

**Česky**  
**Katalogové číslo: V519IG**  
**Formát soupravy: 12 x 8**  
**Kód dokumentu: PEGIV-461-01 08/09**



**Parvovirus B19 Enzymová imunoanalýza IgG**

Enzymová imunoanalýza pro kvalitativní stanovení IgG protilátek proti Parvoviru B19 v lidském séru a plasmě.

**CE**

## Obsah

Použití	3
Úvod	3
Princip metody	4
Bezpečnostní opatření	4
Bezpečnost	4
Postup	5
Součásti sady	6
Dodaný materiál	6
Další potřebný materiál	7
Automatické nebo semiautomatické procesory EIA	8
Skladování a stabilita	8
Odběr a uchovávání vzorků	8
Příprava reagensů a vzorků	9
Postup analýzy	10
Interpretace výsledků	12
Kritéria kontroly kvality	12
Omezení použití	13
Znaky analytické metody	14
Souhrn postupu při vyšetření IgG proti Parvoviru	17
Vysvětlení symbolů	18
Literatura	19

## Použití

Parvovirus B19 enzymová imunoanalýza IgG je určena ke kvalitativnímu stanovení IgG protilátek proti Parvoviru B19 v lidském séru a plasmě. Test je určen k použití u všech žen, u nichž je podezření na expozici Parvoviru B19 jako markeru předchozí infekce. Pozitivní výsledek na IgG proti Parvoviru B19 znamená imunitu. Negativní výsledek IgG proti Parvoviru je znamením náchylnosti k infekci Parvovirem B19. Spolu s enzymovou imunoanalýzou Biotrin Parvovirus B19 IgM pomáhá tento test v identifikaci rizika hydropsu fétu a odúmrťí fétu.

## Úvod

Parvovirus B19 byl poprvé identifikován jako lidský patogen v roce 1975 a poté bylo prokázáno, že je původcem mnoha klinických stavů, jako je vyrážka, artralgie a poškození fétu.<sup>1,2,3</sup> Infekce Parvovirem B19 u dospělých, především žen, může způsobit akutní artritidu, která může nějakou dobu přetrvávat.<sup>4</sup> Infekce může vést u pacientů s oslabenou imunitou a u jedinců trpících hemolytickými poruchami, jako je srpkovitá anémie, k život ohrožující anémii.<sup>5,6</sup>

Virus je dvacetistěnný nezabalený virus o průměru 18 – 25 nm a obsahuje genom v lineární jednovláknové DNA (5,5 kb), která je chráněna vnějším obalem.<sup>7,8</sup> Obal viru se skládá ze dvou strukturálních proteinů, VP1 (83kDA) a VP2 (53kDA). Infekce Parvovirem B19 se obvykle získává přímým kontaktem s respiračním sekretem a běžně k ní dochází v menších lokalizovaných epidemiích během zimních a jarních měsíců.<sup>8</sup>

Dnes se soudí, že seronegativní ženy jsou k infekci Parvovirem B19 náchylné.<sup>9,10</sup> Většina těhotenství, během nichž dojde k infekci Parvovirem B19, končí porodem zdravého dítěte v termínu.<sup>10,11,12</sup> Nicméně infekce během těhotenství však představuje riziko přenosu na fétus, což může mít za následek hydrops fétu nebo nitroděložní úmrtí. Podle odhadů v literatuře dochází k úmrtí fétu po infekci matky mezi 1 a 11 % případů.<sup>10,13,14,17</sup> Předpokládá se, že vzhledem k tomu, že se Parvovirus B19 replikuje především v prekursorech erytrocytů, může vést infekce během těhotenství k úmrtí fétu následkem těžké anémie fétu.

