

VIDAS[®] TOXO IgM (TXM)

VIDAS TOXO IgM yra automatizuotas kokybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, anti-toksoplazma IgM žmogaus serume, panaudojant ELFA technologiją (Enzyme Linked Fluorescent Assay), nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Toxoplasma gondii, obligatinis viduląstelinis pirmuonis parazitas yra reikšmingas žmonių parazitas. Parazitas, kurio pirminis šeimininkas yra *Felidae* šeimos atstovai, yra paplitęs gamtoje ir gali užkrėsti visas žinduolių rūšis (1).

Toksoplazmozė imunokompetentiniams asmenims dažnai vyksta švelniai ar asimptomiškai, tačiau gali būti keletas pasekmių, jei ji pasireiškia imunodeficitiniams asmenims ar vaisiui. Įgimta toksoplazmozė, susijusi su užkrėtimu iš motinos pusės prieš pastojimą yra išskirtinis atvejis ir dažnai pasireiškia imunologiškai silpnoms moterims (11). Moteris, kuri yra seropozityvi prieš tapdama nėščia yra iš esmės apsaugota nuo to, kad infekcija bus perduota negimusiam kūdikiui. Galimas perdavimas vaisiui kyla dėl transplacentinės toksoplazmos migracijos ūmioje infekcijos stadijoje. Vaisiaus infekcijos dažnis ir sunkumas priklauso nuo faktorių tokių kaip užkrečiančios linijos virulentiškumo, originalių inokuliatų dydžio, imuninio paciento atsako kai nėštumo metu motina buvo užkrėsta. (2-7).

T.gondii infekcijos diagnozė dažniausiai atliekama biologiniu tyrimu: specifinių imunoglobulinų aptikimas (IgM ir IgG) (1, 4, 6).

Ūmios įgyjamos infekcijos nėštumo metu diagnostika yra nustatoma aptinkant serokonversiją ar žymiu antikūnų titro didėjimu nuosekliai tiriamuose serumuose (7-10).

VIDAS TOXO IgM yra skirtas kaip pagalbinė priemonė paciento imuniniam statusui nustatyti.

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas imunofermentiniu imuninio surišimo metodu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR[®]) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po mėginio skiedimo etapo, IgM surišami polikloninių antikūnų, kurie dengia vidinį SPR antgalio paviršių. Anti-toksoplazma IgM yra specifiskai aptinkami inaktyvuotos toksoplazmos antigeno (RH Sabin štamais), kuris pats yra aptinkamas šarmine fosfataze žymėtu monokloniniu anti-toksoplazmos antikūnu (anti-P30).

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Tyrimo pabaigoje rezultatai, priklausomai nuo atmintyje išsaugotos kalibravimo kreivės, yra automatiškai apskaičiuojami instrumente ir tuomet yra atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ):

60 TXM strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 TXM SPR antgalių 2 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta anti-žmogaus μ grandinės antikūnais (ožkos).
TXM teigiama kontrolė 1 x 2 ml (skysta)	C1	Žmogaus serumas* turintis anti-Toxoplasma IgM + baltyminio stabilizatoriaus + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklovimo intervalas ("Control C1 (+) Test Value Range").
TXM neigiama kontrolė 1 x 2 ml (skysta)	C2	Žmogaus serumas* neigiamas for anti-Toxoplasma IgM + baltyminio stabilizatoriaus + 1 g/l natrio azido.
TXM standartas 1 x 1 ml (skystas)	S1	Žmogaus serumas* turintis anti-Toxoplasma IgM + baltyminio stabilizatoriaus + 1 g/l natrio azido.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV-2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR

SPR® antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas anti-žmogaus μ grandinės antikūnais (ožkos). Kiekvienas SPR yra identifiкуotas TXM kodu. Iš pakuotės išimkite tik reikiamą SPR kiekį ir **atidare ją kruopščiai sandariai uždarykite**.

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

TXM strypelio apibūdinimas

1	Mėginio šulinėlis.
2	Serumo skiediklis: TRIS buferis (50 mmol/l) pH 7.4 + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (300 μ l).
3	Prieš praplovimo buferis: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (600 μ l).
4 - 5 - 7 - 8	Plovimo buferis: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (600 μ l).
6	Konjugatas: šarminė fosfatazė žymėtas imuninis kompleksas (toksoplazmos antigenas RH Sabin štamo, išauginta pelėse (12) - pelės monokloniniai anti-P30 antikūnai) + 0.9 g/l natrio azido + 0.02% gentamicino (400 μ l).
9	Tuščias šulinėlis
10	Kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/l) + dietanolamino (DEA*) (0.62 mol/l ar 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l natrio azido (300 μ l).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetė su vienkartinio antgalio dozuoti 100 μ l.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifinės priemonės ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kraujo produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite *Laboratory biosafety manual* - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).

- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar SPR antgalių) iš skirtingų gaminių serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengti šių junginių susikaupimo.
- Optinė kiuvetė su substratu 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazės "H" ir atsargumo frazės "P" pateiktas aukščiau.

- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žr. vartotojo vadove, kaip valyti išsipyliusius ant ar į instrumentą skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą reikia reguliariai valyti ir nukenksminti (žr. vartotojo vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS TOXO IgM rinkinį prie 2-8°C.
- **Nesušaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR[®] pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas:

Serumas

Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą.

Virkštelės kraujo ar naujagimių serumo naudojimas nėra patvirtintas. Šiems mėginiams mes rekomenduojame naudoti Toxo-ISAGA metodiką, kodas 75 361.

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių, kurie yra aiškiai hemolizuoti, lipemiški ar ikteriški; yra rekomenduojama surinkti naujus mėginius.

Su VIDAS TOXO IgM gali būti tiriami karščiu inaktyvuoti serumai (56°C 30 minučių).

Mėginio stabilumas

Mėginiai gali būti laikomi užkimštuose mėgintuvėliuose prie 2-8°C temperatūros iki 7 dienų; jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, serumą užšaldykite prie -25 ± 6 C.

Venkite pasikartojančio užšaldymo ir atšildymo.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti neautomatiškai arba automatiškai (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žr. vartotojo vadovą). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Relative Fluorescence Value) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną "TXM" reagentų strypelį ir vieną "TXM" SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. **Įsitinkinkite, kad pakuotė sandariai kruopščiai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Instrumente tyrimas žymimas "TXM" kodu. Standartas turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C2".
4. Jei būtina, mėginius nuskaidrinkite centrifuguodami.
5. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (kad atskirtumėte serumą nuo gumulėlių).
6. **Šiam tyrimui dozuokite 100 µl standarto, mėginio ar kontrolių.**
7. Įstatykite "TXM" SPR antgalius ir "TXM" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
8. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta vartotojo vadove. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
9. Po išdalijimo pipete, buteliukus vėl užkimškite ir padėkite į 2-8°C temperatūrą.
10. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per **40 minučių**. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
11. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas. Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (Relative Fluorescence Value) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Instrumentas tyrimo vertę skaičiuoja kiekvienam mėginiui (indeksą), kuris yra santykis tarp jo RFV ir atmintyje išsaugoto standarto.

Tyrimų rezultatų interpretacija turi būti atliekama įvertinant paciento istoriją ir kitų tyrimų rezultatus bei kitų IgM tyrimų metodus.

Kadangi anti-toksoplazma IgM nustatymui nėra jokių tarptautinių standartų, VIDAS TOXO IgM reagentas yra kalibruojamas pagal surinktus serumus.

Slenksčiai ir rezultatų interpretavimas

Indeksas	Interpretacija
$i < 0.55$	Neigiama
$0.55 \leq i < 0.65$	Abejotina
$i \geq 0.65$	Teigiama

Abejotini mėginiai (indeksas tarp 0.55 ir 0.65) turi būti tiriami pakartotinai. Jei interpretacija išlieka abejotina, turi būti paimamas naujas mėginys.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su VIDAS TOXO IgM rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė kit.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinos vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento istoriją ir kitų atliktų tyrimų rezultatus.

Vaikams iki 6 mėnesių amžiaus kartais yra neįmanoma aptikti jo gaminamus IgM, todėl dėl pastarosios priežasties turi būti įvertinamas specifinio IgG titro padidėjimas.

AIDS infekuotiems pacientams, su radiologiniais tyrimais susijusių IgG aptikimas yra naudingas diagnostikoje, kadangi padidėjusio IgG kiekio nustatymas ar IgM buvimas nėra labai tikėtinas. Beveik 100% AIDS infekuotiems pacientams, kuriems atsirado toksoplazmozė, IgG yra aptinkamas serume, tuo tarpu kai IgM aptinkamas nedažnai.

Kadangi anti-toksoplazmos IgM išlikimas kelis mėnesius ar keletą metų po serokonversijos yra gana dažnai aprašoma fenomenas, todėl neįmanoma patvirtinti buvusios infekcijos, pagrįstos tik anti-toksoplazmos IgM nustatymu, neįvertinant paciento serologinės istorijos.

ATLIKIMAS

Tyrimai, atlikti naudojantis VIDAS TOXO IgM davė sekančius rezultatus:

Tikslumas

Atkartojamumas to pačio tyrimo serijos ribose:

Buvo tirti 3 mėginiai 20 kartų 3 skirtingus kartus tuo pačiu VIDAS instrumentu.

Serumas	Indekso vidurkis	Standartinis nuokrypis	Vidinis tyrimo CV %
S1	0.96	0.04	3.8
C1	1.39	0.03	2.0
C2	0.09	0.01	11.5

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų

Buvo tirti 3 mėginiai vienu metu 7 skirtingus kartus tuo pačiu VIDAS instrumentu.

Serumas	Indekso vidurkis	Standartinis nuokrypis	Skirtingų tyrimų CV %
S4	2.09	0.10	4.8
S5	0.76	0.04	5.3
S6	0.11	0.01	8.2

Santykinis specifiškumas

Santykinis VIDAS TOXO IgM specifiškumas buvo apskaičiuotas lyginant su Toxo-ISAGA IgM metodu, kodas. 75361, naudojant neatrinktus šviežius serumų mėginius, surinktus iš imunizuotos ir neimunizuotos populiacijos, serumais surinktais prieš užkrėtimą iš nėščių moterų, turėjusių kontaktą su toksoplazmoze, naujagimių virkštelės krauju, neužkrėstu toksoplazmoze ir serumais iš vaikų, kenčiančių nuo įgimtos toksoplazmozės, tačiau neturinčių anti-toksoplazma IgM. Iš 1,483 serumų, su Toxo-ISAGA IgM rinkiniu aptiktų neigiamais, 7 buvo abejotini ir 1,465 buvo neigiami su VIDAS TOXO IgM rinkiniu, kas rodo santykinį specifiškumą **99.25%*** [1,465/1,476] (95% pasiklivimo intervalas: 98.66-99.59%).

