

**Latviešu valoda**  
**Kataloga numurs: V519IG**  
**Iepakojuma veids: 12 x 8**  
**Dokumenta kods: PEGIV-462-01 08/09**



**Parvovīrusa B19 IgG imūnfermentatīvā analīze**

Imūnfermentatīvā analīze parvovīrusa B19 IgG antivielu noteikšanai cilvēka asins serumā un plazmā.

**CE**

## Saturs

Pielietojums	3
Ievads	3
Analīzes princips	4
Piesardzība	4
Drošība	4
Procedūras	5
Komplekta sastāvdaļas	6
Piegādātie materiāli	6
Nepieciešamie papildu materiāli	7
Automātiskie vai pusautomātiskie EIA analizatori	7
Uzglabāšana un stabilitāte	8
Paraugu savākšana un uzglabāšana	8
Reaģentu un paraugu sagatavošana	8
Analīzes procedūra	9
Rezultātu interpretācija	11
Kvalitātes kontroles kritēriji	11
Lietošanas ierobežojumi	12
Darbības raksturojums	12
Parvovīrusa IgG procedūras kopsavilkums	15
Simbolu skaidrojums	16
Bibliogrāfija	17

## Pielietojums

Parvovīrusa B19 IgG imūnfermentatīvā analīze ir paredzēta parvovīrusa B19 IgG antivielu kvalitatīvai noteikšanai cilvēka asins serumā un plazmā. Tests ir indicēts visām sievietēm, ja ir aizdomas par saskarsmi ar parvovīrusu B19; tas ir iepriekš pārslimotas infekcijas marķieris. Pozitīvs parvovīrusa B19 IgG testa rezultāts liecina par izveidojušos imunitāti. Negatīvs parvovīrusa IgG testa rezultāts liecina par uzņēmību pret parvovīrusa B19 infekciju. Kombinācijā ar Biotrin parvovīrusa B19 IgM imūnfermentatīvo analīzi šis tests var palīdzēt noteikt *hydrops fetalis* vai augļa nāves risku.

## Ievads

Parvovīrusu B19 kā cilvēka patogēnu pirmo reizi atklāja 1975. gadā, un vēlāk tika konstatēta tā cēloniskā saistība ar vairākiem klīniskiem simptomiem, piemēram, izsitumiem, artralģijām un augļa bojājumu.<sup>1,2,3</sup>

Parvovīrusa B19 infekcija pieaugušajiem, jo īpaši sievietēm, var izraisīt akūtu artrītu, kas kādu laiku saglabājas.<sup>4</sup> Infekcija var izraisīt dzīvībai bīstamu anēmiju imūnkompromitētiem pacientiem un cilvēkiem ar hemolītiskām slimībām, piemēram, sirpjveida šūnu anēmiju.<sup>5,6</sup>

Vīruss ir ikosaedrisks, bez apvalka, 18-25 nm diametrā un satur lineāru, vienpavediena DNS genomu (5,5 kb), ko ietver ārējais kapsīds.<sup>7,8</sup> Vīrusa kapsīds sastāv no diviem strukturāliem proteīniem – VP1 (83 kDA) un VP2 (53 kDA). Parasti inficēšanās ar parvovīrusu B19 notiek tieša kontakta ceļā ar elpošanas ceļu sekrētiem, ko visbiežāk novēro ziemas un pavasara mēnešos.<sup>8</sup>

Pastāv uzskats, ka seronegatīvas sievietes ir uzņēmīgas pret parvovīrusa B19 infekciju.<sup>9,10</sup> Lielākoties grūtniecības, kuru laikā attīstās parvovīrusa B19 infekcija, beidzas ar savlaicīgām dzemdībām un vesela bērna piedzimšanu.<sup>10,11,12</sup> Taču infekcija grūtniecības laikā rada augļa inficēšanās risku,

kas var izraisīt *hydrops fetalis* vai intrauterīnu augļa nāvi. Literatūras dati liecina, ka ~1-11% gadījumu mātes infekcija izraisa augļa nāvi.<sup>10,13,14,17</sup> Pastāv uzskats, ka, tā kā parvovīruss B19 galvenokārt replicējas eritrocītu priekštečos, infekcija grūtniecības laikā var izraisīt augļa nāvi sakarā ar smagu augļa anēmiju. Uzskata, ka šī smagā anēmija, kuras gadījumā hemoglobīna līmenis ir mazāks par 2 g/dl, ir primārais *hydrops fetalis* cēlonis.<sup>15,16</sup> Jaunākā pētījuma dati liecina, ka augļa nāve ir lielā mērā saistīta ar mātes inficēšanos ar parvovīrusu B19 pirmajās 20 grūtniecības nedēļās.<sup>17</sup>

Jaunākās literatūras dati norāda, ka gada laikā apmēram 3000 augļa nāves gadījumu rodas B19 infekcijas dēļ.<sup>18</sup>

Ar parvovīrusu B19 saistītie simptomi parādās tikai pēc virēmijas fāzes, kuras laikā pacients ir kontagiozs.<sup>10</sup> Turklāt ir zināms, ka inficēšanās risks ir augstāks, ja starp indivīdiem pastāv ciešs kontakts, piemēram, skolās, dienas aprūpes centros un slimnīcās.