Předpokládá se, že tato těžká anémie s poklesem koncentrace hemoglobinu na méně než 2 g/dl je hlavní příčinou hydropsu fétu.<sup>15,16</sup> Nedávná studie ukazuje, že riziko úmrtí fétu je do značné míry omezeno na infekci matky Parvovirem B19 během prvních 20 týdnů těhotenství.<sup>17</sup>

V čerstvých literárních pramenech se odhaduje, že následkem infekce B19 dochází k přibližně 3 000 úmrtí fétů za rok.<sup>18</sup>

Symptomy spojené s infekcí Parvovirem B19 mohou být patrné až po skončení viremické (nakažlivé) fáze.<sup>10</sup> Je dále známo, že existuje zvýšené riziko přenosu v situacích, kdy je pravděpodobný úzký kontakt mezi jedinci, např. ve školách, zařízeních pečovatelské služby a nemocnicích.

Centra pro kontrolu nemocí (CDC) nedoporučují, aby osoby se známkami infekce Parvovirem (např. erythema infectiosum) byly z takového prostředí vylučovány. Doporučuje se však, aby byli příslušní jedinci uvědoměni o možnosti přenosu onemocnění.<sup>10</sup>

Rovněž je důležité zjišťovat stav protilátek proti Parvoviru B19 u jedinců, u nichž hrozí riziko onemocnění Parvovirem B19 nebo kteří již byli infikováni.

## Princip metody

Enzymová imunoanalýza Biotrin Parvovirus B19 IgG je sendvičová enzymová imunoanalýza ke zjištění protilátek třídy IgG proti Parvoviru B19 v lidském séru a plasmě. Specifické protilátky IgG proti Parvoviru B19, pokud jsou přítomny v séru nebo plasmě, se vážou na jamky potažené rekombinantním proteinem VP2 Parvoviru B19. Po vymytí je přidána králičí protilidská IgG značená peroxidázou, která se váže k přítomné lidské IgG proti Parvoviru B19. Celý komplex se pak detekuje přidáním substrátu tetramethylbenzidinu (TMB), který v přítomnosti peroxidázy mění barvu na modrou. Přidáním zastavovacího činidla je získán stabilní žlutý konečný produkt.

## Bezpečnostní opatření

### Bezpečnost

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Reagencie označené \*\* jsou považovány za POTENCIÁLNĚ BIOLOGICKY NEBEZPEČNÝ MATERIÁL. Každá dárcovská jednotka při přípravě pozitivní kontroly, negativní kontroly a kalibrátoru (kontrola cut-off) byla testována metodou schválenou FDA na HBsAg a na protilátky proti HIV a HCV a byla shledána negativní. Nicméně, protože žádná testovací metoda nemůže úplně zajistit, že infekční agens není přítomno, musí se se všemi těmito reagensy nakládat podle 2. stupně biologické ochrany, jak se doporučuje v příručce CDC/NIH Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1988, pro všechna potenciálně infekční lidská séra a krevní vzorky.
- Některé reagencie obsahují ProClin 950, ProClin 300 a Bronidox L, které mohou být po požití jedovaté.
- Zastavovací roztok obsahuje kyselinu sírovou, což je žíravina. Zabraňte kontaktu s kůží a očima. Pokud dojde ke kontaktu, okamžitě opláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc.
- Substrát obsahuje TMB, který může dráždit kůži a sliznice. Jakákoli látka, která přijde do kontaktu s kůží, musí být opláchnuta vodou.
- Všechny klinické vzorky, infekční a potenciálně infekční materiál likvidujte podle správné laboratorní praxe. S veškerým takovým materiálem musí být nakládáno jako s potenciálně infekčním a musí být likvidován jako potenciálně infekční.
- Při manipulaci se vzorky a při provádění analýzy noste ochranný oděv, jednorázové latexové rukavice a ochranu očí. Po skončení si důkladně umyjte ruce.
- Materiál nepipetujte ústy a u laboratorního stolu nikdy nejezte ani nepijte.
- Zbytky chemikálií, přípravků a součástí sady jsou obecně považovány za nebezpečný odpad. Všechny takové materiály musejí být likvidovány podle stanovených bezpečnostních postupů.
- Sada je určena pro použití pouze kvalifikovanými laboratorními pracovníky.