Iš 11 mėginių, aptiktų esančiais teigiamais su VIDAS TOXO IgM rinkiniu ir neigiamais su Toxo-ISAGA IgM rinkiniu, 4 buvo teigiami su kitais anti-toksoplazma IgM aptikimo metodais ir 2 atitinkami vėliau kaip 8 savaitės po infekcijos surinktais serumais (likutinis IgM).

*Abejotini rezultatai nebuvo naudoti atlikimo apskaičiavimui.

Santykinis jautrumas

Santykinis VIDAS TOXO IgM jautrumas buvo apskaičiuotas lyginant su Toxo-ISAGA IgM metodu kodas. 75361 naudojantis nėščių moterų, kurios turėjo kontaktą su toksoplazmoze nėštumo metu, serumais ir serumais iš vaikų, kenčiančių nuo įgimtos toksoplazmozės.

Viso buvo tirti 77 biologiškai ir kliniškai dokumentuoti serokonversijos atvejai ir 24 įgimtos infekcijos atvejai.

Įgyta toksoplazmozė:

Iš 150 su Toxo-ISAGA IgM aptiktų teigiamais esančių serokonversinių serumų, 144 buvo teigiami su VIDAS TOXO IgM. Abejotinų rezultatų nebuvo aptikta.

Santykinis nėščių moterų, kurios turėjo kontaktą su toksoplazmoze nėštumo metu jautrumas yra **96.00%** (95% pasiklivimo intervalas: 91.43-98.18%).

Iš 6 prieštaraujančių serumų:

- Keturi atitiko vėliau kaip 8 savaitės po infekcijos surinktais serumais (likutinis IgM). Du iš šių serumų buvo aptikti esantys neigiami su dviem kitais anti-toksoplazma IgM aptikimo metodais.
- Du atitiko mėginius, surinktus tuojau pat po užkrato: anti-toksoplazma IgG nebuvo ar žemas lygis (neigiamas ar silpnai teigiamas Lyse tyrimas) ir žemas IgM lygis (silpnai teigiami Toxo-ISAGA IgM rezultatai). Abiem atvejais serokonversija buvo aptikta vėliau surinktuose mėginiuose.

Ilgimta toksoplazmozė:

Iš 30 įgimtos toksoplazmozės serumų, nustatytų kaip teigiami su su Toxo-ISAGA IgM metodu, 27 buvo teigiami su VIDAS TOXO IgM. Abejotinų rezultatų nebuvo aptikta. Santykinis jautrumas, lyginant su Toxo-ISAGA IgM metodu, naudojant vaikų, kenčiančių nuo įgimtos toksoplazmozės serumus, yra **90.00%** (95% pasiklovimo intervalas: 73.47-97.89%). Teigiama prognozė šiai populiacijai yra 100% (95% pasiklovimo intervalas: 87.23-100%).

Iš 3 prieštaraujančių serumų, vienas buvo paimtas gimimo metu iš virkštelės kraujo. Kiti du buvo surinkti atitinkamai vieno ir trijų mėnesių vaikams. Vienas serumas rodė žemą toksoplazmos IgM kiekį (silpnai teigiamas Toxo-ISAGA IgM rezultatas).

Peržiūrint šiais atvejais įgimtai toksoplazmozei gautus rezultatus, rekomenduojama, kad visi naujagimių su įgimta toksoplazmoze serumai, su VIDAS TOXO IgM nustatyti esantys neigiami, būtų patvirtinti naudojantis Toxo-ISAGA IgM metodu.

KRYŽMINIS REAKTYVUMAS IR SUSIJUSIOS INTERFERUOJANČIOS MEDŽIAGOS

Tyrimo metu buvo tirti 24 mėginiai, turintys reumatoidinį faktorių tačiau neigiami anti-toksoplazma IgM ir 10 mėginių, turinčių anti-EBV IgM tačiau neigiami anti-toksoplazma IgM. Visi šie mėginiai su VIDAS TOXO IgM buvo nustatyti esantys neigiami.

PAPLITIMAS

T. gondii yra griežtas patogenas, kurio paplitimas kinta nuo vienos šalies prie kitos ar net nuo vieno regiono prie kito.

Užsikrėtimas *T.gondii* gali kisti priklausomai nuo kultūrinių papročių ir mitybos įpročių, dėl ko paplitimas kinta nuo mažiau kaip 10% kai kuriuose Šiaurės Europos regionuose iki daugiau kaip 90% Afrikoje.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdamas infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras.

Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. AMBROISE-THOMAS P., et al. Le toxoplasme et sa pathologie. Médecine et Maladies infectieuses, 1993, 23 spécial, 121-128.
2. HOHLFELD P., DALFOS F., COSTA J.M., THULLIEZ Ph., FORESTIER F., SOLE Y., VIDAUD M. Nouvelle approche du diagnostic prénatal de la toxoplasmose congénitale. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 1993, 6, 341-346.
3. REMINGTON J.S./KLEIN J.P. Toxoplasmosis in: REMINGTON J.S AND DESMONT S.G EDS - Infectious diseases of the fetus and newborn infant 1990 p 89-195 W.B. SAUNDERS, PHILADELPHIA.
4. CANDOLFI E., KIEN T. Les nouvelles données de l'interprétation de la sérologie de la toxoplasmose par l'évaluation comparée d'anciennes et de nouvelles techniques sérologiques. Spectra Biologie, 1990, 90, 55-62.
5. SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J.Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of Toxoplasma infection using a purified parasite protein (P30), Clin. exp. Immunol.; 1985, 62, 262-269.
6. THULLIEZ P. et al., Evaluation de trois réactifs de détection par immunocapture des IgM spécifiques de la toxoplasmose. - Revue française des laboratoires, Février 1988, n°169 p 25-31.
7. AMBROISE-THOMAS P., FRANCESIO J., SIMON S. et al. - Les facteurs rhumatoïdes. Cause de non spécificité de l'immunofluorescence anti-IgM dans la toxoplasmose - Ann. Biol. Clin., 1980, 38, 315-319.
8. POULETTY P., PINON J.M., GARCIA-GONZALEZ M., et al. - An Anti-Human Immunoglobulin M Monoclonal Antibody for detection of Antibodies to Toxoplasma gondii. - Eur. J. Clin. Microbiol., 1984, 3, n° 6, 510-515.
9. POULETTY P., KADOUCHE J., GARCIA-GONZALEZ M. et al. - An Anti-Human Chain Monoclonal Antibody: Use for detection of IgM Antibodies to Toxoplasma gondii by reverse Immunosorbent assay - J. Immunol. Methods., 1985, 76, n° 2, 289-298.
10. FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. - Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale. - NPN Médecine, 1990, 165, 259-265.
11. DESMONTS G. - Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. - Press. Méd. 1990: volume 31 n°9 p1445-9.
12. COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui
Pastaba:	<i>Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.</i>

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	05933R	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

BIOMERIEUX, mėlynasis logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, artimiausiu metu registruotini ir/ar registruoti prekybiniai ženklai, priklausantys bioMérieux, vienam iš filialų ar kompanijų.
Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS[®] CMV IgG (CMVG)

IVD

VIDAS CMV IgG is an automated quantitative enzyme immunoassay for use on the VIDAS family instruments for the quantitative measurement, of anti-cytomegalovirus IgG (CMVG) in human serum, using the technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Cytomegalovirus (CMV) is a herpes virus which can cause serious disease in infants and adults. CMV can persist in the human body for several years and can cause recurrent infections or be transmitted to other individuals.

CMV infections are very common; 60 to 85% of the population have been infected but most cases are asymptomatic.

1 to 3% of women are infected during pregnancy and in 1 out of every 2 cases the infection is passed on to the fetus. The infection is most often asymptomatic but in about 5% of cases, the consequences can be very severe: hepatosplenomegaly, hydrocephalus, microcephalism, prematurity. Fetal death is frequent (1,2). Even in cases of asymptomatic infection, approximately 10% of infants show sensorineural after-effects, such as deafness or partial or total blindness.

In immunocompromised patients (HIV positive or organ transplanted), CMV infections can be severe (3).

The detection of IgG antibodies to CMV can be useful in the diagnosis of current primary infection, particularly in pregnant women (4, 5, 6).

The detection of anti-cytomegalovirus IgG is useful in assessing the immune status of patients.

PRINCIPLE

The assay principle combines a two-step enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR[®]) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After dilution, the sample is incubated with the SPR. Anti-CMV IgG antibodies present in the specimen will bind to the CMV antigen coating the interior of the SPR. Unbound components are eliminated during the washing steps.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antibodies present in the sample.

At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument in relation to the calibration curve stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS):

60 CMVG strips	STR	Ready-to-use.
60 CMVG SPRs 2 x 30	SPR	Ready-to-use. SPRs coated with CMV antigen (strain AD169).
CMVG Positive control 1 x 1.5 mL (liquid)	C1	Ready-to-use. Human serum* containing anti-CMV IgG + 1 g/L sodium azide. MLE data indicate the confidence interval in aU/mL (arbitrary unit/mL) ("Control C1 (+) Dose Value Range").
Negative control 1 x 1.9 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin + preservatives.
CMVG Calibrator 1 x 2 mL (liquid)	S1	Ready-to-use. Human serum* containing anti-CMV IgG + 1 g/L sodium azide. MLE data indicate the concentration in aU/mL ("Calibrator (S1) Dose Value") and the confidence interval in "Relative Fluorescence Value ("Calibrator (S1) RFV Range").
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR[®]

The interior of the SPR is coated during production with purified CMV antigen. Each SPR is identified by the CMVG code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The Reagent Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the CMVG Strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	Sample diluent: Phosphate buffer (10 mmol/L) pH 7.2 - Tween + protein and chemical stabilizers + 1 g/L sodium azide (300 µL).
3	Pre-wash solution: Phosphate (10 mmol/L) pH 7.2 - Tween + protein and chemical stabilizers + 1 g/L sodium azide (600 µL).
4 - 5 - 7 - 8	Wash solution: TRIS (50 mmol/L) pH 7.4 + 0.9 g/L sodium azide (600 µL).
6	Conjugate: Alkaline phosphatase-labeled monoclonal anti-human IgG antibodies (mouse) + 1 g/L sodium azide (400 µL).
9	Empty well.
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/L) + diethanolamine DEA* (0.62 mol/L or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/L sodium azide (300 µL).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard Statement**

H318: Causes serious eye damage.

Precautionary Statement

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 µL.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User Manual.
- Instrument of the VIDAS[®] family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- For professional use only.
- This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - Latest edition).
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).

- Do not use reagents after the expiration date indicated on the box label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The optical cuvette with substrate (well 10) contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent and a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS CMV IgG kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen Type and Collection

Human serum.

It is recommended that each laboratory checks the compatibility of used collection tubes.

The use of clearly hemolyzed, lipemic, icteric or inactivated samples has not been validated.