Slimību kontroles centrs (*Centres for Disease Control*) neiesaka izolēt cilvēkus ar parvovīrusa infekcijas simptomiem (piemēram, infekciozo eritēmu) no šādām vietām. Taču ieteicams informēt visus iesaistītos cilvēkus par inficēšanās iespēju.<sup>10</sup>

Tādēļ ir svarīgi noteikt parvovīrusa B19 antivielas cilvēkiem, kuriem pastāv inficēšanās risks vai kuri ir bijuši inficēti ar parvovīrusu B19.

## Analīzes princips

Biotrin parvovīrusa B19 IgG imūnfermentatīvā analīze ir daudzslāņu imūnfermentatīvā analīze IgG klases antivielu pret parvovīrusu B19 noteikšanai cilvēka asins serumā un plazmā. Ja serumā vai plazmā būs specifiskās parvovīrusa B19 IgG antivielas, tās saistīsies pie iedobēm, kas pārklātas ar parvovīrusa B19 rekombinanto VP2 proteīnu. Pēc skalošanas pievieno ar peroksidāzi iezīmētu truša pret cilvēka IgG, kas saistās ar iedobēs esošo cilvēka parvovīrusa B19 IgG. Pēc tam visu kompleksu nosaka, pievienojot tetrametilbenzidīna (TMB) substrātu, kas peroksidāzes klātbūtnē iekrāsojas zils. Beigās, pievienojot bloķējošu reaģentu, tiek iegūts stabili dzeltens galaprodukts.

## Piesardzība

### Drošība

- Izmantošanai tikai *in vitro* diagnostikai.
- Reaģenti, kas apzīmēti ar \*\*, tiek uzskatīti par POTENCIĀLI BIOLOĢISKI BĪSTAMIEM MATERIĀLIEM. Katra pozitīvās kontroles, negatīvās kontroles un kalibratora (robežvērtības kontroles) sagatavošanā izmantotā donora vienība tika testēta ar FDA atļautu metodi, lai noteiktu HBsAg, antivielas pret HIV un HCV, un rezultāts bija negatīvs. Taču, tā kā neviena metode nevar absolūti garantēt infekciju ierosinātāju neesamību, visus šos reaģentus un visus pacienta paraugus jāapstrādā 2. biodrošības līmenī, kā ieteikts apstrādāt jebkuru potenciāli infekciozu cilvēka asins serumu vai asins paraugu *CDC/NIH* rokasgrāmatā „Biodrošība mikrobioloģijas un biomedicīnas laboratorijās”, 1988. gads („*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*” 1988).
- Daži reaģenti satur ProClin 950, ProClin 300 un Bronidox L, kas var būt toksiski, ja nokļūst kuņģa-zarnu traktā.
- Bloķējošie šķīdumi satur sērskābi, kurai ir koroziņa iedarbība. Jāizvairās no saskares ar ādu un acīm. Ja notikusi saskare, nekavējoties jānoskalo ar ūdeni un jāmeklē medicīniskā palīdzība.
- Substrāts satur TMB, kas var izraisīt ādas vai gļotādu kairinājumu. Jebkurš substrāts, kas saskaras ar ādu, ir jānoskalo ar ūdeni.
- Visus klīniskos paraugus, inficētos vai potenciāli inficētos materiālus jāiznīcina saskaņā ar labas laboratorijas prakses prasībām. Ar visiem šāda veida materiāliem jāstrādā un tie jāiznīcina tā, it kā tie būtu potenciāli inficēti.
- Strādājot ar paraugiem un veicot testēšanu, jālieto aizsargtērps, vienreizējās lietošanas gumijas cimdi un acu aizsargi. Pēc darba rūpīgi jānomazgā rokas.
- Neizmantojiet muti materiāla iesūkšanai pipetē un nekad neēdiet vai nedzeriet pie laboratorijas darba galda.
- Ķīmikāliju atliekas, paraugi un komplekta sastāvdaļas parasti tiek uzskatīti par bīstamiem atkritumiem. Visus šāda veida materiālus jālikvidē saskaņā ar vispāratzītām drošības procedūrām.
- Komplekts ir paredzēts tikai kvalificēta laboratorijas personāla lietošanai.