## *Postup*

- Provádění analýzy mimo uvedené časové a teplotní limity může vést k neplatným výsledkům. Analýzy mimo stanovené časové a teplotní limity musejí být opakovány.
- Nepoužívejte sadu ani jednotlivé reagentie po uplynutí jejich data použitelnosti.
- Nesměšujte ani nedoplňujte reagentie ze sad s různými čísly šarže, s výjimkou vymývacího koncentrátu, ředícího roztoku na vzorky a zastavovacího roztoku.
- Odchýlení od dodaného protokolu může způsobit chybné výsledky.
- Všechny reagentie nechejte před použitím ohřát na pokojovou teplotu (20 – 25 °C) v inkubátoru a dobře promíchejte.
- Nevystavujte reagentie na delší dobu přímému slunečnímu záření ani teplotám nad 2 – 8 °C.
- Pro vymývací roztok je potřebná destilovaná nebo deionizovaná voda vysoké jakosti. Použití vody špatné jakosti nebo kontaminované vody může vést při analýze ke zbarvení pozadí.
- Pro všechny reagenční přípravky vždy používejte čisté, nejlépe jednorázové, skleněné nádoby.
- Je nutno dbát na to, aby nedošlo ke kontaminaci komponent; vždy je nutno používat pro každý vzorek a komponentu nové špičky pipety.
- Konjugát odebírejte pouze v množství nezbytném pro analýzu. Nenalévejte nepoužitou reagentii zpět do láhve, ani ji nepipetujte přímo z láhve. Mohlo by totiž dojít ke kontaminaci.
- Protože je konjugát citlivý na světlo, je nutno zabránit déletrvajícímú vystavení světlu.
- Reagentie by měla být dávkována ke středu stěny jamek, přitom je nutno dbát, aby se stěna jamky nepoškrábala špičkou pipety.
- Během žádné fáze analýzy nenechejte jamky vyschnout.
- Na horním povrchu jamek nikdy nesmějí být kapénky. Při dokončení kroku v postupu musejí být kapky jemně vysušeny.
- Zajistěte, aby byl dolní povrch destičky před odečítáním čistý a suchý.
- Před započítím analýzy by měl být stanoven plán identifikace a distribuce.
- Pokud používáte automatický nebo semiautomatický procesor, je důležité prokázat shodu s manuální testovací metodou pro produkt Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA.

## Součásti sady

### *Dodaný materiál*

1. Potažená destička ELISA

12 x 8 jamek potažených purifikovaným rekombinantním proteinem V2. Destička je uložena v obalu, který lze znovu těsně uzavřít.

PLA	IgG
-----	-----

Modrý okraj

2. Pozitivní kontrola\*\*

1 x 3 ml pozitivního séra ve stabilizačním pufru s ProClin 950 (0,05 %) a Bronidox L. (0,02 %).

CONTROL	+	IgG
---------	---	-----

Červený uzávěr

3. Negativní kontrola\*\*

1 x 3 ml negativního séra ve stabilizačním pufru s ProClin 950 (0,05 %) a Bronidox L. (0,02 %).

CONTROL	-	IgG
---------	---	-----

Zelený uzávěr

4. Kalibrátor (kontrola cut-off\*\*)

1 x 3 ml pozitivního séra s ProClin 950 (0,05 %) a Bronidox L. (0,02 %).

CAL
-----

Hnědý uzávěr

5. Enzymový konjugát – připraven k použití

1 x 17 ml králičího protilidského konjugátu IgG HRP ve stabilizačním pufru s ProClin 950 (0,05 %) a Bronidox L. (0,02 %).

CONJ	ENZ	1X
------	-----	----

Červený uzávěr

6. Ředidlo na vzorky – připraveno k použití

1 x 110 ml PBS pufru obsahujícího stabilizátory a ProClin 300 (0,05 %).

