

Norsk
Katalognummer: V619IM
Kitets komponenter: 12 x 8
Dokumentkode: PEMIV-471-01 11/09



Parvovirus B19
IgM enzymimmunkjemisk analyse

En enzymimmunkjemisk analyse for kvalitativ deteksjon av Parvovirus B19 IgM-antistoffer i
humant serum og plasma.



Innhold

Produktets hensikt	3
Introduksjon	3
Analyseprinsipp	4
Forholdsregler	4
Sikkerhet	4
Prosedyre	5
Pakkekomponenter	6
Materialer som medfølger	6
Materiale som er nødvendig men som ikke medfølger	7
Automatiske eller semi-automatiske EIA-prosessorer	8
Oppbevaring og stabilitet	8
Prøvetaking og oppbevaring	8
Reagens- og prøvetilberedning	8
Analyseprosedyre	9
Tolkning av resultater	11
Kvalitetskontroll-kriterier	11
Begrensninger for bruk	12
Metodeegenskaper	13
Sammendrag av Parvovirus IgM-prosedyre	16
Tolkning av symboler	17
Bibliografi	18

Produktets hensikt

Parvovirus B19 IgM enzymimmunkjemisk analyse analyse er beregnet for bruk til kvalitativ påvisning av IgM-antistoffer mot Parvovirus B19 i humant serum og plasma. Testen indikeres til bruk i alle kvinner der det er mistanke om eksponering for Parvovirus B19 for å påvise nyere eller nåværende infeksjon. I sammenheng med Biotrin Parvovirus B19 IgG enzymimmunkjemisk analyse kan denne testen brukes som bestanddel av klinikerens evaluering av risiko for fosterhydrops eller fosterdød.

Introduksjon

Parvovirus B19 ble først påvist som et humant patogen i 1975 og har følgelig vist seg å være det forårsakende agens for en rekke kliniske tilstander som f.eks. utslett, artralgi og fosterskade^{1,2,3}. Parvovirus B19-infeksjoner i voksne, spesielt kvinner, kan føre til artritt som kan vedvare over lengre tid⁴. Infeksjon kan føre til livstruende anemi i immunkompromitterte pasienter og individer med underliggende forstyrrelser som sigdcelleanemi^{5,6}. Viruset er et icosahedralt, ikke-omsluttet virus på 18 – 25 nm i diameter og utgjør et lineært, enkeltstrenget DNA-genom (5,5kb) som er innkapslet inne i et utvendig kapsid^{7,8}. Viruskapsidet består av to strukturelle proteiner, nemlig VP1 (83kDA) og VP2 (53kDA). Parvovirus B19-infeksjon smittes normalt ved direkte kontakt med luftveissekreter og forekommer vanligvis i lokaliserte utbrudd om vinteren og våren⁸.

Det er nå akseptert at seronegative kvinner er mottakelige for Parvovirus B19-infeksjon^{9,10}. Flertallet av graviditeter der Parvovirus B19-infeksjon oppstår fører til fødsel av et friskt foster til termin^{10,11,12}. Infeksjon under graviditet gir imidlertid risiko for smitte av fosteret. Det kan føre til hydrops foetalis eller fosterdød i livmoren. Estimerer i litteraturen om forekomst av fosterdød etter at moren er smittet ligger på mellom 1 og 11 %^{10,13,14,17}. Det er blitt antydnet at fordi Parvovirus B19 replikeres hovedsakelig i forstadier til røde blodlegemer, kan smitte under graviditet føre til fosterdød på grunn av sterkt fosteranemi.

Man tenker seg at denne alvorlige anemien der hemoglobinnivået synker til mindre enn 2g/dl, er hovedårsaken til fosterhydrops^{15,16}. En nyere studie tyder på at risikoen for fosterdød er stort sett begrenset til B19-infeksjon av moren i løpet av graviditetens først 20 uker¹⁷. Nyere litteratur har anslått at ca. 3000 fostre dør i morsliv i året som følge av B19-infeksjon¹⁸.

Symptomene forbundet med Parvovirus B19-infeksjon blir først synlige etter at den viremiske (smittsomme) fasen er over¹⁰. Det er videre kjent at det er økt risiko for smitte i situasjoner der det er sannsynlig med nær kontakt mellom personer, f.eks. skoler, barnehager og sykehus. Center for Disease Control (CDC) anbefaler ikke at personer som viser symptomer på Parvovirus-infeksjon (f.eks. erythema infectiosum) stenges ute fra slike miljøer. Det anbefales derimot at alle relevante individer gjøres oppmerksomme på muligheten for smitte av sykdommen¹⁰.