Specimen Stability

Samples can be stored at 2-8°C in stoppered tubes for up to 5 days; if longer storage is required, freeze the sera at -25 ± 6°C.

Avoid successive freezing and thawing.

A study performed on samples frozen for 12 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User Manual.

Reading Master Lot Data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need to be entered only once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User Manual).

Calibration

Calibration, using the calibrator provided in the kit, must be performed upon receipt of a new lot of reagents after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The calibrator, identified by S1, must be tested **in duplicate** (see User Manual). The calibrator value must be within the set RFV (Relative Fluorescence Value) range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "CMVG" strip and one "CMVG" SPR for each sample, control or calibrator to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**

3. The test is identified by the code "CMVG" on the instrument (to do so, refer to the Instrument User Manual). The calibrator must be identified by "S1", and tested **in duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by C1. If the negative control is to be tested, it should be identified by C2.

4. Mix the calibrator, controls and samples using a Vortex-type mixer (for serum separated from the pellet).

5. **For this test, the calibrator, control, and sample test portion is 100 µL.**

6. Insert the "CMVG" SPRs and "CMVG" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.

7. Initiate the assay as directed in the User Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.

8. Restopper the vials and return them to 2-8°C after pipetting.

9. The assay will be completed within approximately 40 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.

10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The results are automatically calculated by the instrument using calibration curves which are stored by the instrument (4-parameter logistic model). The concentrations are expressed in aU/mL.

Samples with anti-CMV IgG concentrations > 400 aU/mL should be reassayed after dilution by 1/4 in saline solution. If the dilution factor has not been entered when the Work List was created (see User Manual), multiply the result by the dilution factor to obtain the sample concentration. For serological monitoring, to obtain an accurate serum titer, dilute the samples with concentrations > 150 aU/mL in order to obtain a result ranging between 50-150 aU/mL.

Since no international standard is available for the determination of anti-CMV IgG, the VIDAS CMV IgG reagent is calibrated against collection sera.

Thresholds and Interpretation of Results

Value (aU/mL)	Interpretation
< 4	Negative
from ≥ 4 to < 6	Equivocal
≥ 6	Positive

It is recommended to confirm equivocal results using a second sample.

Critical Ratio

The critical ratio determines a significant increase in antibody level. This increase is indicative of an active infection and is calculated as follows:

$$\text{Critical ratio} = \frac{2^{\text{nd}} \text{ collection of sample aU/mL}}{1^{\text{st}} \text{ collection of sample aU/mL}}$$

Critical ratio	Interpretation
< 2	No significant change in antibody level in 25% of cases
2 - 4	Suggestive of an increase in antibody level in 15% of cases.
> 4	Highly significant increase in antibody level in 60% of cases.

If the critical ratio increases by a factor of less than 4, it is recommended to collect a new specimen within 2 to 3 weeks.

This critical ratio must in no case be used to exclude an active infection.

For serological monitoring, it is recommended to test the samples from the different collections in the same run using the same lot.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS CMV IgG kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any applicable local regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

1. The VIDAS CMVG assay results should be interpreted taking into account the clinical symptoms and the medical analysis results from other tests (e.g. detection of anti-CMV IgM in case of primary infection).
2. Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed
3. VIDAS CMV IgG has not been validated for use with specimens collected post mortem.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS CMVG gave the following results:

Study 1: During evaluation at an external site, 284 samples were tested in comparison with another commercially available EIA.

Discrepant samples were checked using another method. Equivocal samples were excluded from the performance calculation.

N = 284		VIDAS CMV IgG		
		+	Equivocal	-
EIA results	+	169	10	3
	Equivocal	0	1	0
	-	0	1	100

Sensitivity: 98.26%. Range at 95%: 94.90 - 99.42%

Specificity: 100%. Range at 95%: 96.15 - 100%

Agreement: 98.9%. Range at 95%: 96.75 - 99.63%

Study 2: During evaluation at an external site, 396 samples were tested in comparison with another commercially available EIA.

Discrepant samples were checked using another method. Equivocal samples were excluded from the performance calculation.

N = 396		VIDAS CMV IgG		
		+	Equivocal	-
EIA results	+	241	3	2
	Equivocal	0	0	2
	-	0	10	138

Sensitivity: 99.18%. Range at 95%: 96.98 - 99.78%

Specificity: 100%. Range at 95%: 97.18 - 100%

Agreement: 99.5%. Range at 95%: 98.06 - 99.86%

Precision

Within-Run Reproducibility:

3 samples were tested 30 times in a same run.

Sera	Mean RFV	Intra-Run CV %
Negative	60	4
Weakly positive	1151	2.5
Strongly positive	2784	2.1

Between-Run Reproducibility:

2 samples were tested singly in 8 different runs on the same VIDAS instrument.

Sera	Average Titer aU/mL	Between-Run CV %
Weakly positive	34.5	4.1
Strongly	296	15

Sera	Mean RFV	Between-Run CV %
Weakly positive	2926	2.8
Strongly positive	5434	1.6

RANGE OF EXPECTED VALUES

The incidence of serum anti-CMV IgG differs according to the populations studied. In developed countries, the percentage of CMV positive women between 15-30 years of age does not exceed 40-50%.

The curve showing IgG acquisition as a function of age reveals 2 peaks: one in the first year of life, the other after puberty, proving that the infection is sexually transmissible.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. STARR S.E., and FRIEDMAN H.M. "Human Cytomegalovirus", Chapter 65 in Manual of Clinical Microbiology, fourth edition, edited by E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., H.J. Shadomy, American Society for Microbiology, 1985, 711-719.
2. PECKHAM C.S. "Cytomegalovirus in the neonate". Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1989, 23, 17-21.
3. CHOU S., et al. "Immunoglobulin M to cytomegalovirus in primary and reactivation infections in renal transplant recipients". Journal of Clinical Microbiology. 1987, 25, 52-55.
4. ANDERSSON J. Cytomegalovirus Infection in Pregnancy, Scand. J. Infect. Dis., 1990, Suppl. 71, 67-70.
5. HORODNICEANU F., MICHELSON S. "Assessment of human cytomegalovirus antibody detection techniques". Archives of Virology. 1980, 64, 287-301.
6. JOASSIN L., REGINSTER M. "Elimination of Nonspecific Cytomegalovirus Immunoglobulin M, Activities in the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay by Using Anti-Human Immunoglobulin G", Journal of Clinical Microbiology, 1986, 23, 576-581.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories:

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	05936Q	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 tests) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	05936R	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) INSTRUCTIONS FOR USE
2016/10	05936S	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) PERFORMANCE

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.
Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS[®] CMV IgG (CMVG)

IVD

VIDAS CMV IgG yra automatizuotas kiekybinis imunofermentinis tyrimas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais kiekybiškai nustatyti anticitomegalo viruso IgG (CMVG) žmogaus serume naudojant ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) metodą.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Citomegalovirusas (CMV) yra herpes virusas, galintis sukelti rimtus susirgimus kūdikiams ar suaugusiems. CMV žmogaus organizme gali išsilaikyti kelerius metus ir gali sukelti pasikartojančią infekciją ar gali būti perduodama kitiems asmenims.

CMV infekcija yra labai dažna ir nuo 60 iki 85% populiacijos buvo infekuota, tačiau daugeliu atveju liga nepasireiškė jokiais simptomais.

Nuo 1 iki 3% moterų yra infekuojamos nėštumo metu ir bent 1 iš 2 atvejų infekcija yra perduodama vaisiui. Daugeliu atvejų infekcija nepasireiškia jokiais simptomais, tačiau apie 5% atvejų gali pasireikšti sekantys požymiai: hepatosplenomegalija, hidrocefalusas, mikrocefalizmas, priešlaikiškumas. Dažnos būna vaisiaus mirtys (1, 2).

Net ir nepasireiškiant jokiems požymiams apie 10% kūdikių gali pasireikšti sensoneurologiniai vėlesni efektai, tokie kaip dalinis ar pilnas aklumas.

Imunologiškai pavojuje esantiems pacientams (ŽIV teigiami ar tie, kuriems numatoma organų transplantacija), CMV gali būti sudėtinga (3).

IgG antikūnų prieš CMV nustatymas gali būti naudingas esančios pirminės infekcijos nustatymui, ypač nėščiosioms (4, 5, 6).

Anti-citomegaloviruso IgG nustatymas yra naudingas paciento imuninio statuso įvertinimui.

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas dviejų etapų imunofermentiniu metodu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR[®]) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po skiedimo mėginys yra inkubuojamas su SPR antgaliu. Anti-CMV IgG antikūnai, esantys mėginyje, susiriša su CMV antigenu, dengiančiu vidinį SPR antgalio paviršių. Nesurišti komponentai yra pašalinami plovimo metu.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas proporcingas mėginyje esančių antikūnų koncentracijai.

Tyrimo pabaigoje rezultatai, priklausomai nuo kalibravimo kreivės išsaugotos atmintyje, yra automatiškai apskaičiuojami instrumente ir tuomet yra atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ):

60 CMVG strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 CMVG SPR antgalių 2 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalis padengtas CMV antigenu (štamai AD169).
CMVG teigiama kontrolė 1 x 1.5 ml (skysta)	C1	Paruošta naudoti. Žmogaus serumas* turintis anti-CMV IgG + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo pasiklovimo intervalą aU/ml vienetais (sutartiniais vienetais/ml) ("Control C1 (+) Dose Value Range").
Neigiama kontrolė 1 x 1.9 ml (skysta)	C2	Paruošta naudoti. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai.
CMVG kalibratorius 1 x 2 ml (skystas)	S1	Paruošta naudoti. Žmogaus serumas* turintis anti-CMV IgG + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo kalibratoriaus koncentraciją aU/ml vienetais ("Calibrator (S1) Dose Value") ir pasiklovimo intervalą „Relative Fluorescence Value („Calibrator (S1) RFV Range“).

Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos:

- MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu.
- ar
- MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės

1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib.

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR[®]

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas CMV antigenu. Kiekvienas SPR yra identifiukuotas CMVG kodu. Iš pakuotės išimkite tik reikiamą SPR kiekį ir **atidarę jį kruopščiai sandariai uždarykite**.

Reagentų strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį.

Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

CMVG strypelio apibūdinimas

Šulinėlis	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: fosfatinis buferis (10 mmol/l) pH 7.2 - Tween + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 1 g/l natrio azido (300 µl).
3	Prieš praplovimo buferis: fosfatas (10 mmol/l) pH 7.2 - Tween + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 1 g/l natrio azido (600 µl).
4 - 5 - 7 - 8	Plovimo tirpalas: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + 0.9 g/l natrio azido (600 µl).
6	Konjugatas: šarmine fosfataze žymėti monokloniniai anti-žmogaus IgG antikūnai (pelės) + 1 g/l natrio azido (400 µl).
9	Tuščias šulinėlis.
10	Kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/l) + dietanolamino DEA* (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetė su vienkartinio antgaliu paskirstyti 100 µl.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifinės priemonės ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS® šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kraujo produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar priemonių) iš skirtingų gaminių serijų.
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.

- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengti šių junginių susikaupimo.
- Substratas 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buitėje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žr. vartotojo vadovą, kaip valyti išsipyliusius ant ar į instrumentą skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą reikia reguliariai valyti ir nukenksminti (žr. vartotojo vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS CMV IgG rinkinį prie 2-8°C.
- **Nesušaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas

Žmogaus serumas.

Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą.

Aiškliai hemolizuotų, lipemiškų ar ikteriškų mėginių naudojimas nėra patvirtintas.

Mėginio stabilumas

Mėginius galima laikyti 2-8°C temperatūroje užkimštuose mėgintuvėliuose iki 5 dienų; jeigu reikia saugoti ilgiau, serumą užšaldykite -25 ± 6°C temperatūroje.

Venkite pasikartojančio užšaldymo ir atšildymo.

Studijos, atliktos su 12 mėnesių šaldytais mėginiais, rezultatai parodė, jog rezultatų kokybė nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žr. vartotojo vadovą). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Relative Fluorescence Value) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną "CMVG" reagentų strypelį ir vieną "CMVG" SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. **Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai kruopščiai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Šis testas ant instrumento žymimas „CMVG“ (žr. instrumento naudotojo vadovą). Standartas turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C2".
4. Sūkuriniu maišytuvu sumaišykite kalibratorių, kontrolinius tirpalus ir mėginius (kad serumas būtų atskirtas nuo gumulėlių).

5. Šiam testui kalibratoriaus, kontrolinių tirpalų ir mėginio tyrimo porcija yra 100 µl.

6. Į instrumentą įdėkite „CMVG“ SPR ir „CMVG“ juosteles.
7. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta vartotojo vadove. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
8. Po išdalijimo pipete, buteliukus vėl užkimškite ir padėkite į 2-8°C temperatūrą.
9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 40 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas. Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. RFV (Relative Fluorescence Value) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento, naudojantis kalibravimo kreivėmis, kurios išsaugotos atmintyje (4-parametrų logaritminiu modeliu). Koncentracija išreiškiama aU/ml vienetais.

Mėginiai su anti-CMV IgG koncentracija > 400 aU/ml turi būti tiriami pakartotinai po praskiedimo santykiu 1/4 buferiniu tirpalu. Jei skiedimo faktorius nebuvo įvestas kai buvo kuriamas meniu Work List (žr. vartotojo vadovą), rezultatą padauginkite iš skiedimo faktoriaus, kad gautumėte mėginio koncentraciją. Serologiniam stebėjimui, kad gauti tikslų serumo titrą, mėginius su koncentracija > 150 aU/ml skieskite taip, kad gautumėte rezultatus ribose tarp 50-150 aU/ml.

Kadangi nėra jokių tarptautinių standartų anti-CMV IgG patvirtinimui, VIDAS CMV IgG reagentas yra kalibruojamas pagal atrinktus serumus.

Slenksčiai ir rezultatų interpretavimas

Vertė (aU/ml)	Interpretacija
< 4	Neigiama
Nuo ≥ 4 iki < 6	Abejotina
≥ 6	Teigiama

Abejotinus rezultatus rekomenduojama patvirtinti naudojantis antru mėginiu.

Kritinis santykis

Kritinis santykis nustato reikšmingą antikūnų kiekio padidėjimą. Padidėjimas yra aktyvios infekcijos indikatorius ir apskaičiuojamas sekančiai:

Kritinis santykis = $\frac{2\text{-ojo surinkimo mėginio aU/ml}}{1\text{-ojo surinkimo mėginio aU/ml}}$

Kritinis santykis	Interpretacija
< 2	Nėra reikšmingo antikūnų kiekio padidėjimo 25% atvejų
2 - 4	Sugestyvus antikūnų kiekio padidėjimas 15% atvejų.
> 4	Smarkiai reikšmingas antikūnų kiekio padidėjimas 60% atvejų.

Jei kritinio santykio padidėjimo faktorius yra mažiau kaip 4, rekomenduojama paimti naują mėginį laikotarpyje nuo 2 iki 3 savaičių.

Šis kritinis santykis neturi būti naudojamas aktyviai infekcijai atmesti.

Serologiniam stebėjimui rekomenduojama tirti mėginius iš skirtingų surinkimų tuo pačiu metu, naudojantis tos pačios serijos reagentais.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su VIDAS CMV IgG rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinų vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

- VIDAS CMVG tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į klinikinius simptomus bei kitų medicininių tyrimų rezultatus (pvz. anti-CMV IgM aptikimas pirminės infekcijos atveju).
- Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento istoriją ir kitus atliktus tyrimus.
- VIDAS CMV IgM nebuvo patvirtintas naudoti su post mortem sąlygomis surinktais mėginiais.

ATLIKIMAS

Tyrimai, atlikti naudojantis VIDAS CMVG rodė sekančius rezultatus:

Studija 1: išoriškai atliktuose tyrimuose buvo tirti 284 mėginiai, lyginant juos su kitais komerciniais EIA. Dviprasmiški mėginiai buvo patikrinti naudojantis kitais metodais.

Abejotini mėginiai buvo atmesti atliekant skaičiavimus.

N = 284		VIDAS CMV IgG		
		+	Abejotini	-
EIA rezultatai	+	169	10	3
	Abejotini	0	1	0
	-	0	1	100

Jautrumas: 98.26%. Ribos prie 95%: 94.90 - 99.42 %

Specifiškumas: 100%. Ribos prie 95%: 96.15 - 100 %

Sutarimas: 98.9%. Ribos prie 95%: 96.75 - 99.63%

Studija 2: išoriškai atliktuose tyrimuose buvo tirti 396 mėginiai, lyginant juos su kitais komerciniais EIA. Dviprasmiški mėginiai buvo patikrinti naudojantis kitais metodais.

Abejotini mėginiai buvo atmesti atliekant skaičiavimus.

N = 396		VIDAS CMV IgG		
		+	Abejotini	-
EIA rezultatai	+	241	3	2
	Abejotini	0	0	2
	-	0	10	138

Jautrumas: 99.18%. Ribos prie 95%: 96.98 - 99.78 %

Specifiškumas: 100%. Ribos prie 95%: 97.18 - 100%

Sutarimas: 99.5%. Ribos prie 95%: 98.06 - 99.86%

Tikslumas

Atkartojamumas to pačio tyrimo serijos ribose:

3 mėginiai buvo tirti 30 kartų to pačio tyrimo serijos ribose.

Serumas	Vidutinis RFV	CV % to pačio tyrimo ribose
Neigiamas	60	4
Silpnai teigiamas	1151	2,5
Stipriai teigiamas	2784	2,1

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų:

2 mėginiai buvo tirti po vieną kartą 8 skirtingose serijose tuo pačiu VIDAS instrumentu

Serumas	Vidutinis titras aU/ml	CV % tarp tyrimų
Silpnai teigiamas	34,5	4,1
Stipriai teigiamas	296	15

Serumas	Vidutinis RFV	CV % tarp tyrimų
Silpnai teigiamas	2926	2,8
Stipriai teigiamas	5434	1,6

TIKĖTINŲ VERČIŲ RIBOS

Serumų anti-CMV IgG paplitimas kinta priklausomai nuo tirtų populiacijų. Išsivysčiusiose šalyse, CMV teigiamų 15-30 metų amžiaus moterų procentas neviršija 40-50%. Kreivė kaip funkcija rodanti IgG įgijimą rodo 2 pikus: vieną pirmaisiais gyvenimo metais, kitą po brandos, įrodanti, kad liga yra perduodama lytiniu būdu.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimtios ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. STARR S.E., and FRIEDMAN H.M. "Human Cytomegalovirus", Chapter 65 in Manual of Clinical Microbiology, fourth edition, edited by E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., H.J. Shadomy, American Society for Microbiology, 1985, 711-719.
2. PECKHAM C.S. "Cytomegalovirus in the neonate". Journal of Antimicrobial Chemotherapy.1989, 23, 17-21.
3. CHOU S., et al. "Immunoglobulin M to cytomegalovirus in primary and reactivation infections in renal transplant recipients". Journal of Clinical Microbiology.1987, 25, 52-55.
4. ANDERSSON J. Cytomegalovirus Infection in Pregnancy, Scand. J. Infect. Dis., 1990, Suppl.71, 67-70.
5. HORODNICEANU F., MICHELSON S. "Assessment of human cytomegalovirus antibody detection techniques". Archives of Virology.1980, 64, 287-301.
6. JOASSIN L., REGINSTER M. "Elimination of Nonspecific Cytomegalovirus Immunoglobulin M, Activities in the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay by Using Anti-Human Immunoglobulin G", Journal of Clinical Microbiology, 1986, 23, 576-581.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	In Vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

Pastaba: *Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.*

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	05936Q	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	05936R	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/10	05936S	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) ATLIKIMAS

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausantis prekių ženklai.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS[®] CMV IgM (CMVM)

IVD

VIDAS CMV IgM is an automated qualitative enzyme immunoassay for use on the VIDAS family instruments, for the detection of anti-cytomegalovirus IgM (CMVM) in human serum, using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Cytomegalovirus (CMV) is a herpesvirus which can cause serious diseases in infants and adults. CMV can persist in the human body for several years and can cause recurrent infections or be transmitted to other individuals. CMV infections are very common; 60 to 85% of the population have been infected but most cases are asymptomatic.

1 to 3% of women are infected during pregnancy and in 1 out of every 2 cases the infection is passed on to the fetus. The infection is most often asymptomatic but in about 5% of cases, the consequences can be very severe: hepatosplenomegaly, hydrocephalus, microcephalism, prematurity. Fetal death is frequent (1, 2).

Even in cases of asymptomatic infection, approximately 10% of infants show sensorineural after-effects, such as deafness or partial or total blindness.

In immunocompromised patients (HIV positive or organ transplanted), CMV infections can be severe (3).

The detection of anti-CMV IgM can be useful in the diagnosis of current primary infection, particularly in pregnant women (4, 5, 6).

The anti-CMV IgM present in approximately 70% of primary infections, generally persist 16 to 20 weeks after infection, and may reappear irregularly during reactivation (7).

PRINCIPLE

The assay principle combines a two-step enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR[®]) serves as the solid phase as well as the pipetting device. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After IgG and rheumatoid factor adsorption, the sample is cycled in and out of the SPR for a specified length of time. Anti-CMV IgM antibodies present in the specimen will bind to the CMV antigen coating the interior of the SPR. Unbound components are eliminated during the washing steps.

