanın pıhtılaşma için oda sıcaklığında (20 – 25°C) bekletilmesi ve ardından 10 dakika boyunca 1500 x g ile santrifüj edilmesi gerekir. 8 saat içinde hemen test yapılmıyorsa serum veya plazma 2 – 3 gün boyunca 2 – 8°C sıcaklıkta saklanabilir veya daha uzun süreyle saklanması ya da sevk edilmesi gerekiyorsa -20°C sıcaklıkta dondurulabilir (numuneler -20°C'de en az 1 yıl boyunca stabildir). Lityum Heparin, EDTA ve sitratlı plazma tahlil işlemine uygundur. Hemolize olmuş, ikterik, lipemik veya mikrobik olarak kontamine olmuş serumların test için kullanılmaması önerilir. Son olarak, test örneklerinin tekrarlayan dondurma-eritme döngüsüne maruz bırakılmaması gerekir.

Not: Sitratlı plazmada, plazma bileşenlerinin toplam konsantrasyonu, pıhtılaşmayı önlemek için kullanılan sitrat tamponu hacmi nedeniyle az miktarda düşebilir.

Reaktif ve Örnek Hazırlama

Reaktif Hazırlama

- Reaktif hacimleri numunelerin ikili olarak test edilmesine dayanılarak belirlenmiştir.
- Yıkama Çözeltilisi
Her bir 8 kuyucuklu strip için 96 ml deiyonize suya 4 ml Yıkama Konsantresi ekleyin.
Hazırlanan reaktif 2 – 8°C sıcaklıkta saklandığında 1 ay boyunca stabildir.
Hazırlanan reaktif ayrıca oda sıcaklığında 2 hafta boyunca stabildir.
- Biotin VP2
Kullanılan her bir 8 kuyucuklu strip için, 900 µl Biotin VP2 Seyrelticiye 100 µl Biotin VP2 Konsantresi ekleyin.
- Enzim Konjugatı
Kullanılan her bir 8 kuyucuklu strip için, 900 µl Enzim Konjugatı Seyrelticiye 100 µl Enzim Konjugatı Konsantresi ekleyin. Hazırlanan reaktif 2 – 8°C sıcaklıkta saklandığında 1 ay boyunca stabildir.

Diğer tüm reaktifler kullanıma hazır ve kullanılacak seyreltide temin edilmiştir.

Örnek Hazırlama

Her bir numune için etiketlenmiş test tüpüne veya dengine 1 ml Numune Seyreltici koyun. 10 µl serum veya plazma numunesi ekleyin ve karıştırın.

Not: Seyreltilmiş numuneler saklanmamalıdır, testin tekrar edilmesi gerekirse taze preparat kullanılmalıdır.

Tahlil İşlemi

Not: Otomatik bir cihaz kullanılıyorsa:

- plastik kapak/sızdırmaz bant gerekli değildir.
 - Plakanın yıkama sonrasında emici bir kağıt havluyla iyice suyunu almak gerekmez
1. Kullanım öncesinde tüm reaktif ve örneklerin bir inkübatörde oda sıcaklığında (20 – 25°C) dengeye ulaşmasını bekleyin.
 2. Gereken 8 kuyucuklu strip sayısını belirleyin. Kontroller ve numuneler için Şekil 1'de gösterildiği gibi bir tanımlama ve dağılım planı yapın (diğer yüzde). Birinci strip 1 hasta örneğini test etmek için uygundur, her ilave strip 4 hasta örneğinin daha test edilmesini sağlar.

Şekil 1 Strip 1

A	Negatif Kontrol
B	Negatif Kontrol
C	Pozitif Kontrol
D	Pozitif Kontrol
E	Kalibratör (Kesme Kontrolü)
F	Kalibratör (Kesme Kontrolü)
G	Hasta No. 1
H	Hasta No. 1

Reaktif hacimleri numunelerin ikili olarak test edilmesine dayanılarak belirlenmiştir. Tekli testlere başlamadan önce kullanıcıların performans özelliklerine aşina olmaları ve kendi laboratuvarlarında tahlili doğrulamaları önerilir.