Følgelig er det viktig å identifisere Parvovirus B19-antistoffstatus hos personer som kan være utsatt for infeksjon av, eller som er smittet av, Parvovirus B19.

Analyseprinsipp

Biotrin Parvovirus B19 IgM enzymimmunkjemisk analyse er en forsterket sandwich-enzymimmunkjemisk analyse til påvisning av IgM-antistoffer mot Parvovirus B19 i humant serum og plasma. Hvis det forekommer spesifikk IgM i serum eller plasma, vil det bindes til anti-humant IgM fra kaniner som brønnene er belagt med. Etter et vasketrinn tilsettes biotinyleret Parvovirus B19 rekombinant VP2-protein som bindes til en hvilken som helst human anti-Parvovirus B19 IgM som måtte finnes. Etter et annet vasketrinn tilsettes streptavidin-peroksidase som bindes til biotinyleret VP2. Hele komplekset blir da påvist ved å tilsette tetrametylbenzidinsubstrat (TMB) som blir blått i nærvær av peroksidase. Et stabilt, gult sluttprodukt oppnås ved å tilsette et stoppreagens.

Forholdsregler

Sikkerhet

- Kun for in vitro-diagnostikk.
- Reagenser merket med ** betraktes som POTENSIELT BIOFARLIG MATERIALE. Hver donorenhet som benyttes i tilberedning av den positive kontrollen, negative kontrollen og kalibratoren (cutoff-kontroll) ble testet med en FDA-godkjent metode for HBsAg og antistoffer mot HIV og HCV og er påvist å være negative. Da imidlertid ingen testmetode kan tilby fullstendig sikkerhet for at smittsomme stoffer ikke forekommer, bør alle disse reagensene og alle pasientprøver håndteres ved biosikkerhetsnivå 2 som anbefalt for alle potensielt infeksjøs humane serum- eller blodprøver i CDC/NIH-manualen "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 1988.
- Enkelte reagenser inneholder ProClin 950, ProClin 300 og Bronidox L som kan være giftige ved svelging.
- Stoppløsning inneholder svovelsyre, som er etsende. Unngå kontakt med hud og øyne. Ved kontakt, skyl umiddelbart med vann og ta kontakt med lege.
- Substratet inneholder TMB som kan irritere huden og slimhinnene. Ethvert substrat som kommer i kontakt med huden skal skylles av med vann.
- Biotin VP2-konsentratet og Biotin VP2 fortynningsløsning inneholder natriumazid som kan danne potensielt eksplosive metallazider med bly- og kobber. For avhending skal reagens skylles med store mengder vann for å forhindre ansamling av azider.
- Kast alle kliniske prøver, smittet eller potensielt smittet materiale i henhold til god laboratoriepraksis. Alt slikt materiale skal håndteres og kastes som om det var potensielt smittomt.
- Bruk verneklær, éngangshansker av lateks og øyevern ved håndtering av prøver og når analysen utføres. Vask hendene grundig når du er ferdig.
- Ikke pipetter materialer med munnen og spis eller drikk aldri ved laboratoriebenken.
- Rester av kjemikalier, preparater og pakkekomponenter betraktes vanligvis som farlig avfall. Alt slikt materiale skal kastes i henhold til etablerte sikkerhetsprosedyrer.
- Pakken er beregnet til bruk kun av kvalifisert laboratoriepersonale