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

Průhledný uzávěr

7. Vymývací koncentrát

1 x 55 ml koncentrovaného (25X) fyziologického roztoku pufrovaného Tris s Tween 20 a ProClin 950 (0,15 %).

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

Průhledný uzávěr

8. Substrát

1 x 17 ml roztoku tetramethylbenzidenu (TMB).

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

Hnědý uzávěr

9. Zastavovací roztok  
1 x 17 ml 0,5 mol/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

SOLN | STP

Průhledný uzávěr

10. Návod k použití



\*\* Potenciálně biologicky nebezpečný materiál

### ***Další materiál potřebný pro manuální Zpracování***

- Zařízení na odběr séra,
- Vysoce jakostní destilovaná nebo deionizovaná voda,
- Přesné pipety, mikropipety a jednorázové špičky pro objemy 10 µl, 100 µl, 1 ml a 5 ml,
- Zkumavky či podobné nádoby pro přípravu vzorků,
- Čisté laboratorní odměrné nádoby,
- Odměrné válce
- Plastová víčka nebo uzavírací páska pro destičku s mikrojamkami,
- Papírové ručníky nebo savý papír,
- Časovač,
- Manuální nebo automatická myčka,
- Čtečka desky ELISA s filtrem 450 nm (další filtr 630 – 650 nm je volitelný),
- Inkubátor 37 °C.

## **Automatické nebo semiautomatické procesory EIA**

Biotrin Parvovirus IgG EIA mohou být použity s řadou automatických nebo semiautomatických ELISA procesorů. Je důležité, aby byly výsledky získané z Biotrin Parvovirus IgG EIA za použití automatického procesoru ekvivalentní výsledkům získaným ze stejných vzorků s použitím manuální testovací metody.

### **Skladování a stabilita**

- Sada je stabilní až do data použitelnosti uvedeného na štítku na vnější krabici, pokud je skladována při teplotě mezi 2 – 8 °C.
- Proužky pro 8 jamek by měly být skladovány v obalu, který lze znovu těsně uzavřít, spolu se sáčkem se sušidlem.
- Všechny nepoužité součásti by měly být ihned po použití vráceny k uskladnění při teplotě 2 – 8 °C.
- Vymývací roztok je stabilní po dobu 1 měsíce, pokud je skladován při teplotě 2 – 8 °C.
- Vymývací roztok je stabilní při pokojové teplotě po dobu 2 týdnů.

### **Odběr a uchovávání vzorků**

V testu s Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA může být použito sérum nebo plasma. Krev by po odběru měla být ponechána, aby koagulovala, při pokojové teplotě (20 – 25 °C) a poté by měla být zcentrifugována při 1 500 x g po dobu 10 minut. Pokud k testování nedojde během 8 hodin, sérum či plasma mohou být ponechány při 2 – 8 °C po dobu 2 – 3 dnů nebo zmrazeny při teplotě –20 °C, pokud je nutné dlouhodobější skladování nebo odeslání (vzorky jsou stabilní při teplotě –20 °C po dobu nejméně 1 roku). Lithium heparin, EDTA a citrátová plasma jsou kompatibilní s testovacím postupem. Doporučuje se, aby pro testování nebyla používána hemolytická, ikterická, lipemická a mikrobiálně kontaminovaná séra. Vzorky pro testování nesmějí být opakovaně zmrazovány a rozmrazovány.

**Poznámka:** Celková koncentrace všech plasmatických komponent může být lehce snížena v citrátové plasmě kvůli objemu citrátového pufru použitého k prevenci koagulace.

## **Příprava reagensů a vzorků**

### ***Příprava reagensů***

- Objemy reagensů jsou založeny na dvojnásobném testování vzorků.
- Vymývací roztok.  
Pro každý proužek na 8 jamek přidejte 4 ml vymývacího koncentrátu k 96 ml deionizované vody. Připravená reagensie je stabilní po dobu 1 měsíce, pokud je skladována při teplotě 2 – 8 °C.  
Připravená reagensie je stabilní také při pokojové teplotě po dobu 2 týdnů.
- Všechny ostatní reagensie jsou dodávány připravené k použití a v pracovním ředění.