3. İstenilen sayıdaki 8 kuyucuklu Ştripleri çıkartın, plastik bir çerçeveye yerleştirin ve plastik bir kapak/sızdırmaz bant ile kapatın. Kalan stripleri pakete geri koyun ve kurutucuyla birlikte paketi kapatın.
4. Yıkama Çözeltisini hazırlayın (bkz. "Reaktif ve Örnek Hazırlama").
5. Hasta serumunu hazırlayın (bkz. "Reaktif ve Örnek Hazırlama").
6. Striplerin kapağını çıkartın ve kullanıma hazır olan Negatif Kontrol, Pozitif Kontrol, Kalibratör (Kesme Kontrolü) ile hazırlanan hasta örneklerinden pipetle alarak kuyucuklara ikişer kez 100 µl koyun.

7. Kuyucukları plastik bir kapak/sızdırmaz bantla kapatın ve 60 dakika (+/-5 dakika) boyunca inkübatörde oda sıcaklığında (20 – 25°C) inkübe edin.
8. Kapağı çıkartın ve her kuyucuğu Yıkama Çözeltisiyle (250 – 320 µl) 4 kere yıkayın. Yıkama sonrasında emici bir kağıt havluyla plakadaki suyu iyice alın.
9. Biotin VP2'yi hazırlayın (bkz. "Reaktif ve Örnek Hazırlama").
10. Yıkama adımı tamamlandıktan hemen sonra her kuyucuğa hazırlanan Biotin VP2'den 100 µl ekleyin.
11. Kuyucukları plastik bir kapak/sızdırmaz bantla kapatın ve 30 dakika (+/-5 dakika) boyunca inkübatörde 35 – 39°C sıcaklıkta inkübe edin.
12. Kapağı çıkartın ve her kuyucuğu Yıkama Çözeltisiyle (250 – 320 µl) 4 kere yıkayın. Yıkama sonrasında emici bir kağıt havluyla plakadaki suyu iyice alın.
13. Enzim Konjugatını hazırlayın (bkz. "Reaktif ve Örnek Hazırlama").
14. Yıkama adımı tamamlandıktan hemen sonra IgM Enzimi Konjugatından pipetle 100 µl alarak kuyucuklara ekleyin.
15. Kuyucukları plastik bir kapak/sızdırmaz bantla kapatın ve 30 dakika (+/-5 dakika) boyunca inkübatörde 35 – 39°C sıcaklıkta inkübe edin.
16. Kapağı çıkartın ve her kuyucuğu Yıkama Çözeltisiyle (250 – 320 µl) 4 kere yıkayın. Yıkama sonrasında emici bir kağıt havluyla plakadaki suyu iyice alın.
17. Yıkama adımı tamamlandıktan hemen sonra Substrattan pipetle 100 µl alarak kuyucuklara ekleyin.
18. 30 dakika (+/- 2 dakika) boyunca inkübatörde 35 – 39°C sıcaklıkta inkübe edin.
19. Stop Çözeltisinden pipetle 100 µl alarak kuyucuklara ekleyin ve karıştırın. Yapılan her ilavenin Substrat eklenirken uygulanan sıralama ve zaman aralığı ile aynı olmasını sağlayın.
20. 30 dakika içinde bir ELISA plakası okuyucusuyla okuyun.

Not: Çift dalga boyu okumasının referans dalga boyu olarak 630 nm seçilerek 450 nm'de yapılması önerilir (630 nm filtre için boş referansı olarak havayı kullanın). ELISA plaka okuyucusunda bu fonksiyon mevcut değilse 450 nm'de tek dalga boylu okumayı kullanın.

Sonuçların yorumlanması

Anti-Parvovirus IgM varlığı veya yokluğu Kesme Değerine (COV) göre belirlenir.