Prosedyre

- Hvis analysen utføres utenfor tids- og temperaturområdene som er oppgitt, kan det gi ugyldige resultater. Analyser som ikke havner innenfor etablerte tids- og temperaturområder må gjentas.
- Ikke bruk pakke- eller individuelle reagenser etter utløpsdatoen.
- Ikke bland eller erstatt reagenser med reagenser med ulike lot-nummer, med unntak av vaskekonsentratet, fortynningsprøven og stoppløsningen.
- Avvik fra den oppgitte protokollen kan føre til feilaktige resultater.
- La alle reagenser nå romtemperatur (20 - 25 °C) i inkubator og bland godt før bruk.
- Unngå å la reagenser stå i direkte sollys og/eller over 2-8 oC over lengre perioder.
- Destillert eller avionisert vann av høy kvalitet er nødvendig til vaskeløsningen. Bruk av kontaminert vann eller vann av dårlig kvalitet kan gi bakgrunnsfarge i analysen.
- Bruk alltid rent, helst éngangsglass til all tilberedning av reagenser.
- Komponentene må ikke forurenses. Ferske pipettespisser må alltid brukes for hver prøve og komponent.
- Ta kun ut mengden av konjugat som kreves til analysen. Ikke hell ubrukt reagens tilbake i flasken eller pipetter direkte fra flasken. I så fall kan det oppstå forurensning.
- Reagens skal siktes midt på siden av brønnene. Pass på så ikke pipettespissen riper kanten.
- Da konjugatet er lysfølsomt, må man unngå langvarig lyseksposering.
- La ikke brønnene tørke ut på noe tidspunkt under analysen.
- Påse at øvre flate av brønnene alltid er fri for dråper. Dråper skal tørkes forsiktig av når prosedyretrinnet er fullført.
- Påse at bunnflaten av platen er ren og tørr før avlesning.
- Før analysen påbegynnes, skal det etableres en identifiserings- og distribusjonsplan
- Hvis det brukes en automatisk eller halvautomatisk prosessor, er det avgjørende å vise ekvivalens med den manuelle testmetoden for produktet Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA.

Pakkekomponenter

Materialer som medfølger

1. Belagt ELISA-plate

12 x 8 brønner belagt med anti-humant IgM fra kaniner i en pose som kan åpnes og lukkes flere ganger.

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

Rød kant

2. Positiv kontroll**

1 x 2 ml positive sera/plasma i stabiliserende buffer med ProClin 950 (0,05 %) og Bronidox L. (0,02 %).

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

Rød kork

3. Negativ kontroll**

1 x 2 ml negative sera i stabiliserende buffer med ProClin 950 (0,05 %) og Bronidox L. (0,02 %).

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

Grønn kork

4. Kalibrator (cutoff-kontroll**)

1 x 2 ml positive sera i stabiliserende buffer med ProClin 950 (0,05 %) og Bronidox L. (0,02 %).

CAL

Brun kork

5. Biotin VP2-konsentrat

1 x 1,7ml av en konsentrert (10x) biotinyllert VP2-løsning i buffer som inneholder stabilisatorer og natriumazid (0,01 %).

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

Hvit kork

6. Biotin VP2-fortynningsløsning

1 x 17ml med fortynningsbuffer som inneholder stabilisatorer og ProClin 950(0,05 %) med Bronidox L (0,02 %).

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

Rød kork

7. Enzymkonjugat-konsentrat

1 x 1,7ml Streptavidin-HRP-konjugat (10x) i stabiliserende buffer med ProClin 950 (0,05 %) og Bronidox L (0,02 %).

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

Blå kork

8. Enzymkonjugat-fortynningsløsning

1 x 17ml med fortynningsbuffer som inneholder stabilisatorer og ProClin 950(0,05 %) med Bronidox L (0,02 %)

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

Blå kork

9. Fortynningsløsning klar til bruk

1 x 110ml PBS-buffer som inneholder stabilisatorer og ProClin 300 (0,05 %).

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

Gjennomsiktig kork

10. Vaskekonsentrat

1 x 55ml konsentrert (25X) Tris-bufret saltløsning med Tween 20 og ProClin 950(0,15 %).

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

Gjennomsiktig kork

11. Substrat

1 x 17 ml tetrametylbenzidenløsning (TMB).

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

Brun kork

12. Stoppløsning

1 x 17ml 0,5 mol/L H₂SO₄

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

Gjennomsiktig kork

13. Bruksanvisninger.



** Potensielt biofarlig material

Materiale som er nødvendig for manuell prosessering

- Utstyr til serumprøver.
- Destillert eller deionisert vann av høy kvalitet.
- Nøyaktige pipetter, mikropipetter og éngangsspisser som leverer mengder på 10µl, 100µl, 1ml og 5ml
- Reagensglass eller tilsvarende for prøvetilberedning
- Rent volumetrisk laboratorieutstyr
- Inndelte sylindrer
- Plastlokk eller forseglingsstape for mikrobrønnplate
- Papirhåndklær eller tørkepapir
- Tidsmåler
- Manuelt eller automatisk vaskeutstyr
- ELISA-plateavleser med 450nm-filter (ekstra 630-filter er valgfritt men anbefales)
- 37°C Inkubator

Automatiske eller semi-automatiske EIA-prosessorer

Biotrin Parvovirus IgM EIA kan brukes med en rekke forskjellige automatiske eller halvautomatiske ELISA-prosessorer. Det er avgjørende at resultatene som oppnås med Biotrin Parvovirus IgM EIA med den automatiske prosessoren er lik de som oppnås for de samme prøvene med den manuelle testmetoden.