## Procedūras

- Ja, veicot analīzi, netiek ievērots atļautais laiks un temperatūras režīms, iespējami nepareizi rezultāti. Šādā gadījumā analīze ir jāatkārto.
- Nelietojiet komplektu vai atsevišķus reaģentus pēc to derīguma termiņa beigām.
- Nesajauciet vai neaizvietojiet reaģentus, kuriem ir atšķirīgi komplekta sērijas numuri, izņemot skalošanas koncentrātu, parauga atšķaidītāju un bloķējošo šķīdumu.
- Protokola neievērošana var radīt kļūdainus rezultātus.
- Visiem reaģentiem inkubatorā jāsasilst līdz istabas temperatūrai (20 – 25°C), un tie pirms lietošanas labi jāsamaisa.
- Paraugus nedrīkst ilgstoši atstāt tiešos saules staros un/vai temperatūrā, kas pārsniedz 2 – 8°C.
- Skalošanas šķīdumam nepieciešams augstas kvalitātes destilēts vai dejonizēts ūdens. Zemas kvalitātes vai kontaminēta ūdens lietošana var mainīt analīzes pamatkrāsu.
- Visu reaģentu sagatavošanai vienmēr izmantojiet tīrus, ieteicams, vienreizējās lietošanas, stikla traukus.
- Jāievēro piesardzība, lai izvairītos no sastāvdaļu kontaminēšanas, un katram paraugam un katrai sastāvdaļai vienmēr jālieto jauns pipetes uzgalis.
- Paņemiet tikai testēšanai nepieciešamo konjugāta tilpumu. Nelejiet neizlietos reaģentus atpakaļ pudelē vai pipetē tieši no pudeles, lai izvairītos no kontaminācijas.
- Tā kā konjugāts ir gaismas jutīgs, jāizvairās no pārāk ilgas tā uzglabāšanas gaismā.
- Iepildot reaģentu, pipete jāvērš pret iedobes sānu sienas viduspunktu, un jāuzmanās, lai tā netiktu saskrāpēta ar pipetes uzgali.
- Nedrīkst pieļaut iedobju izžūšanu nevienā no analīzes stadijām.
- Vienmēr nodrošiniet, lai uz iedobju augšējās virsmas nebūtu pilienu. Pabeidzot procedūras soli, pilienus uzmanīgi jānosusina.
- Jānodrošina, lai pirms rezultātu nolasīšanas plates apakšējā virsma būtu tīra un sausa.
- Pirms testēšanas uzsākšanas jāizstrādā identifikācijas un sadales plāns.
- Lietojot automātisko vai pusautomātisko analizatoru, ir svarīgi nodrošināt sakritību ar Biotrin parvovīrusa B19 IgG EIA produkta manuālo testēšanas metodi.

## Komplekta sastāvdaļas

### Piegādātie materiāli

1. Apvalkota ELISA plate

12 x 8 iedobes, pārklātas ar attīrītu rekombinantu VP2 proteīnu atkārtoti noslēdzamā maisiņā.

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

Zila apmale

2. Pozitīvā kontrole\*\*

1 x 3 ml pozitīva seruma stabilizējošā buferšķīdumā ar ProClin 950 (0,05%) un Bronidox L (0,02%).

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

Sarkans vāciņš

3. Negatīvā kontrole\*\*

1 x 3 ml negatīva seruma stabilizējošā buferšķīdumā ar ProClin 950 (0,05%) un Bronidox L (0,02%).

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

Zaļš vāciņš

4. Kalibrators (robežvērtības kontrole\*\*)

1 x 3 ml pozitīva seruma ar ProClin 950 (0,05%) un Bronidox L (0,02%).

CAL
-----

Brūns vāciņš

5. Fermentu konjugāts – gatavs lietošanai

1 x 17 ml truša pret cilvēka IgG HRP konjugāts stabilizējošā buferšķīdumā ar ProClin 950 (0,05%) un Bronidox L (0,02%).

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

Sarkans vāciņš

6. Parauga atšķaidītājs – gatavs lietošanai

1 x 110 ml PBS buferšķīdums ar stabilizatoriem un ProClin 300 (0,05%)

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

Caurspīdīgs vāciņš

7. Skalošanas koncentrāts

1 x 55 ml koncentrēta (25X) TBS buferšķīduma ar Tween 20 un ProClin 950 (0,15%).

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

Caurspīdīgs vāciņš

8. Substrāts

1 x 17 ml tetrametilbenzidīna (TMB) šķīduma.

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

Brūns vāciņš

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

SOLN | STP

Caurspīdīgs vāciņš

10. Norādījumi lietošanai.



\*\* Potenciāli bioloģiski bīstams materiāls.