COV Hesaplaması

COV = Kalibratörün Ortalama OD değeri (kesme kontrolü)

Yorumlama (1): Absorbans

Ortalama absorbans okuması COV x 1.1'den büyük olan numuneler anti-Parvovirus B19 IgM için reaktif (pozitif) olarak kabul edilirler.

Ortalama absorbans okuması COV x 0.9'dan küçük olan numuneler anti-Parvovirus B19 IgM için reaktif olmayan (negatif) kabul edilirler.

Ortalama absorbans okuması COV x 0.9'dan büyük veya buna eşit olan ya da COV x 1.1'den küçük veya buna eşit olan numunelerin durumu şüpheli olarak kabul edilir.

Not: Otomatik bir cihaz kullanılıyorsa bir tahlilden diğerine alınan sonuçlar sadece indeks değerleri kullanılarak karşılaştırılmalıdır (yorumlama 2'ye başvurun).

Yorumlama (2): İndeks Değeri

Farklı tahlil çalışmaları arasındaki verilerin karşılaştırılması, numune absorbansının tahlil kesme değerine bağıntılı olarak ifade edildiği indeks değeri kullanılarak kolaylaştırılmıştır. Bu durumda indeks değerinin <0.9 veya >1.1 olması, sırasıyla numunenin negatif veya pozitif olduğunu belirtir. İndeks değerinin 0.9 – 1.1 aralığında veya bu değerlere eşit olması belirsizliği gösterir.

$$\text{İndeks} = \frac{\text{Numune absorbansı}}{\text{Kesme Değeri (COV)}}$$

Reaktif (pozitif) olduğu veya reaktif olmadığı (negatif) belirlenemeyen numuneler şüpheli olarak nitelendirilir ve tekrar test edilmeleri gerekir. Tekrar edilen testin sonucu da şüpheli çıkarsa bir hafta sonra ikinci bir numune alınması gerekir. İkinci numunede sonucun şüpheli çıkması durumunda anti-Parvovirus B19 IgM için reaktif (pozitif) olduğu kabul edilebilir.

Kalite Kontrol Kriterleri

Test sonuçlarının geçerliliğini belirlemek için Pozitif Kontrol, Negatif Kontrol ve Kalibratör (Kesme Kontrolü) daima dahil edilmelidir. Bir tahlilin sonuçları aşağıdaki kriterlere uyuyorsa geçerli olarak kabul edilir.

1. Pozitif Kontrol için ortalama absorbans değeri 0.8 Optik Yoğunluk Biriminden büyük veya buna eşit.
2. Negatif Kontrol için ortalama absorbans değeri 0.15 Optik Yoğunluk Biriminden düşük veya buna eşit ve ayrıca COV x 0.9'un altında.

Yukarıdaki kriterler karşılanmıyorsa tahlil geçersiz sayılır ve tekrar edilmesi gerekir.

Kullanım sınırlamaları

- Parvovirus B19 enfeksiyonu tanısı koyulurken, sonuçların hastanın klinik ve epidemiyolojik profili ve diğer klinik laboratuvar sonuçları ile birlikte ele alınması gerekir.
- Reaktif olmayan (negatif) sonuçlar Parvovirus B19 enfeksiyonu olasılığını ortadan kaldırmaz. Parvovirus B19 enfeksiyonundan şüphelenilmesi durumunda, negatif sonucun iki hafta sonra tekrar test edilmesi gerekir.
- Diğer vücut sıvıları veya serum havuzları üzerinde yapılan testlerin sonuçlarının yorumlanmasını destekleyecek yeterli veri mevcut değildir.
- Test performansı işlemdeki, yorumlamalardaki veya tavsiye edilen önlemlerdeki sapmalardan etkilenebilir.
- Anti nükleer antikorlar içeren örneklerin Biotrin Parvovirus B19 IgM enzim immünoassay sonuçları şüpheli veya pozitif çıkabilir (Bkz. Bölüm: Performans Özellikleri).
- EBV IgM pozitif örneklerin de Biotrin Parvovirus B19 IgM enzim immünoassay sonuçları pozitif veya şüpheli çıkabilir (Bkz. Bölüm: Performans Özellikleri).
- Bağışıklığı zayıf olan hastalarda örneklerin test sonuçlarını yorumlamak zor olabilir.
- Tahlil performansı numunelerin ikili olarak test edilmesine dayanılarak doğrulanır. Hasta numunelerini tekli tahlil etmeye başlamadan önce laboratuvarlar personelinin performans özelliklerine aşina olmaları önerilir.