Oppbevaring og stabilitet

- Pakken er stabil frem til holdbarhetsdatoen som står på kartongen dersom den er lagret mellom 2-8 °C.
- 8-brønnremser skal oppbevares i posen som kan åpnes og lukkes flere ganger, sammen med posen med tørkemiddel.
- Alle ubrukte komponenter skal returneres til lagring ved 2-8 °C straks etter bruk.
- Rekonstituert Biotin VP2 og vaskeløsning er stabilt i 1 måned ved oppbevaring ved 2-8 °C.
- Rekonstituert enzymkonjugat er stabilt i en måned ved oppbevaring ved 2-8 °C i glassbeholdere.
- Preparert reagens er stabil i 2 uker ved romtemperatur.

Prøvetaking og oppbevaring

Enten serum eller plasma kan brukes i Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA. Når blodet er tatt med venepunktur, skal det koagulere ved romtemperatur (20-25 °C) og deretter sentrifugeres ved 1500 x g i 10 minutter. Hvis serumet eller plasmaet ikke skal testes innen 8 timer, kan det lagres ved 2-8 °C i opptil 2-3 dager eller fryses ved -20 °C ved lagring over lengre tid eller hvis prøven må transporteres (prøver er stabile ved -20 °C i minst 1 år). Litiumheparin, EDTA og citrat plasma er kompatible med testprosedyren. Hemolyserte, ikteriske, lipemiske eller mikrobielt kontaminerte sera bør ikke brukes til testing. Testprøver bør heller ikke utsettes for gjentatt tining/frysing.

Merk: Den generelle konsentrasjonen av alle plasmakomponenter kan være noe redusert i citrat plasma på grunn av volumet av citratbuffer som brukes til å forhindre koagulering.

Reagens- og prøvetilberedning

Reagenstilberedning

- Reagensvolumer er basert på duplikat prøvetesting.
- Vaskeløsning
For hver remse med 8 brønner, tilsettes 4 ml vaskekonsentrat til 96 ml avionisert vann. Tilberedt reagens er stabilt i 1 måned når oppbevart ved 2-8 °C.
Rekonstituert vaskeløsning er stabil i 2 uker ved romtemperatur
- Biotin VP2
For hver remse med 8 brønner som brukes, tilsett 100µl Biotin VP2-konsentrat til 900µl Biotin VP2-fortynningsmiddel.

- Enzymkonjugat
For hver remse med 8 brønner tilsettes 100µl enzymkonjugat-konsentrat til 900µl enzymkonjugatfortynningsløsning. Tilberedt reagens er stabilt i 1 måned når oppbevart ved 2-8 °C.

Alle gjenværende reagenser leveres klare til bruk og har arbeidsfortynning.

Prøvetilberedning

For hver prøve, pipetteres 1 ml fortynningsløsning i et merket testglass eller tilsvarende. Tilsett 10µl serum- eller plasma og bland.

Merk: Fortynnete prøver skal ikke lagres. Hvis det er nødvendig med ekstra test, må det brukes ny fortynnet prøve.

Analyseprosedyre

Merk: ved bruk av automatisert instrument:

- er det ikke nødvendig med plastlokk/forseglingstape.
- Det er ikke nødvendig å slå platen mot absorberende tørkerull etter vask

1. La alle reagenser og prøver ekvilibrere til romtemperatur (20-25 °C) i inkubator før bruk.

2. Finn hvor mange remser med 8 brønner som kreves. Etabler en identifiserings- og distribusjonsplan for kontroller og prøver som vist i Figur 1 (nedenfor). Den første remsen er egnet for testing av 1 pasientprøve, hver tilleggsremse gir mulighet for å teste ytterligere 4 pasientprøver.