### ***Příprava vzorku***

Pro každý vzorek přidejte 1 ml ředícího roztoku na vzorky do označené zkumavky či podobné nádoby. Přidejte 10 µl vzorku séra nebo plasmy a promíchejte.

**Poznámka:** Ředěné vzorky nesmějí být skladovány; pokud je nutné opakovat test, musí být připraven čerstvý roztok.

## Postup analýzy

Poznámka: Pokud používáte automatický přístroj:

- Plastové víčko/uzavírací páska nejsou nutné.
- Po vymytí není nutno na desku pevně přitlačit papírový ručník.

1. Před použitím nechejte všechny reagentie a vzorky v inkubátoru ohřát na pokojovou teplotu (20 – 25 °C).
2. Určete počet potřebných proužků na 8 jamek. Stanovte plán identifikace a distribuce pro kontroly a vzorky, jak je uvedeno na obrázku 1 (na druhé straně). První proužek vyhovuje pro testování vzorku 1 pacienta, každý další proužek umožní testování vzorků dalších 4 pacientů.

Obrázek 1 Proužek 1

<b>A</b>		Negativní kontrola
<b>B</b>		Negativní kontrola
<b>C</b>		Pozitivní kontrola
<b>D</b>		Pozitivní kontrola
<b>E</b>		Kalibrátor (kontrola cut-off)
<b>F</b>		Kalibrátor (kontrola cut-off)
<b>G</b>		Pacient č. 1
<b>H</b>		Pacient č. 1

Objemy reagentií jsou založeny na dvojím testování vzorků. Doporučujeme, aby se uživatelé seznámili se znaky analytické metody a validovali analýzu ve vlastní laboratoři před započítáním samotného testování.

3. Vyjměte potřebný počet proužků na 8 jamek, vložte je do plastového rámečku a zakryjte plastovým víčkem/uzavírací páskou. Zbývající proužky vraťte do obalu a znovu je uzavřete spolu se sikativem.
4. Připravte vymývací roztok (viz část Příprava reagentií a vzorků).
5. Připravte vzorek pacienta (viz část Příprava reagentií a vzorků).
6. Sejměte kryt z proužků a napipetujte 100 µl (ve dvojím provedení) negativní kontroly připravené k použití, pozitivní kontroly připravené k použití, kalibrátoru (kontroly cut-off) připraveného k použití a připravených vzorků pacientů do jamek.

7. Zakryjte jamky plastovým víčkem/uzavírací páskou a inkubujte po dobu 60 minut (+/-5 minut) v inkubátoru při pokojové teplotě (20 – 25 °C).
8. Sejměte kryt a každou jamku vymyjte 4krát vymývacím roztokem (250 – 320 µl). Po vymytí vyklepejte zbytky vymývacího roztoku na absorpční papírový ručník nebo na savý papír.
9. Ihned po dokončení vymývání napipetujte 100 µl enzymového konjugátu IgG do všech jamek.
10. Zakryjte jamky plastovým víčkem/uzavírací páskou a inkubujte po dobu 30 minut (+/-5 minut) v inkubátoru při teplotě 35 – 39 °C.
11. Sejměte kryt a každou jamku vymyjte 4krát vymývacím roztokem (250 – 320 µl). Po vymytí vyklepejte zbytky vymývacího roztoku na absorpční papírový ručník nebo na savý papír.
12. Ihned po dokončení vymývání napipetujte 100 µl substrátu do všech jamek.
13. Inkubujte po dobu 30 minut (+/-2 minuty) v inkubátoru při teplotě 35 – 39 °C.
14. Napipetujte 100 µl zastavovacího roztoku do všech jamek a promíchejte. Zajistěte, aby přidávání probíhalo ve stejném pořadí a ve stejných časových intervalech jako přidání substrátu.
15. Do 30 minut odečtěte čtečkou desek ELISA.