### ***Nepieciešamie papildmateriāli manuālai Apstrādei***

- Aprīkojums seruma savākšanai.
- Augstas kvalitātes destilēts vai dejonizēts ūdens.
- Precīzas pipetes, mikropipetes un vienreizējās lietošanas uzgaļi ar 10 µl, 100 µl, 1 ml un 5 ml tilpumu.
- Testa stobriņi vai to ekvivalenti paraugu sagatavošanai.
- Tīri laboratorijas trauki ar tilpuma atzīmēm.
- Graduēti cilindri.
- Plastmasas vāciņš vai izolācijas lente mikroiedobju platei.
- Papīra dvieļi vai absorbējošs papīrs.
- Taimeris.
- Manuāla vai automātiska skalošanas ierīce
- ELISA plates lasītājierīce ar 450 nm filtru (papildu 630 – 650 nm filtrss ir izvēles iespēja).
- 37°C inkubators.

### **Automātiskie vai pusautomātiskie EIA analizatori**

Biotrin parvovīrusa IgG EIA var lietot kopā ar dažādiem automātiskiem vai pusautomātiskiem ELISA analizatoriem. Svarīgi, lai ar Biotrin parvovīrusa IgG EIA iegūtie rezultāti, lietojot automātisko analizatoru, atbilstu rezultātiem, ko iegūst tiem pašiem paraugiem, izmantojot manuālu testa metodi.

## Uzglabāšana un stabilitāte

- Komplekts ir stabils līdz derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz ārējās kastītes marķējuma, ja tas tiek uzglabāts 2 – 8°C temperatūrā.
- 8 iedobju sloksnes jāuzglabā atkārtoti noslēdzamā maisiņā kopā ar desikanta maisiņu.
- Visas neizlietotās sastāvdaļas pēc lietošanas nekavējoties jāuzglabā 2 – 8°C temperatūrā.
- Izšķīdināts skalošanas šķīdums ir stabils 1 mēnesi, ja tiek uzglabāts 2 – 8°C temperatūrā.
- Izšķīdināts skalošanas šķīdums ir stabils 2 nedēļas, ja tiek uzglabāts istabas temperatūrā.

## Paraugu savākšana un uzglabāšana

Biotrin parvovīrusa B19 IgG EIA var izmantot gan cilvēka asins plazmu, gan serumu. Asinīm, kas tiek iegūtas, punktējot vēnu, jāļauj sarecēt istabas temperatūrā (20 – 25°C), pēc tam tās 10 minūtes jācentrifugē, izmantojot ātrumu 1500 x g. Ja serumu vai plazmu neanalizē nekavējoties pirmo 8 stundu laikā, tos var uzglabāt 2 – 8°C temperatūrā 2 – 3 dienas vai sasaldēt -20°C temperatūrā, ja nepieciešama ilgstoša uzglabāšana vai transportēšana (paraugi ir stabili -20°C vismaz 1 gadu). Litija heparīna, EDTA un citrētas plazmas lietošana ir pieļaujama, veicot šo testēšanas procedūru. Testēšanai nav ieteicams izmantot hemolizētu, ikterisku, hillozu vai ar mikrobiem inficētu serumu. Testa paraugus nedrīkst pakļaut arī atkārtotai sasaldēšanai un atkausēšanai.

**Piezīme:** kopējā visu plazmas komponentu koncentrācija var būt nedaudz samazināta citrētā plazmā sakarā ar citrāta buferšķīdumā tilpumu, ko izmanto koagulācijas novērsšanai.

Reaģentu un paraugu sagatavošana

## Reaģentu un paraugu sagatavošana

### *Reaģentu sagatavošana*

- Reaģentu tilpumi pamatojas uz paraugu dublikātu testēšanu.
- Skalošanas šķīdums

Katrai 8 iedobju sloksnei pievieno 4 ml skalošanas koncentrāta ar 96 ml dejonizēta ūdens. Sagatavotais reaģents ir stabils 1 mēnesi, ja tiek uzglabāts 2 – 8°C temperatūrā.

Sagatavotais reaģents arī ir stabils 2 nedēļas, ja tiek uzglabāts istabas temperatūrā.

- Visi pārējie reaģenti ir gatavi lietošanai, un tiem ir atbilstoša atšķaidījuma pakāpe.

### *Parauga sagatavošana*

Katram paraugam marķētā stobriņā vai tā ekvivalentā iepilda 1 ml parauga atšķaidītāja. Pievieno 10 µl seruma vai plazmas parauga un sajauc.

**Piezīme:** atšķaidītos paraugus nedrīkst uzglabāt. Ja nepieciešama atkārtota testēšana, nepieciešams pagatavot svaigu paraugu.