Figur 1 Remse 1

A		Negativ kontroll
B		Negativ kontroll
C		Positiv kontroll
D		Positiv kontroll
E		Kalibrator (cutoff-kontroll)
F		Kalibrator (cutoff-kontroll)
G		Pasientnr. 1
H		Pasientnr. 1

Reagensvolumer er basert på duplikat prøvetesting. Det anbefales at brukere gjør seg kjent med metodeegenskapene og validerer analysen i eget laboratorium før testing påbegynnes.

3. Ta ut ønsket antall remser à 8 brønner, legg i plastramme og dekk til med plastlokk/forseglingstape. Legg resten av remsene i posen og forsegl sammen med tørkemiddelet.
4. Tilbered vaskeløsning (se "Reagens- og prøvetilberedning").
5. Tilbered pasientsera (se "Reagens- og prøvetilberedning").
6. Ta av deksel fra remser og pipetter 100µl, i duplikat, av den negative kontrollen som er klar til bruk, positiv kontroll som er klar til bruk, kalibrator som er klar til bruk (cutoff-kontroll) og tilberedte pasientprøver til brønnene.
7. Dekk til brønnene med plastlokk/isolertape og inkuber i 60 minutter(+/- 5 minutter) ved romtemperatur (20-25 °C) i inkubator.
8. Ta av deksel og vask hver brønn 4 ganger med vaskeløsning (250 - 320µl). Etter vask, slå platen mot absorberende tørkepapir.
9. Tilbered Biotin VP2 (se "Prøve- og reagenstilberedning").
10. Tilsett 100µl tilberedt Biotin VP2 til hver brønn straks etter at vasketrinnet er fullført.
11. Dekk til brønnene med plastlokk/forseglingstape og inkuber i 30 minutter (+/- 5 minutter) ved 35-39 °C i inkubator.
12. Ta av deksel og vask hver brønn 4 ganger med vaskeløsning (250 - 320µl). Etter vask, slå platen mot absorberende tørkepapir.
13. Tilbered enzymkonjugatet (se "Reagens- og prøvetilberedning").
14. Pipetter 100µl IgM enzymkonjugat i alle brønner straks etter at vasketrinnet er fullført.
15. Dekk til brønnene med plastlokk/isolertape og inkuber i 30 minutter(+/- 5 minutter) ved 35-39 °C i inkubator.
16. Ta av deksel og vask hver brønn 4 ganger med vaskeløsning (250 - 320µl). Etter vask, slå platen mot absorberende tørkepapir.
17. Pipetter 100µl substrat i alle brønner straks etter at vasketrinnet er fullført.
18. Inkuber i 30 minutter (+/- 2 minutter) ved 35-39 °C i inkubator.
19. Pipetter 100µl stoppløsning i alle brønner og bland. Påse at hver tilsetning skjer i samme sekvens og tidsintervall som tilsetning av substrat.
20. Avleses med en ELISA-plateavleser innen 30 minutter.

Merk: Dobbel bølgelengdeavlesning anbefales ved 450 nm med 630 nm som referansebølgelengde. Hvis denne funksjonen ikke er tilgjengelig på ELISA-plateavleseren, brukes en enkelt bølgelengdeavlesning ved 450 nm. Bruk luft for blank avlesning for 630 nm-filte

Tolkning av resultater

Nærvær eller fravær av anti-Parvovirus IgM påvises i forhold til en beregnet cutoff-verdi (COV).

Beregning av COV

COV = Kalibratorens gjennomsnitts-OD (cutoff-kontroll)

Tolkning (1): Absorbans

Prøver med større gjennomsnittlig absorbansavlesning enn COV x 1,1 betraktes som reaktive (positive) for anti-Parvovirus B19 IgM.

Prøver med mindre gjennomsnittlig absorbansavlesning enn COV x 0,9 betraktes som ikke-reaktive (negative) for anti-Parvovirus B19 IgM.

Prøver med gjennomsnittlig absorbansavlesning som er større enn eller lik COV x 0,9 og mindre enn eller lik COV x 1,1 er dobbelttydige.

Merk: Ved bruk av automatisert instrument, skal resultater fra én analyse til en annen sammenlignes kun med indeksverdier (se tolkning 2).