An Alkaline phosphatase-labeled mouse monoclonal anti-human IgM antibody is cycled in and out of the SPR and binds to the human anti-CMV IgM coated on the SPR. A final wash step removes unbound components.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument in relation to the calibration curve stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (30 TESTS):

30 CMVM Strips	STR	Ready-to-use.
30 CMVM SPRs	SPR [®]	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with CMV antigen (cell culture of the virus of the AD169 strain).
CMVM Positive Control 1 x 0.5 mL (liquid)	C1	Ready-to-use. Human serum* containing anti-CMV IgM + 1 g/L sodium azide. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1 (+)Test Value Range).
Negative Control 1 x 1.9 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin + preservatives.
CMVM Standard 1 x 1 mL (liquid)	S1	Ready-to-use. Human serum* containing anti-CMV IgM + 1 g/L sodium azide.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib .		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with purified CMV antigen. Each SPR is identified by the CMVM code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay

Description of the CMVM Strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	IgG and rheumatoid factor adsorbant (anti-human IgG goat serum) + 1 g/L sodium azide (300 µL).
3	IgG and rheumatoid factor adsorbant (anti-human IgG goat serum) + 1 g/L sodium azide (600 µL).
4	Pre-wash solution: phosphate (10 mmol/L) pH 7.2 + Tween + protein and chemical stabilizers + 1 g/L sodium azide (600 µL).
5 - 7 - 8 - 9	Wash solution: TRIS (50 mmol/L) pH 7.4 + 1 g/L sodium azide (600 µL).
6	Conjugate: Alkaline phosphatase-labeled monoclonal anti-human IgM antibodies (mouse) + 1 g/L sodium azide (400 µL).
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/L) + diethanolamine DEA* (0.62 mol/L or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/L sodium azide (300 µL).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard Statement**

H318: Causes serious eye damage.

Precautionary Statement

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 µL.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User Manual.
- Instrument of the VIDAS family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- For professional use only.
- This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory Biosafety Manual - WHO - Geneva - latest Edition).

- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the box label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.

- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS CMV IgM kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen Type and Collection

Human serum.

It is recommended that each laboratory checks the compatibility of used collection tubes.

Since the use of hemolyzed, lipemic, icteric or inactivated samples has not been validated, it is recommended to collect a new specimen.

Specimen Stability

Samples can be stored at 2-8°C in stoppered tubes for up to 5 days; if longer storage is required, freeze the sera at $-25 \pm 6^\circ\text{C}$.

A study performed on frozen samples over a period of 2 months, showed that the quality of results is not affected.

Avoid successive freezing and thawing.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User Manual.

Reading Master Lot Data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need to be entered only once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested **in duplicate** (see User Manual). The standard value must be within the set RFV (Relative Fluorescence Value) range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "CMVM" strip and one "CMVM" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "CMVM" code on the instrument. The standard must be identified by "S1", and tested **in duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by C1. If the negative control is to be tested, it should be identified by C2.
4. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum separated from the pellet).
5. **For this test, the standard, control, and sample test portion is 100 µL.**
6. Insert the "CMVM" SPRs and "CMVM" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
8. Restopper the vials and return them to 2-8°C after pipetting.
9. The assay will be completed within approximately 60 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate receptacle.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The index (ratio of the fluorescent signal found for the serum to be tested, over the standard signal stored in the memory) is calculated by the instrument.

This index and the interpretation are indicated on the result sheet.

Threshold and Interpretation of Results

Index	Interpretation
$i < 0.70$	Negative
$0.70 \leq i < 0.90$	Equivocal
$i \geq 0.90$	Positive

Repeat the assay for indexes between 0.70 and 0.90. If after verification interpretation is still equivocal, repeat the assay on a new sample collected 10 to 15 days later.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

As no international standard is available for the determination of anti-CMV IgM, the VIDAS CMV IgM reagent is calibrated against collection sera.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS CMVM kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted as part of a complete clinical profile.

The detection of anti-CMV IgM may be difficult in immunocompromised patients. The diagnosis of cytomegalovirus infection or non-infection in immunocompromised patients should not be based solely on the determination of anti-CMV IgM. Interpretation of VIDAS CMV IgM test results should be made taking into consideration the patient's history and the results of any other tests performed (viral culture, viral DNA, anti-CMV IgG, etc.).

VIDAS CMV IgM has not been validated for use with specimens collected post mortem or neonatal specimens (cord blood, etc.).

PERFORMANCE

The VIDAS CMV IgM reagent was evaluated at an external site in comparison with 3 other commercially available EIA methods.

The presence or absence of anti-CMV IgM in each sample was determined by taking into account the concordant results obtained with at least 2 or 3 of the commercially available tests.

Equivocal samples were excluded from the performance calculation.

Sensitivity Study of VIDAS CMV IgM

During the evaluation, 43 typically anti-CMV IgM positive samples were tested. The following results were obtained with VIDAS CMV IgM:

N = 43		VIDAS CMV IgM		
		Positive	Equivocal	Negative
Status	Positive	37	2	4*

* The 4 specimens that were found to be negative were all collected from transplant patients.

Sensitivity: 90.24%

95% Confidence Interval: 76.87 – 97.28%.

Specificity Study of VIDAS CMV IgM

During the evaluation, 171 typically anti-CMV IgM-negative samples were tested. The following results were obtained with VIDAS CMV IgM:

N = 171		VIDAS CMV IgM		
		Positive	Equivocal	Negative
Status	Negative	1	1	169

Specificity: 99.41%

95% Confidence Interval: 96.65 – 99.90%.

Specificity Study of VIDAS CMV IgM on potentially interfering samples

This study was carried out using 171 serum samples with the following characteristics:

- 40 serum samples from patients with HIV1 virus,
- 11 serum samples from infants less than 3 months old,
- 57 serum samples from pregnant women,
- 17 serum samples from carriers of Epstein-Barr virus,
- 5 serum samples from carriers of varicella virus,
- 5 serum samples from carriers of herpes virus,
- 16 serum samples from subjects possessing antinuclear antibodies,
- 20 serum samples from subjects possessing rheumatoid factor.

158 out of the 171 serum samples were diagnosed as anti-CMV IgM-negative. The following results were obtained with VIDAS CMV IgM:

N = 158		VIDAS CMV IgM		
		Positive	Equivocal	Negative
Status	Negative	2*	2	154

*One sample belongs to the group of subjects with rheumatoid factor, the second to the group of patients with antinuclear antibodies.

Specificity: 98.72% 95%

Confidence Interval: 95.34 – 99.66%.

Within-Run Reproducibility

3 samples were tested 30 times in the same run.

Sera	Mean Index	Standard Deviation	Intra-Assay CV %
High positive	1.63	0.09	5.52
Low positive	1.00	0.06	6.00
Negative	0.08	0.01	12.50

Between-Run Reproducibility

3 samples were tested singly in 10 different runs on the same VIDAS instrument.

Sera	Mean Index	Standard Deviation	Inter-Assay CV %
High positive	1.51	0.06	3.97
Low positive	0.96	0.05	5.21
Negative	0.14	0.06	42.86

The figures in the above tables are given for information only.

RANGE OF EXPECTED VALUES

The incidence of cytomegalovirus infection differs according to the populations studied. In developed countries, the percentage of CMV-positive women between 15-30 years of age does not exceed 40-50%.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

- STARR S.E., and FRIEDMAN H.M. "Human Cytomegalovirus", Chapter 65 in Manual of Clinical Microbiology, fourth edition, edited by E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., H.J. Shadomy, American Society for Microbiology, 1985, 711-719.
- PECKHAM C.S. "Cytomegalovirus in the neonate". Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1989, 23, 17-21.
- CHOU S., et al. "Immunoglobulin M to cytomegalovirus in primary and reactivation infections in renal transplant recipients". Journal of Clinical Microbiology. 1987, 25, 52-55.
- ANDERSSON J. Cytomegalovirus Infection in Pregnancy, Scand. J. Infect. Dis., 1990, Suppl. 71, 67-70.
- HORODNICEANU F., MICHELSON S. "Assessment of human cytomegalovirus antibody detection techniques". Archives of Virology. 1980, 64, 287-301.
- JOASSIN L., REGINSTER M. "Elimination of Nonspecific Cytomegalovirus Immunoglobulin M, Activities in the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay by Using Anti-Human Immunoglobulin G", Journal of Clinical Microbiology, 1986, 23, 576-581.
- RANGER-ROGEZ S., VENOT C., AUBARD Y. et al. CytomégaloVirus in: Les virus transmissibles de la mère à l'enfant DENIS F. Ed, 1999, 214-239.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories:

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	06637K	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	06637L	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) INSTRUCTIONS FOR USE
2016/10	06637M	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS)

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.
Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS® CMV IgM (CMVM)

IVD

VIDAS CMV IgM yra automatizuotas kokybinis imunofermentinis tyrimas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais nustatyti anticidomegaloviruso IgM (CMVM) žmogaus serume naudojant ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) metodą.

IVADAS

Citomegalovirusas (CMV) yra herpes virusas, galintis sukelti rimtus susirgimus kūdikiams ar suaugusiems. CMV žmogaus organizme gali išsilaikyti kelerius metus ir gali sukelti pasikartojančią infekciją ar gali būti perduodama kitiems asmenims.

CMV infekcija yra labai dažna ir nuo 60 iki 85% populiacijos buvo infekuota, tačiau daugeliu atveju liga nepasireiškė jokiais simptomais.

Nuo 1 iki 3% moterų yra infekuojamos nėštumo metu ir bent 1 iš 2 atvejų infekcija yra perduodama vaisiui. Daugeliu atvejų infekcija nepasireiškia jokiais simptomais, tačiau apie 5% atvejų gali pasireikšti sekantys požymiai: hepatosplenomegalija, hidrocefalusas, mikrocefalizmas, priešlaikiškumas. Dažnos būna vaisiaus mirtys (1, 2).

Net ir nepasireiškiant jokiems požymiams apie 10% kūdikių gali pasireikšti sensoneurologiniai vėlesni efektai, tokie kaip dalinis ar pilnas aklumas.

Imunologiškai pavojuje esantiems pacientams (ŽIV teigiami ar tie, kuriems numatoma organų transplantacija), CMV gali būti sudėtinga (3).

Anti-CMV IgM nustatymas gali būti naudingas esančios pirminės infekcijos nustatymui, ypač nėščiosioms (4, 5, 6). Anti-CMV IgM stebima apie 70% pirminės infekcijos atvejų, kuri gali išsilaikyti nuo 16 iki 20 savaičių po infekcijos ir gali nereguliariai pasirodyti reaktyvacijos metu (7).