## Analīzes procedūra

**Piezīme:** ja lieto automātisku instrumentu:

- plastmasas vāciņš/izolācijas lente nav nepieciešama;
  - pēc skalošanas nav nepieciešams stingri pasist plati pret absorbējošā papīra dvieli.
1. Pirms lietošanas visiem reaģentiem un paraugiem inkubatorā jāļauj sasniegt istabas temperatūru (20 – 25°C).
  2. Jānosaka 8 iedobju slokšņu skaits. Jāizveido kontroļu un paraugu identifikācijas un sadales plāns, kā norādīts 1. attēlā. Pirmā sloksne ir paredzēta viena pacienta parauga testēšanai, katra papildus sloksne ļauj testēt papildus 4 pacientu paraugus.

1. attēls 1. Sloks

<b>A</b>		Negatīvā kontrole
<b>B</b>		Negatīvā kontrole
<b>C</b>		Pozitīvā kontrole
<b>D</b>		Pozitīvā kontrole
<b>E</b>		Kalibrators (robežvērtības kontrole)
<b>F</b>		Kalibrators (robežvērtības kontrole)
<b>G</b>		Pacients nr. 1
<b>H</b>		Pacients nr. 1

Reaģentu tilpumi pamatojas uz paraugu dublikātu testēšanu. Lietotājiem ir ieteicams iepazīties ar darbības raksturojumu un validēt analīzi savā laboratorijā pirms testēšanas uzsākšanas.

3. Izņemiet izvēlēto 8 iedobju slokšņu daudzumu, ievietojiet tās plastmasas rāmī un pārklājiet ar plastmasas vāciņu/izolācijas lenti. Neizmantotās sloksnes ielieciet atpakaļ maisiņā un noslēdziet kopā ar desikantu.
4. Sagatavojiet skalošanas šķīdumu (skatīt „Reaģentu un parauga sagatavošana”).
5. Sagatavojiet pacienta paraugu (skatīt „Reaģentu un paraugu sagatavošana”).
6. Noņemiet no sloksnēm vāciņu un ar pipeti iepilniet iedobēs dublikātā 100 µl lietošanai gatavās negatīvās kontroles, lietošanai gatavās pozitīvās kontroles, lietošanai gatavā kalibrators (robežvērtības kontroles) un sagatavotos pacientu paraugus.

7. Nosedziet iedobes ar plastmasas vāciņu/izolācijas lenti un inkubējiet 60 minūtes (+/- 5 minūtes) istabas temperatūrā (20 – 25°C) inkubatorā.
8. Noņemiet vāciņu un skalojiet katru iedobi 4 reizes ar skalošanas šķīdumu (250 – 320µl). Pēc skalošanas stingri pasitiet plati pret absorbējoša papīra dvieli.
9. Pēc skalošanas soļa nekavējoties iepilniet ar pipeti visās iedobēs 100 µl IgG fermenta konjugāta.
10. Nosedziet iedobes ar plastmasas vāciņu/izolācijas lenti un inkubējiet 30 minūtes (+/- 5 minūtes) 35 – 39°C inkubatorā.
11. Noņemiet vāciņu un skalojiet katru iedobi 4 reizes ar skalošanas šķīdumu (250 – 320 µl). Pēc skalošanas stingri pasitiet plati pret absorbējoša papīra dvieli.
12. Pēc skalošanas soļa nekavējoties iepilniet ar pipeti visās iedobēs 100 µl substrāta.
13. Inkubējiet 30 minūtes (+/-2 minūtes) 35 – 39°C inkubatorā.
14. Ar pipeti iepilniet 100 µl bloķējošā šķīduma visās iedobēs un sajauciet. Katra pievienošana ir jāveic tādā pašā secībā un laika intervālā, kā substrāta pievienošana.
15. Nolasiet rezultātus 30 minūšu laikā ar ELISA plates lasītājiem.

**Piezīme:** ieteicama duāla viļņa garuma nolasīšana - pie 450 nm un 630 nm, pēdējo izmantojot kā atsauces viļņa garumu (630 nm filtram kā nulles vērtību izmantojiet gaisa vērtību). Ja šī funkcija ELISA plates lasītājiem nav pieejama, izmantojiet viena viļņa garuma nolasījumu pie 450 nm.

## Rezultātu interpretācija

Parvovīrusa IgG esamība vai neesamība tiek noteikta attiecībā pret aprēķināto robežvērtību (*Cut Off Value (COV)*).

### *COV aprēķināšana*

$COV =$  kalibratora (robežvērtības kontroles) vidējais  $OD$

### *Interpretācija (1): absorbcija*

Paraugi ar vidējo absorbcijas nolasījumu lielāku kā  $COV \times 1,1$  tiek uzskatīti par reaktīviem (pozitīviem) pret parvovīrusa B19 IgG.

Paraugi ar vidējo absorbcijas nolasījumu mazāku kā  $COV \times 0,9$  tiek uzskatīti par nereaktīviem (negatīviem) pret parvovīrusa B19 IgG.

Paraugi ar vidējo absorbcijas nolasījumu lielāku vai vienādu ar  $COV \times 0,9$  vai mazāku vai vienādu ar  $COV \times 1,1$  tiek uzskatīti par pretrunīgiem.