Tolkning (2): Indeksverdi

Datasammenligning mellom forskjellige analyser forenkles med indeksverdi mens prøveabsorbans uttrykkes i forhold til analysens cutoff-verdi. I så fall indikerer en indeksverdi på <0,9 eller >1,1 henholdsvis prøvens negativitet eller positivitet. Dobbeltydighet indikeres hvis indeksverdien ligger i området fra og med 0,9 til og med 1,1.

$$\text{Indeks} = \frac{\text{Prøveabsorbans}}{\text{Cutoff-verdi (COV)}}$$

Prøver som er verken reaktive (positive) eller ikke-reaktive (negative) betraktes som dobbelttydige og skal testes på nytt. Hvis resultatet fra den nye testen er dobbelttydig, skal en ny prøve tas en uke senere. Et dobbelttydig resultat med den andre prøven kan anses som reaktiv (positiv) for anti-Parvovirus B19 IgM.

Kvalitetskontroll-kriterier

Den positive kontrollen, negative kontrollen og kalibratoren (cutoff-kontroll) må alltid inkluderes for å bestemme testresultatenes gyldighet. Resultatene av en analyse betraktes som gyldige hvis følgende kriterier er innfridd.

1. Den positive kontrollens gjennomsnittlige absorbans er større enn eller lik 0,8 optiske densitetsenheter.
2. Den negative kontrollens gjennomsnittsabsorbans er mindre enn eller lik 0,15 optiske densitetsenheter og også under COV x 0,9.

Hvis ovennevnte kriterier ikke er innfridd, betraktes analysen som ugyldig og må gjentas.

Begrensninger for bruk

- Resultater må korreleres med pasientens kliniske og epidemiologiske profil og andre kliniske laboratorieresultater ved diagnostisering av Parvovirus B19-infeksjon.
- Et ikke-reaktivt (negativt) resultat utelukker ikke muligheten for Parvovirus B19-infeksjon. Ved eventuell mistanke om Parvovirus B19-infeksjon bør et negativt resultat følges opp med ny test to uker senere.
- Det foreligger ikke nok tilgjengelig data til å støtte tolkningen av resultater av tester utført med andre kroppsvæsker eller samlinger av seraprøver.
- Testresultat kan påvirkes av avvik fra prosedyren, tolkning eller anbefalte forholdsregler.
- Prøver som inneholder anti-nukleære antistoffer kan gi dobbeltydige eller positive testresultater i Biotrin Parvovirus B19 IgM enzymimmunkjemiske analyse (se avsnitt: Metodeegenskaper).
- EBV IgM-positive prøver kan også gi dobbeltydige eller positive testresultater i Biotrin Parvovirus B19 IgM enzymimmunkjemiske analyse (se avsnitt: Metodeegenskaper).
- Testresultater av prøver fra immunkompromitterte pasienter kan være vanskelige å tolke.
- Analysens yteevne er validert på grunnlag av testing av duplikate prøver. Det anbefales at laboratoriets personale gjør seg kjent med metodeegenskapene før pasientprøvene analyseres hver for seg.

Metodeegenskaper

Sensitivitet og spesifisitet

Totalt 184 prøver ble testet på tre separate lot tilhørende Biotrin 4. generasjons Parvovirus B19 IgM EIA. Prøvene ble påvist som positive eller negative med Biotrin 3. generasjons Parovirus B19 IgM EIA. De positive prøvene ble opprinnelig kjennetegnet ved kliniske symptomer forbundet med Parvovirus B19-infeksjon og/eller PCR. En sammenligning av resultatene oppnådd mellom Biotrin 3. generasjons Parvovirus B19 IgM EIA og Biotrin 4. generasjons Parvovirus B19 IgM EIA vises i tabell 1.

Biotrin Parvovirus B19 3. generasjons IgM EIA					
Biotrin Parvovirus B19 4. generasjons IgM EIA		Positiv	Negativ	Dobbeltydig	Sum
	Positiv	100	0	0	100
	Negativ	0	84	0	84
	Dobbeltydig	0	0	0	0
	Sum	100	84	0	184

Tabell 1: Sensitivitets- og spesifisitetsberegninger for Biotrin 4. generasjons Parvovirus B19 IgM EIA ved sammenligning med resultatene av Biotrin 3. generasjons Parvovirus B19 IgM EIA.