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas dviejų etapų imunofermentiniu metodu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR®) tarnauja kaip kietą fazę reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po IgG ir reumatoidinio faktoriaus absorbcijos mėginys terpė kelis kartus tam tikrą laiką cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Mėginyje esantys anti-CMV IgM antikūnai susiriša su CMV antigenu, padengtu vidinėje SPR antgalio pusėje. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

Šarmine fosfataze žymėti pelės monokloniniai anti-žmogaus IgM antikūnai kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo ir susiriša su žmogaus anti-CMV IgM antikūnais, padengtais ant SPR antgalio. Galutinio plovimo etapo metu pašalinami nesusirišę komponentai.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Tyrimo pabaigoje rezultatai, priklausomai nuo kalibracinės kreivės išsaugotos atmintyje, yra automatiškai apskaičiuojami instrumente ir tuomet yra atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ):

30 CMVM strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
30 CMVM SPR antgalių	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta CMV antigenu (AD169 štamo virusu infekuota ląstelių kultūra).
CMVM teigiama kontrolė 1 x 0.5 ml (skysta)	C1	Paruošta naudojimui. Žmogaus serumas* turintis anti-CMV IgM + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklivimo intervalas ("Control C1 (+) Test Value Range").
Neigiama kontrolė 1 x 1.9 ml (skysta)	C2	Paruošta naudojimui. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai.
CMVM standartas 1 x 1 ml (skystas)	S1	Paruoštas naudojimui. Žmogaus serumas * turintis anti-CMV IgM + 1 g/l natrio azido.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas CMV antigenu. Kiekvienas SPR yra identifiкуotas CMVM kodu. Iš pakuotės išimkite tik reikiamą SPR kiekį ir **atidarykite jį kruopščiai sandariai uždarykite**.

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

CMVM strypelio apibūdinimas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	IgG ir reumatoidinio faktoriaus absorbentas (anti-žmogaus IgG ožkos serumas) + 1 g/l natrio azido (300 µl).
3	IgG ir reumatoidinio faktoriaus absorbentas (anti-žmogaus IgG ožkos serumas) + 1 g/l natrio azido (600 µl).
4	Prieš praplovimo tirpalas: fosfatas (10 mmol/l) pH 7.2 + Tween + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 1 g/l natrio azido (600 µl).
5 - 7 - 8 - 9	Plovimo tirpalas: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + 1 g/l natrio azido (600 µl).
6	Konjugatas: šarmine fosfataze žymėti monokloniniai anti-žmogaus IgM antikūnai (pelės) + 1 g/l natrio azido (400 µl).
10	Nuskaitymo kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/l) + dietanolamino DEA* (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

Pavojingumo frazė

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetės su vienkartiniais antgaliais dozuoti po 100 µl.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifines priemones ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite **Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas**).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurodykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.

- Nemaišykite reagentų (ar SPR antgalių) iš skirtingų gaminių serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengtų šių junginių susikaupimo.
- Substratas 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žr. vartotojo vadove, kaip valyti išsipyliusius ant ar į instrumentą skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą reikia reguliariai valyti ir nukenksminti (žr. vartotojo vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS CMV IgM rinkinį prie 2-8°C.
- **Nesušaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas

Žmogaus Serumą.

Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą.

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių, kurie yra hemolizuoti, lipemiški ar ikteriški ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius.

Mėginio stabilumas

Mėginius galima laikyti 2-8°C temperatūroje užkimštuose mėgintuvėliuose iki 5 dienų; jeigu reikia saugoti ilgiau, serumą užšaldykite -25°±6C temperatūroje.

Tyrimai, atlikti su 2 mėnesius užšaldytais mėginiais, parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta.

Venkite pasikartojančio užšaldymo ir atšildymo.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti viena kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žr. vartotojo vadovą). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Relative Fluorescence Value) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Kiekvienam mėginiui, kontrolei ar standartui tirti naudokite vieną „CMVM“ juostelę ir vieną „CMVM“ SPR. **Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai kruopščiai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Ant instrumento tyrimas nurodytas „CMVM“ kodu. Standartas turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tiriamas, ji turi būti identifikuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tiriamas, ji turi būti identifikuota kaip "C2".
4. Sūkuriniu maišytuvu sumaišykite standartą, kontrolinius tirpalus ir mėginius (kad serumas būtų atskirtas nuo gumulėlių).
5. **Šiam testui standarto, kontrolinių tirpalų ir mėginio tyrimo porcija yra 100 µl.**
6. Į instrumentą įdėkite „CMVM“ SPR ir „CMVM“ juosteles. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
7. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta vartotojo vadove. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
8. Po išdalijimo pipete, buteliukus vėl užkimškite ir padėkite į 2-8°C temperatūrą.
9. Tyrimas bus atliktas apytiksiai per 60 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas.

Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. RFV (Relative Fluorescence Value) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Indeksas (fluorescencinio signalo aptikto tiriamajame serume ir atmintyje išsaugoto standarto signalo santykis) ir yra apskaičiuojamas instrumento.

Šis indeksas ir interpretacija yra pateikiama rezultatų lape.

Slenkstis ir rezultatų interpretavimas

Indeksas	Interpretacija
$i < 0.70$	Neigiama
$0.70 \leq i < 0.90$	Abejotina
$i \geq 0.90$	Teigiama

Tyrimus, kuriems gautas indeksas nuo 0.70 iki 0.90, pakartokite. Jei po patvirtinančios interpretacijos indeksas vis tiek yra įtartinas, pakartokite tyrimą su nauju mėginiu, paimtu po 10 ar 15 dienų vėliau.

Tyrimų rezultatų interpretacija turi būti atliekama įvertinant paciento istoriją ir kitų tyrimų rezultatus.

Kadangi nėra jokių tarptautinių standartų anti-CMV IgM patvirtinimui, VIDAS CMV IgM reagentas yra kalibruojamas pagal atrinktus serumus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su VIDAS CMVM rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė kit.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuoju pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinų vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami kaip pilno klinikinio vaizdo dalis.

Anti-CMV IgM aptikimas gali būti komplikuojamas imunologiškai pavojuje esantiems pacientams. Citomegaloviruso infekcijos ar jos nebuvimo diagnozė imunologiškai pavojuje esantiems pacientams neturi būti grindžiama tik anti-CMV IgM nustatymu. VIDAS CMV IgM tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokių kitų atliktų tyrimų (virusinės kultūros, virusinė DNR, anti-CMV IgG ir pan.) rezultatus.

VIDAS CMV IgM nebuvo patvirtintas *post mortem* ar naujagimių mėginiams tirti (virkštelės kraujas ir pan.).

ATLIKIMAS

VIDAS CMV IgM reagentas buvo tikrinamas nepriklausomoje vietoje lyginant su 3 kitais komerciniais EIA metodais.

Anti-CMV IgM buvimas ar nebuvimas kiekviename mėginyje buvo nustatomas atsižvelgiant į atitinkamus rezultatus, gautus 2 ar 3 komerciniais rinkiniais.

Įtartini mėginiai buvo išskiriami iš atliekamų skaičiavimų.

VIDAS CMV IgM jautrumo studija

Tyrimo metu buvo tiriami 43 tipiniai anti-CMV IgM teigiami mėginiai. Sekantys rezultatai buvo gauti su VIDAS CMV IgM:

N = 43		VIDAS CMV IgM		
		teigiamas	įtartinas	neigiamas
Būsena	teigiamas	37	2	4*

* 4 mėginiai, kurie buvo aptikti kaip neigiami, buvo paimti iš pacientų, kuriems buvo atliekama transplantacija.

Jautrumas: 90.24%

95% Pasiklovimo intervalas: 76.87 – 97.28%.

VIDAS CMV IgM specifiškumo studija

Tyrimo metu buvo tiriami 171 tipiniai anti-CMV neigiami mėginiai. Sekantys rezultatai buvo gauti su VIDAS CMV IgM:

N = 171		VIDAS CMV IgM		
		teigiamas	įtartinas	neigiamas
Būsena	teigiamas	1	1	169

Specifiškumas: 99.41%

95% Pasiklovimo intervalas: 96.65 – 99.90%

VIDAS CMV IgM specifiškumo studija su potencialiai interferuojančiais mėginiiais

Studija buvo atlikta naudojant 171 serumo mėginius su sekančiomis charakteristikomis:

- 40 serumo mėginių iš pacientų su ŽIV1 virusu,
- 11 serumo mėginių iš kūdikių, jaunesnių kaip 3 mėnesiai,
- 57 serumo mėginiai iš nėščių moterų,
- 17 serumo mėginių iš Epstein-Barr viruso nešiotojų,
- 5 serumo mėginiai iš vėjaraupų viruso nešiotojų,
- 5 serumo mėginiai iš herpes viruso nešiotojų,
- 16 serumo mėginių iš asmenų, turinčių antinuklearinius antikūnus,
- 20 serumo mėginių iš asmenų, turinčių reumatoidinį faktorių.

158 iš 171 serumo mėginių buvo diagnozuoti kaip anti-CMV IgM neigiami. Sekantys rezultatai buvo gauti su VIDAS CMV IgM:

N = 158		VIDAS CMV IgM		
		teigiamas	įtartinas	neigiamas
Būsena	teigiamas	2*	2	154

* vienas mėginys priklauso asmenų grupei su reumatoidiniu faktoriumi, antrasis grupei asmenų su antinukleariniais antikūnais.

Specifiškumas: 98.72% 95%

Pasiklovimo intervalas: 95.34 – 99.66 %.

Atkartojamumas to pačio tyrimo serijos ribose

3 mėginiai buvo tirti 30 kartų to pačio tyrimo serijos ribose.

Serumas	Vidutinis indeksas	Standartinis nukrypimas	CV % to pačio tyrimo ribose
Smarkiai teigiamas	1.63	0.09	5.52
Mažai teigiamas	1.00	0.06	6.00
neigiamas	0.08	0.01	12.50

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų

3 mėginiai buvo tirti po vieną kartą 10 skirtingų serijų tuo pačiu VIDAS instrumentu.

Serumas	Vidutinis indeksas	Standartinis nukrypimas	CV % skirtingų tyrimų ribose
Smarkiai teigiamas	1.51	0.06	3.97
Mažai teigiamas	0.96	0.05	5.21
Neigiamas	0.14	0.06	42.86

Skaičiai, pateikiami lentelėse, yra nurodomi tik kaip orientyras.