**Poznámka:** Doporučujeme odečítání při dvojí vlnové délce, při 450 nm s 630 nm jako referenční vlnovou délkou (jako slepý vzorek použijte pro filtr 630 nm vzduch). Pokud tato funkce není na čtečce destičky ELISA dostupná, použijte při odečtu jedinou vlnovou délku 450 nm.

## Interpretace výsledků

Přítomnost či nepřítomnost IgG anti-Parvovirus je stanovena ve vztahu k vypočtené cut-off hodnotě (COV).

### *Výpočet COV*

COV = střední OD (optická hustota) kalibrátoru (kontrola cut-off)

### *Interpretace (1): Absorbance*

Vzorky s hodnotou střední absorbance větší než  $COV \times 1,1$  jsou považovány za reaktivní (pozitivní) pro anti-Parvovirus B19 IgG.

Vzorky s hodnotou střední absorbance menší než  $COV \times 0,9$  jsou považovány za nereaktivní (negativní) pro anti-Parvovirus B19 IgG.

Vzorky s hodnotou střední absorbance větší nebo rovnou  $COV \times 0,9$  a menší nebo rovnou  $COV \times 1,1$  jsou neprůkazné.

**Poznámka:** Při použití automatického přístroje by výsledky z různých analýz měly být srovnávány pouze s použitím indexových hodnot (viz interpretace 2).

### *Interpretace (2): Indexová hodnota*

Srovnání dat mezi různými měřeními je usnadněno použitím indexové hodnoty, přičemž je absorbance vzorku vztažena ke cut-off hodnotě analýzy. V tomto případě indexová hodnota  $< 0,9$  nebo  $> 1,1$  znamená negativitu či pozitivitu vzorku v daném pořadí. Vzorek je neprůkazný, pokud je indexová hodnota v rozmezí  $0,9 - 1,1$  včetně.

$$\text{Index} = \frac{\text{Absorbance vzorku}}{\text{Hodnota cut-off (COV)}}$$

Vzorky, které nejsou ani reaktivní (pozitivní) ani nereaktivní (negativní), jsou považovány za neprůkazné a měly by být testovány znovu. Pokud je výsledek opakovaného testu opět neprůkazný, měl by být po týdnu odebrán druhý vzorek. Neprůkazný výsledek druhého vzorku může být u anti-Parvovirus B19 IgG považován za nereaktivní (negativní).

## Kritéria kontroly kvality

Ke stanovení validity výsledků testů musí být vždy zahrnuta pozitivní kontrola, negativní kontrola a kalibrátor (kontrola cut-off). Výsledky analýzy jsou považovány za validní, pokud jsou splněna následující kritéria.

1. Střední absorbance pozitivní kontroly je větší nebo rovna 0,8 jednotek optické hustoty.
2. Střední absorbance negativní kontroly je menší nebo rovna 0,15 jednotek optické hustoty a také je menší než  $COV \times 0,9$ .

Pokud nejsou výše uvedená kritéria splněna, je analýza pokládána za neplatnou a musí být opakována.

## Omezení použití

- Při stanovení diagnózy infekce Parvovirem B19 musí být výsledky korelovány s klinickým a epidemiologickým profilem pacienta a dalšími laboratorními výsledky.
- Nereaktivní (negativní) výsledek nevylučuje možnost infekce Parvovirem B19. K vývoji zjištělné protilátkové odpovědi může dojít za několik dnů po infekci. V případě podezření na infekci Parvovirem B19 měl by být po negativním výsledku proveden po dvou týdnech opakovaný test.
- Pro interpretaci výsledků provedených v jiných tělesných tekutinách nebo ve směsi sér nejsou k dispozici dostatečné údaje.
- Test výkonnosti může být ovlivněn odchýlením od postupu, interpretace nebo doporučených bezpečnostních opatření.
- Interpretace výsledků testů ze vzorků pacientů s poruchou imunity může být obtížná.
- Výkonnost analýzy byla validována na základě dvojího testování vzorků. Doporučujeme, aby se laboratorní pracovníci před analyzováním patientských vzorků v singletech seznámili se znaky analytické metody.