Performans Özellikleri

Hassasiyet ve Özgünlük

Üç ayrı Biotrin 4. Nesil Parvovirus B19 IgM EIA lotunda toplam 184 numune test edilmiştir. Numunelerin pozitif veya negatif oldukları 3. Nesil Parvovirus B19 IgM EIA kullanılarak belirlenmiştir. Pozitif olan numuneler öncelikle Parvovirus B19 enfeksiyonu ve/veya PCR ile bağlantılı klinik semptomlarla karakterize edilmiştir. Biotrin 3. Nesil Parvovirus B19 IgM EIA ve Biotrin 4. Nesil Parvovirus B19 IgM EIA kullanılarak elde edilen sonuçların karşılaştırması Tablo 1'de gösterilmiştir.

Biotrin Parvovirus B19 3. Nesil IgG EIA					
Biotrin		Pozitif	Negatif	Şüpheli	Toplam
Parvovirus B19 4. Nesil IgG EIA	Pozitif	100	0	0	100
	Negatif	0	84	0	84
	Şüpheli	0	0	0	0
	Toplam	100	84	0	184

Tablo 1: Biotrin 4. Nesil Parvovirus B19 IgM EIA için hassasiyet ve özgünlük hesaplamalarının Biotrin 3. Nesil Parvovirus B19 IgM EIA ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırması.

Bu hesaplamada FDA rehberinde önerildiği gibi şüpheli sonuçlar dahil edilmiştir.

Hassasiyet ve özgünlük yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

Hassasiyet = Gerçek Pozitifler (GP) bölü (GP + Hatalı Negatifler + Şüpheliler) x 100
% Hassasiyet = (100/100)*100 = %100

Özgünlük = Gerçek Negatifler (GN) bölü (GN + Hatalı Pozitifler + Şüpheliler) x 100
% Özgünlük = (84/84)*100 = %100

Tahlil içi Kopyalanabilirlik

Parvovirus B19 IgM seviyeleri bakımından reaktif olmayandan aşırı reaktif bir dizi serum örneklerinin her biri toplam otuz kere tahlil edildi. Tekrarlar tek bir ELISA plakası üzerinde test edildi. Sonuçta elde edilen OD değerleri toplandı ve ortalama OD değeri, standart sapma (SS) ve değişkenlik katsayısı yüzdesi (%CV) hesaplandı, Tablo 2. Bu sonuçlar ayrıca Tablo 3'te indeks değerleri cinsinden gösterildi.

Yüzde CV, reaktif olmayan bir örnek (Negatif 2) için %9.6 ila aşırı reaktif bir örnek için %4.7 aralığında, OD (indeks) cinsinden ifade edildi.

Test Örneği	Ortalama OD	SS	%CV	N
Aşırı R-A	1.452	0.068	4.7	30
Orta R-B	0.606	0.038	6.4	30
Az R-C	0.453	0.022	4.8	30
R Olmayan-D	0.022	0.022	8.1	30
R Olmayan-E	0.022	0.022	9.6	30

Tablo 2: Tahlil içi kopyalanabilirliğin, Parvovirus B19 IgM seviyeleri bakımından reaktif olmayandan aşırı reaktif 5 farklı serum örneği için yapılan 30 tekrarda OD cinsinden gösterimi.