TIKĖTINŲ VERČIŲ RIBOS

Citomegaloviruso infekcijos atvejai skiriasi priklausomai nuo tirtų populiacijų. Išsivysčiusiose šalyse, CMV teigiamų 15-30 metų amžiaus moterų procentas neviršija 40-50%.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. STARR S.E., and FRIEDMAN H.M. "Human Cytomegalovirus", Chapter 65 in Manual of Clinical Microbiology, fourth edition, edited by E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., H.J. Shadomy, American Society for Microbiology, 1985, 711-719.
2. PECKHAM C.S. "Cytomegalovirus in the neonate". Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1989, 23, 17-21.
3. CHOU S., et al. "Immunoglobulin M to cytomegalovirus in primary and reactivation infections in renal transplant recipients". Journal of Clinical Microbiology. 1987, 25, 52-55.
4. ANDERSSON J. Cytomegalovirus Infection in Pregnancy, Scand. J. Infect. Dis., 1990, Suppl. 71, 67-70.
5. HORODNICEANU F., MICHELSON S. "Assessment of human cytomegalovirus antibody detection techniques". Archives of Virology. 1980, 64, 287-301.
6. JOASSIN L., REGINSTER M. "Elimination of Nonspecific Cytomegalovirus Immunoglobulin M, Activities in the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay by Using Anti-Human Immunoglobulin G", Journal of Clinical Microbiology, 1986, 23, 576-581.
7. RANGER-ROGEZ S., VENOT C., AUBARD Y. et al. Cytomégalo virus in: Les virus transmissibles de la mère à l'enfant DENIS F. Ed, 1999, 214-239.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas

Administracinis Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

Pastaba: *Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.*

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	06637K	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	06637L	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/10	06637M	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ)

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausantys prekių ženklai.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS[®] TOXO IgG II (TXG)

VIDAS TOXO IgG II is an automated quantitative test for use on the VIDAS family instruments for the quantitative measurement of anti-toxoplasma IgG in human serum or plasma (lithium heparin or EDTA) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Toxoplasma gondii, (1) an obligate intracellular protozoan parasite, is a significant pathogen among humans. The parasite, whose primary host is the Felidae, is scattered in nature and invades all orders of mammals.

Toxoplasmosis is usually benign or asymptomatic, but can have severe consequences if it occurs in immunodeficient subjects or fetuses (2). Women who are seropositive before they become pregnant are essentially protected from transmitting the infection to their unborn child (3, 4, 5, 6, 7). Women who are seronegative are at risk of becoming infected during gestation. Transmission to the fetus occurs during the acute stage of the infection in the mother. The frequency with which *Toxoplasma* crosses the placental barrier to cause congenital infection will depend on a number of factors including the virulence of the infecting strain of the parasite, the size of the original inoculum, the immune response of the patient and when, during gestation, the mother became infected (8).

The prevalence of toxoplasmosis varies depending upon geographical location, age and gender of the population studied and other factors. In Europe, the prevalence rate ranges from 20% to 85%. In the United States, the prevalence is lower: 12% to 41%. Prevalence in other countries can vary from 18% to 65%.

The diagnosis of *T.gondii* infection is most commonly made by biological examination: specific immunoglobulin detection (IgM and IgG)(9, 10).

The diagnosis of the acute acquired infection during pregnancy is established by demonstration of a seroconversion, or by a significant rise in antibody titer in sequential sera assayed concomitantly (6, 11).

VIDAS TOXO IgG II is a screening test intended for use as an aid in the determination of the immunity status of patients.

PRINCIPLE

The assay principle combines a two-step enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR[®]) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After a sample dilution step, the sample is cycled in and out of the SPR. Anti-*T.gondii* IgG antibodies present in the specimen will bind to the *T.gondii* antigen coating the interior of the SPR. Unbound components are eliminated during the washing steps. Mouse monoclonal anti-human IgG conjugated with alkaline phosphatase is cycled through the SPR and will attach to any human IgG bound to the SPR wall. During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antibodies present in the sample. At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument in relation to the calibration curve stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS):

60 TXG strips	STR	Ready-to-use.
60 TXG SPRs 2 x 30	SPR [®]	Ready-to-use. SPRs coated with membrane and cytoplasmic Toxoplasma antigen, RH Sabin strain grown in mice (12).
TXG positive control 1 x 2 mL (liquid)	C1	Ready-to-use. Human serum* containing anti-Toxoplasma IgG + protein stabilizer + 1 g/L sodium azide. MLE data indicate the confidence interval in IU/mL (international unit per milliliter) ("Control C1 (+) Dose Value Range").
TXG negative control 1 x 3 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Human serum* negative for anti-Toxoplasma IgG + protein stabilizer + 1 g/L sodium azide.
TXG calibrator 1 x 1 mL (liquid)	S1	Ready-to-use. Human serum* containing anti-Toxoplasma IgG and calibrated against the 2 nd WHO International Standard + protein stabilizer + 1 g/L sodium azide. MLE data indicate the concentration in IU/mL ("Calibrator (S1) Dose Value") and the confidence interval in "Relative Fluorescence Value ("Calibrator (S1) RFV Range").
Specifications for the factory master data required to calibrate the test:		
• MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, - or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR®

The interior of the SPR is coated during production with membrane and cytoplasmic Toxoplasma antigen (RH Sabin strain). Each SPR is identified by the TXG code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the TXG strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	Serum diluent: TRIS buffer (50 mmol/l) pH 7.4 + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (600 µl).
3	Pre-wash buffer: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (600 µl).
4 - 5 - 7 - 8	Wash buffer: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (600 µl).
6	Conjugate: Alkaline phosphatase-labeled monoclonal anti-human IgG antibodies (mouse) + 0.9 g/l sodium azide (400 µl).
9	Serum diluent: TRIS buffer (50 mmol/l) pH 7.4 + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (400 µl).
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l sodium azide (300 µl).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard statement**

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 µl.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- Instrument of the VIDAS® family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of

transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).

- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.

- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The optical cuvette with substrate (well 10) contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent and a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS TOXO IgG II kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection:

Serum or plasma (lithium heparin or EDTA). It is recommended that each laboratory checks the compatibility of collection tubes used.

Since the use of hemolyzed, lipemic, or icteric samples has not been validated, it is recommended to collect a new specimen.

Sera inactivated at 56°C for 30 minutes can be tested with VIDAS TOXO IgG II.

Specimen stability

Samples can be stored at 2-8°C in stoppered tubes for up to 5 days; if longer storage is required, freeze the sera or plasma at -25 ± 6°C.

Avoid successive freezing and thawing.

A study performed on frozen samples over a period of one year, showed that the quality of results is not affected.

A study performed on samples frozen for 12 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master lot data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the calibrator provided in the kit, must be performed upon receipt of a new lot of reagents after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The calibrator, identified by S1, must be tested in **duplicate** (see User's Manual). The calibrator value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "TXG" strip and one "TXG" SPR for each sample, control or calibrator to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "TXG" code on the instrument. The calibrator must be identified by "S1", and tested in duplicate. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by C2.
4. Mix the calibrator, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).

5. **For this test, the calibrator, control, and sample test portion is 100 µl.**

6. Insert the "TXG" SPRs and "TXG" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
8. Restopper the vials and return them to 2-8°C after pipetting.
9. The assay will be completed within approximately 40 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

NOTE: If a comparison needs to be made with a previously collected specimen, test both sera in the same run.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

Titer (IU/ml)	Interpretation
< 4	Negative
4 ≤ Titer < 8	Equivocal
≥ 8	Positive

The results are automatically calculated by the instrument using calibration curves which are stored by the instrument (4-parameter logistic model) and are expressed in « IU/ml » (2nd WHO International Standard). Equivocal samples should be retested. If the interpretation remains equivocal, a new sample must be collected.

Samples with an IgG concentration greater than 300 IU/ml should be reassayed after diluting 1/4 with the negative control.

If the dilution factor was not entered when the Work List was created (see User's Manual), multiply the result by the dilution factor to obtain the sample concentration.

Samples with concentrations greater than 300 IU/ml will be reported as "greater than 300 IU/ml". Samples with high anti-toxoplasma IgM titers may affect dilution test results.

For serological monitoring, it is recommended to test the samples from the different collections, in the same run, using the same lot.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

QUALITY CONTROL

A positive and a negative control are included in each VIDAS TOXO IgG II kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2. Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

1. Sera collected very early in the acute stage of disease may have IgG levels < 4 IU/ml.
2. Positive test results from cord blood should be interpreted with caution. The presence of total or IgG anti-*T. gondii* antibodies in cord blood is usually the result of passive transfer from the mother to the fetus.
3. Positive test results may not be valid in persons who have received blood transfusions or other blood products within the past several months.

4. VIDAS TOXO IgG II results should be used in conjunction with clinical symptoms and laboratory test results, such as anti-*T. gondii* IgM results.

5. Test results from immunosuppressed patients may be difficult to interpret due to diminished immune response.

6. The VIDAS TOXO IgG II assay may only be used with serum or plasma (EDTA, heparin) samples. The use of amniotic fluid or other body fluids has not been established.

7. Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS TOXO IgG II gave the following results:

1. Sensitivity - Specificity

1940 samples were evaluated on 3 sites in comparison with another immunoenzymatic reference technique.

49 samples were found to be equivocal with one and/or two other techniques, and were not included in the analysis.

Consolidated results for the 3 sites are as follows:

		EIA Technique		
		Positive	Negative	Total
VIDAS	Positive	572	3	575
	Negative	9	1307	1316
Total		581	1310	1891

The 12 discrepant samples were analyzed using a third reference technique: the Sabin-Feldmann test (Dye Test). The definitive interpretation for each of these samples is that obtained with at least two out of the three techniques used (2/3 rule).

Of the 3 VIDAS TOXO IgG II-positive/EIA-negative samples, 2 were positive according to the 2/3 rule.

Of the 9 VIDAS TOXO IgG II-negative/EIA-positive samples, 6 were negative according to the 2/3 rule and 1 could not be tested using the reference technique due to insufficient quantity.

Consolidated results after resolving discrepant samples are as follows:

		2/3 Rule		
		Positive	Negative	Total
VIDAS	Positive	574	1	575
	Negative	2	1313	1315
Total		576	1314	1890

Sensitivity: 99.65 %

(Range at 95 %: 98.75 – 99.96 %)

Specificity: 99.92 %

(Range at 95 %: 99.58 % - 100 %)

Precision

Precision was tested with a negative sample, a low positive sample and a high positive sample.

Each sample was tested in duplicate two times per day for twenty days.

Within-run reproducibility (intra-assay precision) and between-run reproducibility (total precision) were calculated according to the recommendations of NCCLS Document EP5-T2, volume 12 number 4.

Within-run reproducibility:

Sample	N	Mean titer	Standard deviation	CV %
Negative	80	1.21	0.25	--*
Low positive	80	17.18	0.88	5.13
High positive	80	168.90	12.17	7.21

Between-run reproducibility:

Sample	N	Mean titer	Standard deviation	CV %
Negative	80	1.21	0.43	--*
Low positive	80	17.18	1.15	6.70
High positive	80	168.90	18.38	10.88

* Not significant.

CROSS REACTIVITY AND RELEVANT INTERFERENTS

No cross-reactivity or interference in the VIDAS TOXO IgG II assay was seen with any of the samples tested positive for rheumatoid factor, antinuclear antibodies, or Epstein Barr virus.