## Znaky analytické metody

### *Seroprevalence*

Seroprevalence Parvoviru B19 roste s věkem. Do dospělosti je přibližně 70 % dospělé populace seropozitivní.

### *Citlivost a specificita*

Imunoanalýza Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA může být také použita k detekci WHO Parvoviru B19 IgG International Standard (Mezinárodní standard – IS). Cut-off hodnoty imunoanalýzy tohoto enzymu se rovnají hladině IS 3 – 5 IU/ml.<sup>19</sup>

Celkem 175 vzorků bylo testováno na třech samostatných šaržích Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA 4. generace. Vzorky byly označeny jako pozitivní nebo negativní s použitím Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA 3. generace. Srovnání výsledků získaných u Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA 3. generace a u Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA 4. generace je uvedeno v tabulce 1.

<b>Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA 3. generace</b>					
		<b>Pozitivní</b>	<b>Negativní</b>	<b>Neprůkazný</b>	<b>Celkem</b>
<b>Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA 4. generace</b>	<b>Pozitivní</b>	95	0	0	95
	<b>Negativní</b>	0	80	0	80
	<b>Neprůkazný</b>	0	0	0	0
	<b>Celkem</b>	95	80	0	175

**Tabulka 1:** Výpočty citlivosti a specificity u Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA 4. generace ve srovnání s výsledky u Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA 3. generace

Do tohoto výpočtu byly zahrnuty neprůkazné výsledky podle doporučení ve směrnici FDA.

citlivost = skutečně pozitivní (SP) děleno (SP + falešně negativní + neprůkazné) x 100

**Citlivost v % = (95/95)\*100 = 100 %**

citlivost = skutečně negativní (SN) děleno (SN + falešně pozitivní + neprůkazné) x 100

**Citlivost v % = (80/80)\*100 = 100 %**

### **Reprodukovatelnost uvnitř stanovení**

Série vzorků séra s hladinou IgG proti Parvoviru B19 v rozsahu od nereaktivních po silně reaktivní byla vyšetřena celkem třicetkrát. Replikáty byly testovány na jediné destičce ELISA. Byly sečteny výsledné hodnoty OD a vypočteny střední OD, směrodatná odchylka ( $\sigma$ , SD) a variační koeficient v procentech (% CV), viz tabulku 2. Tyto výsledky jsou rovněž uvedeny v indexových hodnotách v tabulce 3. CV v procentech vyjádřený v OD (indexy) byl rozsahu od 6,3 % v nereaktivním vzorku (negativní 2) do 4,3 % při vyšších hodnotách OD (vysoce pozitivní).

Testovaný vzorek	Střední OD	SD	% CV	N
Negativní 1	0,048	0,002978	6,2	30
Negativní 2	0,032	0,001999	6,3	30
Nízce pozitivní	0,329	0,016497	5,0	30
Středně pozitivní	0,648	0,035633	5,5	30
Vysoce pozitivní	1,431	0,061902	4,3	30

**Tabulka 2:** Reprodukovatelnost uvnitř stanovení vyjádřená v OD u 30 replikátů z každého z 5 různých vzorků séra s rozsahem hladiny IgG proti Parvoviru B19 od nereaktivních k silně reaktivním.

Testovaný vzorek	Střední index	SD	% CV	N
Negativní 1	0,26	0,016185	6,2	30
Negativní 2	0,20	0,012415	6,3	30
Nízce pozitivní	1,79	0,089659	5,0	30
Středně pozitivní	4,02	0,221321	5,5	30
Vysoce pozitivní	7,78	0,336426	4,3	30

**Tabulka 3:** Reprodukovatelnost uvnitř stanovení vyjádřená v indexových hodnotách u 30 replikátů z každého z 5 různých vzorků séra s rozsahem hladiny IgG proti Parvoviru B19 od nereaktivních k silně reaktivním.