**Piezīme:** ja tiek izmantoti automātiskie instrumenti, vienas analīzes rezultāti ar citas analīzes rezultātiem jāsalīdzina, izmantojot tikai indeksa vērtības (skatīt 2. interpretāciju).

### *Interpretācija (2): indeksa vērtība*

Dažādu analīžu datu salīdzināšanu atvieglo indeksa vērtības izmantošana, kas atspoguļo parauga absorbcijas un analīzes robežvērtības attiecību. Šajā gadījumā indeksa vērtība  $<0,9$  vai  $>1,1$  liecina par attiecīgi negatīvu vai pozitīvu paraugu. Par pretrunīgu rezultātu liecina indeksa vērtība robežās no  $0,9$  līdz  $1,1$  (ieskaitot).

**Indekss** =  $\frac{\text{parauga absorbcija}}{\text{robežvērtība (COV)}}$

Paraugi, kuri nav ne reaktīvi (pozitīvi), ne nereaktīvi (negatīvi), tiek uzskatīti par pretrunīgiem un ir jāanalizē atkārtoti. Ja atkārtotas testēšanas rezultāti ir pretrunīgi, tad pēc vienas nedēļas ir jāpaņem otrs paraugs. Ja arī otrais paraugs uzrāda pretrunīgu rezultātu, to var uzskatīt par nereaktīvu (negatīvu) pret parvovīrusa B19 IgG.

## Kvalitātes kontroles kritēriji

Pozitīvā kontrole, negatīvā kontrole un kalibrators (robežvērtības kontrole) vienmēr jāiekļauj testa rezultātu ticamības izvērtēšanā. Testēšanas rezultātus uzskata par ticamiem, ja tie atbilst šādiem kritērijiem.

1. Pozitīvās kontroles vidējā absorbcija ir lielāka vai vienāda ar  $0,8$  optiskā blīvuma vienībām.
2. Negatīvās kontroles vidējā absorbcija ir mazāka vai vienāda ar  $0,15$  optiskā blīvuma vienībām un mazāka par  $COV \times 0,9$ .

Ja rezultāti neatbilst iepriekš minētiem kritērijiem, testu uzskata par nederīgu un to nepieciešams atkārtot.

### **Lietošanas ierobežojumi**

- Lai uzstādītu parvovīrusa B19 infekcijas diagnozi, rezultāti jāizvērtē kopā ar pacienta klīniskajiem un epidemioloģiskajiem rādītājiem un citiem klīniski laboratoriskajiem rezultātiem.
- Nereaktīvi (negatīvi) rezultāti neizslēdz parvovīrusa B19 infekciju. Nosakāma antivielu atbildes reakcija var attīstīties dažas dienas pēc inficēšanās. Ja pastāv aizdomas par parvovīrusa B19 infekciju, negatīva rezultāta gadījumā testēšana ir jāatkārto pēc 2 nedēļām.
- Nav pietiekamu datu citu bioloģisko šķidrumu vai serumu testēšanas izvērtēšanai.
- Testa veikspēju var ietekmēt procedūras, rezultātu interpretācijas un ieteicamo piesardzības pasākumu neievērošana.
- Imūnkompromitētu pacientu testa rezultāti var būt grūti interpretējami.
- Analīzes veikspēja ir validēta, pamatojoties uz paraugu dublikātu testēšanu. Laboratorijas personālam ir ieteicams iepazīties ar darbības raksturojumu un tikai tad izvērtēt vienas kopijas pacienta paraugus.

### **Darbības raksturojums**

#### ***Seroprevalence***

Parvovīrusa B19 seroprevalence pieaug līdz ar vecumu. Apmēram 70% pieaugušo populācijas ir seropozitīva.

#### ***Jūtība un specifiskums***

Biotrin parvovīrusa B19 IgG EIA imūnfermentatīvo analīzi var arī izmantot, lai noteiktu PVO parvovīrusa B19 IgG starptautisko standartu (*International Standard – IS*). Šīs imūnfermentatīvās analīzes robežvērtība ir pielīdzināma *IS* līmenim 3-5 IU/ml.<sup>19</sup>

Kopumā 175 paraugi tika testēti ar trīs dažādām Biotrin 4. paaudzes parvovīrusa B19 IgG EIA sērijām. Paraugi tika sadalīti pozitīvajos un negatīvajos, izmantojot Biotrin 3. paaudzes parvovīrusa B19 IgG EIA. Rezultātu, kas iegūti ar Biotrin 3. paaudzes parvovīrusa B19 IgG EIA un Biotrin 4. paaudzes parvovīrusa B19 IgG EIA, salīdzinājums ir parādīts 1. tabulā.