Test Örneği	Ortalama OD	SS	%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

Tablo 3: Tahlil içi kopyalanabilirliğin, Parvovirus B19 IgM seviyeleri bakımından reaktif olmayandan aşırı reaktifte 5 farklı serum örneği için yapılan 30 tekrarda indeks değerleri cinsinden gösterimi.

Tahliller Arası Kopyalanabilirlik

Tahliller arası kopyalanabilirlik 3 ayrı Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA (4. Nesil) lotu kullanılarak araştırıldı. Aşırı reaktif (5), orta derece reaktif (2), düşük reaktif (6) ve reaktif olmayan (7) örnekleri içeren bir panel, her seride toplam 10 kere test edildi. Bunun sonucunda her numune için toplam numune büyüklüğü (n) 30 oldu.

Bu veriler tahliller arası ve seriler arası kopyalanabilirlik açısından analiz edildiğinde, Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA farklı tahliller ve farklı seriler arası test sonuçlarının korelasyonunda çok iyi performans gösterdi. Tüm 6 örnek için kopyalanabilirlik verileri Tablo 4'te verilmiştir.

Örnek Türü	Test Örnekleri	Ortalama İndeks	SS	%CV	N
Reaktif olmayan	CLB 80	0.1	0.01978	%20	30
Reaktif olmayan	CLB 36	0.1	0.025944	%24	30
Düşük reaktif	2908	2.0	0.301846	%15	30
Düşük reaktif	4923	1.5	0.246982	%16	30
Orta Derece reaktif	CLB 82	3.4	0.44587	%13	30
Aşırı reaktif	CLB 75	7.3	1.205097	%17	30

Tablo 4: Tahliller arası toplam kopyalanabilirlik. Veriler (indeksler) 3 ayrı Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA serisinden alınmıştır.

Testin Özgünlüğü

Biotrin Parvovirus B19 IgM enzim immünoassayin Özgünlüğü, Parvovirus 19 ile benzer klinik semptomlara neden olabilecek viral enfeksiyonu veya hastalığı olan hastalardan alınan örnekler test edilerek değerlendirilmiştir (Tablo 5).