### **Reprodukovatelnost mezi stanoveními**

Reprodukovatelnost mezi stanoveními byla zjišťována s použitím 3 šarží Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA (4. generace). Panel vzorků obsahující silně reaktivní (4), středně reaktivní (2), slabě reaktivní (7) a nereaktivní (7) vzorky byl testován s každou šarží celkem 10krát. To mělo za následek celkový počet analýz (n) 30 pro každý vzorek.

Když se tyto údaje analyzují z hlediska reprodukovatelnosti mezi stanoveními a mezi šaržemi, vykazuje Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA velmi dobrou korelaci výsledků testů mezi jednotlivými analýzami a jednotlivými šaržemi. Údaje o reprodukovatelnosti u všech 6 testovaných vzorků jsou uvedeny v tabulce 4.

Typ vzorku	Testovaný vzorek	Střední index	SD	% CV	N
Nereaktivní	14	0,21	0,03635	17,5	30
Nereaktivní	17	0,24	0,03783	16,0	30
Slabě reaktivní	2	1,73	0,16797	9,7	30
Slabě reaktivní	4	1,68	0,23728	14,1	30
Středně reaktivní	16	3,00	0,28735	9,6	30
Silně reaktivní	7	7,38	0,63950	8,7	30

**Tabulka 4:** Celková reprodukovatelnost mezi stanoveními. Údaje (indexy) shromážděné ze 3 šarží Biotrin Parvovirus B19 IgG EIA.

## Souhrn postupu při testování Parvovirus B19 IgG EIA

Než zahájíte analýzu, přečtěte si prosím celý leták s pokyny k produktu. Tento souhrn slouží pouze jako stručná reference.

↓  
Připravte vymývací pufr.

↓  
Zřed'te vzorky ředicím roztokem na vzorky 1:100 (1/101)

↓  
Napipetujte 100 µl negativní kontroly (připravené k použití), 100 µl pozitivní kontroly (připravené k použití), 100 µl kalibrátoru (připraveného k použití) (kontrola cut-off) a 100 µl připravených vzorků ve dvojím provedení do jamek.

↓  
Inkubujte po dobu 60 minut v inkubátoru při pokojové teplotě 20 – 25 °C.

↓  
Proužky 4krát promyjte.

↓  
Přidejte 100 µl enzymového konjugátu IgG.

↓  
Inkubujte po dobu 30 minut v inkubátoru při teplotě 35 – 39 °C.

↓  
Proužky 4krát promyjte.

↓  
Přidejte 100 µl substrátu TMB.

↓  
Inkubujte po dobu 30 minut v inkubátoru při teplotě 35 – 39 °C.

↓  
Přidejte 100 µl zastavovacího roztoku.

↓  
Odečtete při 450 nm.

S referencí při 630 nm nebo bez ní.

## Vysvětlení symbolů

-*In Vitro* diagnostický zdravotnický prostředek

**IVD**

-Teplotní rozmezí od do



-Výrobce



-Viz návod k použití



-Použitelné do



-Číslo šarže

**LOT**

-Katalogové číslo

**REF**

## Literatura

1. Cossart YE, Field AM, Cant B, et al.: Parvovirus – Like Particles in Human Sera. *The Lancet*, 1: 72 – 73, 1975.
2. Anderson MJ, Higgens 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, Khousam 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
19. Searle K, Gulliard C, Enders G, et al.: Parvovirus B19 Diagnosis in Pregnant Women – Quantification of IgG Antibody Levels (IU/ml) with Reference to the International Parvovirus B19 Standard Serum. Infection 25: 32-34, 1997.



**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**

**Kód dokumentu: PEGIV-461-01 08/09**