<b>Biotrin parvovīrusa B19 3. paaudzes IgG EIA</b>					
Biotrin parvovīrusa B19 4. paaudzes IgG EIA		Pozitīvs	Negatīvs	Pretrunīgs	Kopā
	Pozitīvs	95	0	0	95
	Negatīvs	0	80	0	80
	Apšaubāms	0	0	0	0
	Kopā	95	80	0	175

**1. tabula.** Jūtības un specifiskuma aprēķini Biotrin 4. paaudzes parvovīrusa B19 IgG EIA salīdzinājumā ar Biotrin 3. paaudzes parvovīrusa B19 IgG EIA.

Saskaņā ar FDA vadlīnijām šajā aprēķinā tika iekļauti arī pretrunīgie rezultāti.

Jūtība = patiesi pozitīvie rezultāti (*true positives – TP*) dalīti ar (*TP + viltus negatīvie rezultāti + pretrunīgie rezultāti*) x 100

$$\text{Jūtība\%} = (95/95) \cdot 100 = 100\%$$

Specifiskums = patiesi negatīvie rezultāti (*true negatives – TN*) dalīti ar (*TN + viltus pozitīvie rezultāti + pretrunīgie rezultāti*) x 100

$$\text{Specifiskums\%} = (80/80) \cdot 100 = 100\%$$

### **Analīzes iekšējā reproducējamība**

Vairākas seruma paraugu sērijas, kuru parvovīrusa B19 IgG koncentrācija bija diapazonā no nereaktīvas līdz izteikti reaktīvai, katra tika analizēta kopumā trīsdesmit reizes. Kopijas tika testētas uz vienas ELISA plates. Tika saskaitītas iegūtās OD vērtības un aprēķināts vidējais OD, standarta novirze (SD) un variācijas koeficienta procentuālā attiecība (%CV), skatīt 2. tabulu. Šie rezultāti ir attēloti arī kā indeksa vērtības 3. tabulā. CV procentuālā attiecība, izteikta kā OD (rādītājs), bija diapazonā no 6,3% nereaktīvam paraugam (negatīvs 2) līdz 4,3% pie augstākas OD vērtības (izteikti pozitīvs).

Testa paraugs	Vidējais OD	SD	%CV	N
Negatīvs 1	0,048	0,002978	6,2	30
Negatīvs 2	0,032	0,001999	6,3	30
Vāji pozitīvs	0,329	0,016497	5,0	30
Vidēji pozitīvs	0,648	0,035633	5,5	30
Izteikti pozitīvs	1,431	0,061902	4,3	30

**2. tabula.** Analīzes iekšējā reproducējamība, izteikta kā OD 30 kopiju sērijām, kas katra iegūta no 5 dažādiem seruma paraugiem, kuru parvovīrusa B19 IgG koncentrācija bija diapazonā no nereaktīvas līdz izteikti reaktīvai

Testa paraugs	Vidējais	SD	%CV	N
Negatīvs 1	0,26	0,016185	6,2	30
Negatīvs 2	0,20	0,012415	6,3	30
Vāji pozitīvs	1,79	0,089659	5,0	30
Vidēji pozitīvs	4,02	0,221321	5,5	30
Izteikti pozitīvs	7,78	0,336426	4,3	30

**3. tabula.** Analīzes iekšējā reproducējamība, izteikta kā indeksa vērtības 30 kopiju sērijām, kas katra iegūta no 5 dažādiem seruma paraugiem, kuru parvovīrusa B19 IgG koncentrācijas bija diapazonā no nereaktīvas līdz izteikti reaktīvai.