Dobbeltydige resultater ble inkludert i denne utregningen i henhold til anbefalinger fra FDA. Prosenten av sensitivitet og spesifisitet ble utregnet med følgende formler:

Sensitivitet = Sanne positiver delt på (sanne positiver + falske negativer + dobbeltydige resultater) x 100

$$\% \text{ sensitivitet} = (100/100) * 100 = 100 \%$$

Spesifisitet = Sanne negativer delt på (sanne negativer + falske positiver + dobbeltydige resultater) x 100

$$\% \text{ spesifisitet} = (84/84) * 100 = 100 \%$$

Innen-analyse reproduserbarhet

En serie serumprøver som varierte i Parvovirus B19 IgM-nivåer fra ikke-reaktive til sterkt reaktive ble analysert totalt tretti ganger. Replikater ble testet med én ELISA-plate. De resulterende OD-verdiene ble summert og gjennomsnitts-OD, standardavvik (SD) og prosent variasjonskoeffisient (%CV) ble utregnet, tabell 2. Disse resultatene er også presentert i forhold til indeksverdier i tabell 3. Prosent CV uttrykt i forhold til OD (indekser) varierte fra 9,6 % i en ikke-reaktiv prøve (negativ 2) til 4,7 % for sterkt reaktive prøver.

Testprøve	Gjennomsnitts-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

Tabell 2: Mellom-analyse reproduserbarhet uttrykt i forhold til OD med 30 replikater av hver av 5 forskjellige serumprøver som varierte i Parvovirus B19 IgM-nivåer fra ikke-reaktiv til sterkt reaktiv.

Testprøve	Gjennomsnitts- INDEKS	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

Tabell 3: Innen-analyse reproduserbarhet uttrykt i forhold til indeksverdier med 30 replikater av hver av 5 forskjellige serumprøver som varierte i Parvovirus B19 IgM-nivåer fra ikke-reaktiv til sterkt reaktiv.

Mellom-analyse reproduserbarhet

Mellom-analyse reproduserbarhet ble undersøkt med 3 lot av Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA (4. generasjon). Et panel med prøver bestående av sterkt reaktive (5), moderat reaktive (2), svakt reaktive (6) og ikke-reaktive (7) ble testet på hvert parti totalt 10 ganger. Dette førte til en generell prøvestørrelse (n) på 30 for hver prøve.

Når disse dataene analyseres i forhold til mellom-analyse og mellom-parti reproduserbarhet, påviser Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA svært god korrelasjon i testresultater mellom forskjellige analyser og forskjellige partier. Reproduserbarhetsdato for 6 prøver er gjengitt i tabell 4.

Prøvetype	Testprøver	Gjennomsnitts- indeks	SD	% CV	N
Ikke-reaktiv	CLB 80	0.1	0.01978	20%	30
Ikke-reaktiv	CLB 36	0.1	0.025944	24%	30
Svakt reaktiv	2908	2.0	0.301846	15%	30
Svakt reaktiv	4923	1.5	0.246982	16%	30
Moderat reaktiv	CLB 82	3.4	0.44587	13%	30
Sterkt reaktiv	CLB 75	7.3	1.205097	17%	30

Tabell 4: Generell reproduserbarhet mellom analyser. Data (indekser) akkumulert fra 3 partier av Biotrin Parvovirus B19 IgM EIA.

Analysespesifisitet

Spesifisiteten av Biotrin Parvovirus B19 IgM enzymimmunkjemisk analyse ble evaluert ved å teste prøver fra pasienter med virusinfeksjoner eller sykdomstilstander som kan føre til kliniske symptomer som ligner på Parvovirus 19 (tabell 5).