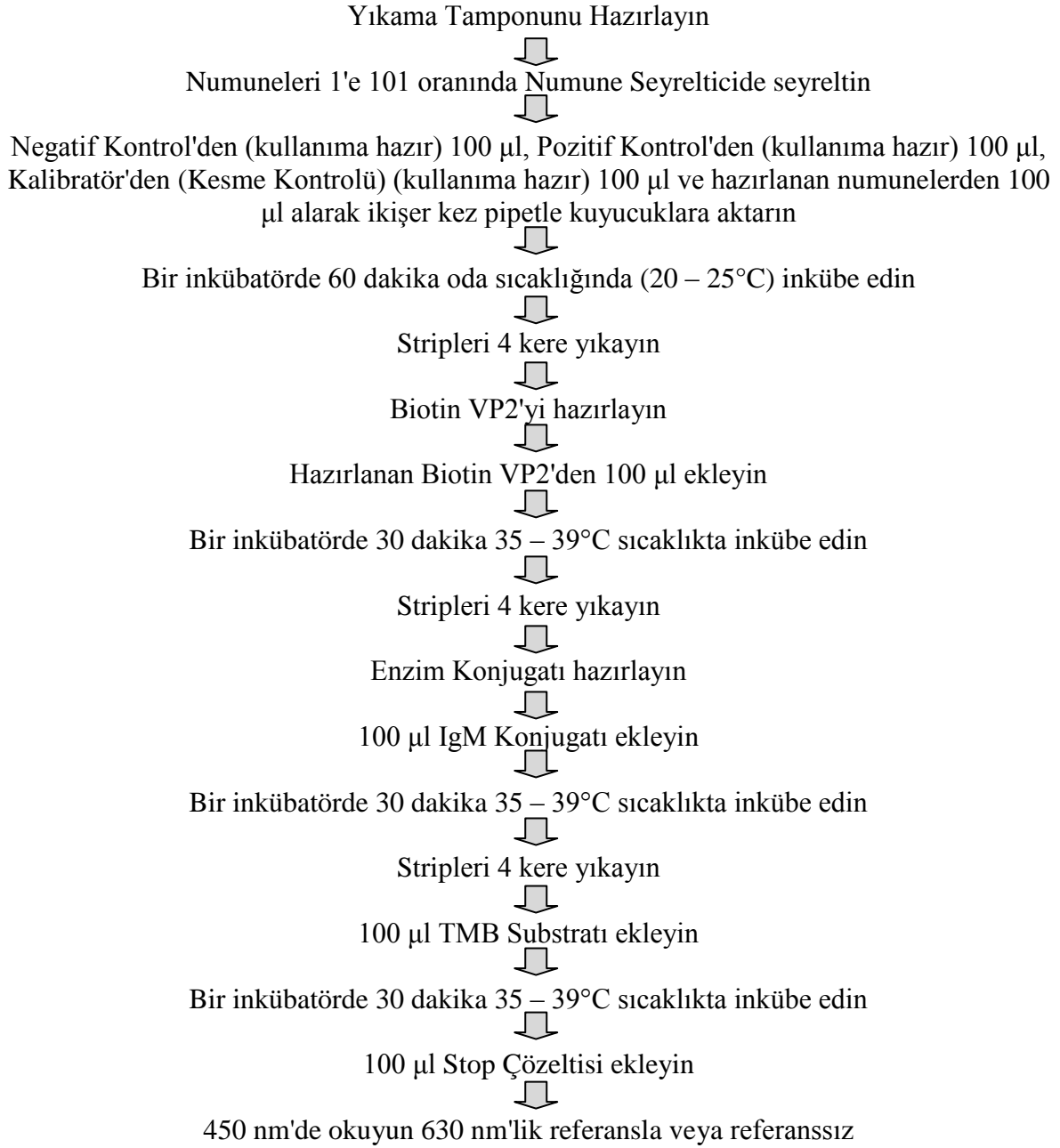
Test edilen örnekler	Pozitif olanların sayısı
Anti Nükleer Antikorlar (ANA)	1/10†
Otoimmün Hastalıklar	0/4
Sitomegalovirüs (CMV)	0/16
Epstein-Barr Virüsü (EBV)	1/32†
Hemoliz olmuş Örnek	0/3
Herpes Simpleks Virüsü (HSV)	0/2
Influenza B	0/5
Lipemik Örnek	0/3
Lupus eritematozus	0/6
Kabakulak virüsü	0/1
Mikoplazma	1/5†
Parainfluenza	0/1
Romatoid Faktör (RF)	0/15
Rubella virüsü	0/10
Toksoplazma gondii	0/14
Varisella Zoster Virüsü (VZV)	0/3

Tablo 5: Parvovirus B19 IgM enzim immünoassayin özgünlüğü.

† Biotrin 4. Nesil Parvovirus B19 IgM enzim immünoassayde reaktif olan EBV IgM, Mikoplazma IgM ve ANA örneklerin, Biotrin 3. Nesil Parvovirus B19 IgM enzim immünoassayde de reaktif oldukları gösterilmiştir. Bu nedenle, orijinal Parvovirus B19 IgM reaktivitesi ihtimali hariç tutulamaz.

Parvovirus B19 IgM EIA İşleminin Özeti

Tahlile başlamadan önce lütfen tüm talimat kitapçığını okuyun. Bu özet sadece kısa bir referans olması içindir.



Sembollerin Yorumlanması

In vitro tanısal tıbbi cihaz

IVD

Sıcaklık sınırlaması



Üretici



Kullanma talimatları



Son kullanma tarihi



Seri kodu

LOT

Katalog Numarası

REF

Bibliyografya

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 – 97, 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 it's 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
www.biotrin.com

Belge kodu: PEMIV-472-01 11/09