#### *Analīžu savstarpējā reproducējamība*

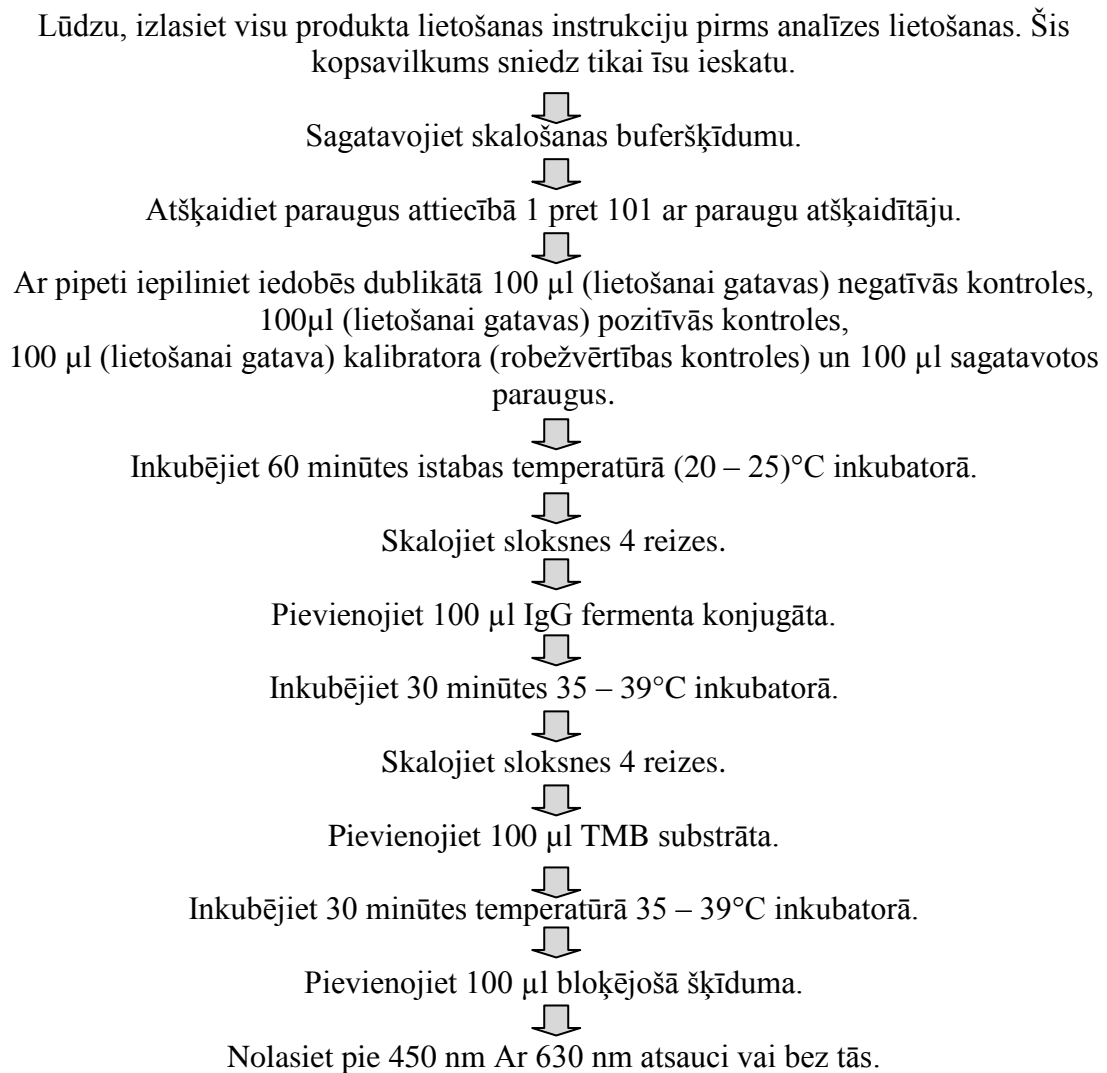
Analīžu savstarpējā reproducējamība tika analizēta, izmantojot 3 Biotrin parvovīrusa B19 IgG EIA sērijas (4. paaudzes). Paraugu panelis, kas ietvēra izteikti reaktīvus (4), vidēji reaktīvus (2), vāji reaktīvus (7) un nereaktīvus (7) paraugus, tika analizēts ar katru sēriju kopumā 10 reizes. Rezultātā katram paraugam tika iegūts galīgais paraugu kopas lielums (n) 30 paraugi.

Analizējot šos datus, lai noteiktu analīžu un sēriju savstarpējo reproducējamību, Biotrin parvovīrusa B19 IgG EIA parādīja ļoti labu testa rezultātu korelāciju starp dažādām analīzēm un dažādām sērijām. Visu 6 analīžu paraugu reproducējamības dati parādīti 4. tabulā.

Parauga veids	Testa paraugs	Vidējais indekss	SD	%CV	N
Nereaktīvs	14	0,21	0,03635	17,5	30
Nereaktīvs	17	0,24	0,03783	16,0	30
Vāji reaktīvs	2	1,73	0,16797	9,7	30
Vāji reaktīvs	4	1,68	0,23728	14,1	30
Vidēji reaktīvs	16	3,00	0,28735	9,6	30
Izteikti reaktīvs	7	7,38	0,63950	8,7	30

**4. tabula.** Kopējā analīžu savstarpējā reproducējamība. Dati (rādītāji) apkopoti no Biotrin parvovīrusa B19 IgG EIA 3 sērijām.

## Parvovīrusa B19 IgG EIA procedūras kopsavilkums



## Simbolu skaidrojums

*In vitro* diagnostikas medicīniskā ierīce

**IVD**

Temperatūras ierobežojums



Ražotājs



Norādījumi lietošanai



Izlietot līdz



Partijas kods

**LOT**

Kataloga numurs

**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 – 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 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, Khoussam 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](mailto:info@biotrin.ie)**  
**[www.biotrin.com](http://www.biotrin.com)**

**Dokumenta kods: PEGIV-462-01 08/09 LT**