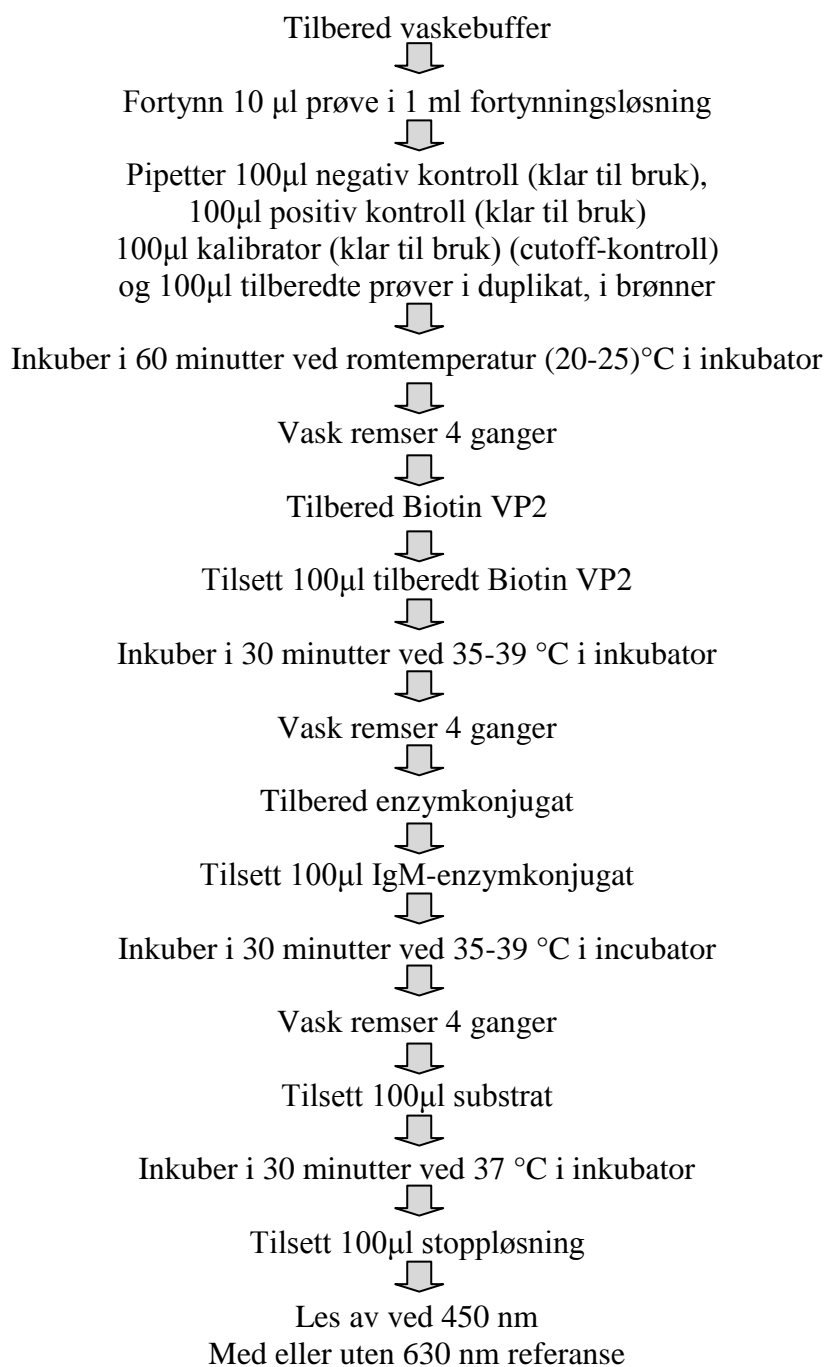
Prøver som er testet	Antall positive prøver
Anti-nukleære antistoffer (ANA)	1/10†
Autoimmun sykdom	0/4
Cytomegalovirus (CMV)	0/16
Epstein-Barr virus (EBV)	1/32†
Hemolysert prøve	0/3
Herpes Simplex-virus (HSV)	0/2
Influenza B	0/5
Lipemisk prøve	0/3
Lupus erythematosus	0/6
Kusmavirus	0/1
Mykoplasma	1/5†
Parainfluenza	0/1
Reumatoidfaktor (RF)	0/15
Røde hunder-virus	0/10
Toxoplasma gondii	0/14
Varicella Zoster Virus (VZV)	0/3

Tabell 5: Parvovirus B19 IgM enzymimmunkjemisk analysespesifisitet.

†EBV IgM, Mycoplasma IgM- og ANA-prøver, som var reaktive i Biotrin 4. generasjons Parvovirus B19 IgM-enzym immkjemiske analyse, viste seg også å være reaktive i Biotrin 3. generasjons Parvovirus B19 IgM-enzym immkjemiske analyse. Dermed kan ikke sannsynligheten for genuin Parvovirus B19 IgM-reaktivitet utelukkes.

Sammendrag av Parvovirus B19 IgM EIA-prosedyre

Vennligst les hele pakningsvedlegget før analysen startes. Dette sammendraget er kun for hurtigreferanse.



Tolkning av symboler

In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr



Bruk innen



Temperaturbegrensning



Partikode



Produsent



Katalognummer



Bruksanvisninger



Bibliografi

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 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, 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



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

Dokumentkode: PEMIV-471-01 11/09