RANGE OF EXPECTED VALUES

Toxoplasma gondii is a strict pathogen whose prevalence differs from one country to another or even one region to another. Contamination by *T. gondii* can vary according to cultural customs and eating habits, resulting in a prevalence ranging from less than 10% in certain regions of Northern Europe to more than 90% in Africa.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. P. AMBROISE-THOMAS, et al. Le toxoplasme et sa pathologie. Médecine et Maladies infectieuses, 1993, 23 spécial, 121-128.
2. J. ZUFFEREY, A. SUGAR, P. RUDAZ, J. BILLE, M.P. GLAUSER, J.P. CHAVE. Prevalence of latent toxoplasmosis and serological diagnosis of active infection in HIV-positive patients. European journal of clinical microbiology and infectious disease, 1993, 12, 591-595.
3. A. BERREBI, W.E. KOBACH. Toxoplasmosis in pregnancy. The Lancet, 1994, 344, 950.
4. B. CARME, V. TIRARD-FLEURY. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France: séroprévalence, taux de séroconversion et niveau de connaissance des mesures préventives. Médecine et maladies infectieuses, 1996, 26, 431-436.

5. J.L. EXCLER, M.A. PIENS, H. MAISONNEUVE, E. PUJOL, J.P. GARIN. Dépistage de la toxoplasmose acquise chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale chez le nouveau-né. Enquête menée dans les maternités des hospices civils de Lyon pour les années 1980, 1981, 1982. Lyon Medical, 1985, 253, 33-38.
6. P. THULLIEZ, F. DAFFOS, F. FORESTIER. Diagnosis of toxoplasma infection in the pregnant woman and the unborn child, current problems. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 1992, 84, 18-22.
7. P. THULLIEZ. Toxoplasmose et grossesse. Médecine et maladies infectieuses, 1993, 23 spécial, 170-175.
8. B. LECOLIER. Séroconversion de la toxoplasmose. Tempo Medical n° 422 - 20/03/91-13.
9. CANDOLFI E., KIEN T. Les nouvelles données de l'interprétation de la sérologie de la toxoplasmose par l'évaluation comparée d'anciennes et de nouvelles techniques sérologiques. Spectra Biologie, 1990, 90, 55-62.
10. SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J.Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of Toxoplasma infection using a purified parasite protein (P30). Clin. exp. Immunol.; 1985, 62, 262-269.
11. FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. - Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale. - NPN Médecine, 1990, 165, 259-265.
12. COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	09065I	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	09065J	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) INSTRUCTIONS FOR USE

BIOMERIEUX, the blue logo, SPR and VIDAS are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux or one of its subsidiaries or one of its companies.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS[®] TOXO IgG II(TXG)

IVD

VIDAS TOXO IgG II yra automatizuotas kiekybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, kiekybiniam anti-toksoplazma IgG žmogaus serume ar plazmoje (ličio heparinas ar EDTA), panaudojant ELFA technologiją (Enzyme Linked Fluorescent Assay), nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Toxoplasma gondii, (1) obligatinis viduląstelinis pirmuonis parazitas yra reikšmingas žmonių parazitas. Parazitas, kurio pirminis šeimininkas yra *Felidae* šeimos atstovai, yra paplitęs gamtoje ir užkrečiantis visas žinduolių rūšis.

Toksoplazmozė dažnai yra švelnus ar asimptomatinis, tačiau gali būti keletas pasekmių, jei ji pasireiškia imunodeficitiniams subjektams ar vaisiui (2). Moteris, kuri yra seropozityvi prieš tapdama nėščia yra iš esmės apsaugota nuo to, kad infekcija bus perduota negimusiam kūdikiui (3, 4, 5, 6, 7). Moteris, kuri yra seroneigiama rizikuoja, kad užsikrės nėštumo laikotarpiu. Perdavimas vaisiui įvyksta ūmis moters infekcijos metu. Dažnis, kai *Toxoplasma* pereina placentos barjerą sukeldama įgimtą infekciją priklauso nuo daugelio faktorių, tokių kaip parazito infekuojančio štamo virulentiškumas, originalaus inokulianto dydžio, paciento imuninio atsako ir kada, nėštumo metu, motina yra infekuojama (8).

Toksoplazmozės paplitimas kinta priklausomai nuo geografinės padėties, tirtos populiacijos amžiaus ir lyties, bei kitų faktorių. Europoje paplitimo dažnis kinta nuo 20% iki 85%. Jungtinėse Valstijose paplitimo dažnis yra mažesnis: nuo 12% iki 41%. Paplitimo dažnis kitose šalyse gali kisti nuo 18% iki 65%.

T.gondii infekcijos diagnozė dažniausiai atliekama biologiniu tyrimu: specifinių imunoglobulinų aptikimas (IgM ir IgG)(9, 10).

Ūmios įgyjamos infekcijos nėštumo metu diagnostika yra nustatoma aptinkant serokonversiją ar žymiu antikūnų titro didėjimu nuosekliai tiriamuose serumuose (6, 11).

VIDAS TOXO IgG II yra atrankinis tyrimas skirtas paciento imuninio statuso nustatymui.

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas dviejų etapų imunofermentiniu metodu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR[®]) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po mėginio skiedimo etapo mėginys kelis kartus tam tikrą laiką cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Mėginyje esantys anti-*T.gondii* IgG antikūnai susiriša su *T.gondii* antigenu, padengtu vidinėje SPR antgalio pusėje. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

Šarmine fosfataze žymėti pelės monokloniniai anti-žmogaus IgG antikūnai kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo ir susiriša su bet kokiais žmogaus IgG antikūnais, padengtais ant SPR antgalio. Galutinio plovimo etapo metu pašalinami nesusirišę komponentai.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4–metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4–metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Tyrimo pabaigoje rezultatai, priklausomai nuo atmintyje išsaugotos kalibravimo kreivės, yra automatiškai apskaičiuojami instrumente ir tuomet yra atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ):

60 TXG strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 TXG SPR antgalių 2 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta membraniniu ir citoplazminiu Toxoplasma antigenu, RH Sabin klonu, išaugintu pelėse (12).
TXG teigiama kontrolė 1 x 2 ml (skysta)	C1	Paruošta naudoti. Žmogaus serumas * turintis anti-Toxoplasma IgG + baltyminio stabilizatoriaus + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo pasikiojimo intervalą IU/mL vienetais (tarptautiniai vienetai mililitre) vienetais ("Control C1 (+) Dose Value Range").
TXG neigiama kontrolė 1 x 3 ml (skysta)	C2	Paruošta naudoti. Žmogaus serumas * neigiamas anti-Toxoplasma IgG + baltyminis stabilizatorius + 1 g/l natrio azido.
TXG kalibratorius 1 x 1 ml (skystas)	S1	Paruošta naudoti. Žmogaus serumas * turintis anti-Toxoplasma IgG ir kalibruoto pagal 2 nd WHO tarptautinį Standartą + baltyminis stabilizatorius + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo kalibratoriaus ar standarto koncentraciją IU/mL vienetais ("Calibrator (S1) Dose Value") ir pasikiojimo intervalą „Relative Fluorescence Value („Calibrator (S1) RFV Range“).
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR®

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas membraniniu ir citoplazminiu Toxoplasma antigenu. Kiekvienas SPR yra identifikuotas TXG kodu. Iš pakuotės išimkite tik reikiamą SPR kiekį ir **atidarę ją kruopščiai sandariai uždarykite**.

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

TXG strypelio apibūdinimas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Serumo skiediklis: TRIS buferis (50 mmol/l) pH 7.4 + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (600 µl).
3	Prieš praplovimo buferis: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (600 µl).
4 - 5 - 7 - 8	Plovimo buferis: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (600 µl).
6	Konjugatas: šarmine fosfataze žymėti monokloniniai anti-žmogaus IgG antikūnai (pelės) + 0.9 g/l natrio azido (400 µl).
9	Serumo skiediklis: TRIS buffer (50 mmol/l) pH 7.4 + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (400 µl).
10	Kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/l) + dietanolamino (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetė su vienkartinio antgaliu dozuoti 100 µl.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifinės priemonės ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS® šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar SPR antgalių) iš skirtingų gaminio serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengtų šių junginių susikaupimo.
- Optinė kiuvetė su substratu 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žr. vartotojo vadove, kaip valyti išsipyliusius ant ar į instrumentą skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą reikia reguliariai valyti ir nukenksminti (žr. vartotojo vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS TOXO IgG II rinkinį prie 2-8°C.
- **Nesušaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas:

Serumas ar plazma (ličio heparinas ar EDTA). Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą. Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių, kurie yra aiškiai hemolizuoti, lipemiški ar ikteriški ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius. Su VIDAS TOXO IgG II gali būti tiriamas serumas, inaktyvuotas prie 56°C laikotarpyje 30 minučių.

Mėginio stabilumas

Mėginiai gali būti laikomi užkimštuose mėgintuvėliuose prie 2-8°C temperatūros iki 5 dienų; jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, serumą ar plazmą užšaldykite prie -25 ± 6 °C.

Venkite pasikartojančio užšaldymo ir atšildymo. Tyrimai, atlikti su vienerius metus užšaldytais mėginiais parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta. Studijos, atliktos su 12 mėnesių šaldytais mėginiais, rezultatai parodė, jog rezultatų kokybė nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradėdant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žr. vartotojo vadovą). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Relative Fluorescence Value) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną "TXG" reagentų strypelį ir vieną "TXG" SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. **Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai kruopščiai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Ant instrumento tyrimas žymimas "TXG" kodu. Standartas turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas dvigubu pakartojimu. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C2".
4. Kalibratoriaus, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (kad atskirtumėte serumą ar plazmą nuo gumulėlių).
5. **Šiam tyrimui dozuokite 100 µl standarto, kontrolės ar mėginio.**
6. Įstatykite "TXG" SPR antgalius ir "TXG" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
7. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta vartotojo vadove. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
8. Po išdalijimo pipete, buteliukus vėl užkimškite ir padėkite į 2-8°C temperatūrą.
9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 40 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

PASTABA: jei yra reikalingas atlikti palyginimas su anksčiau surinktu serumu, tirkite abu serumus vienu metu.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas.

Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (Relative Fluorescence Value) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Titras (IU/ml)	Interpretacija
< 4	Neigiama
$4 \leq \text{Titras} < 8$	Abejotina
≥ 8	Teigiama

Rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento, naudojantis kalibravimo kreivėmis, kurios išsaugotos atmintyje (4-parametrų logaritminiu modeliu) ir išreiškiami « IU/ml » (2nd WHO Tarptautinis Standartas).

Abejotini mėginiai turi būti tiriami pakartotinai. Jei interpretacija toliau išlieka abejotina, turi būti paimamas naujas mėginys.

Mėginiai su IgG koncentracija didesne kaip 300 IU/ml turi būti tiriami pakartotinai po praskiedimo su neigiama kontrole santykiu 1/4.

Jei skiedimo faktorius nebuvo įvestas kai buvo kuriamas meniu Work List (žr. vartotojo vadovą), rezultatą padauginkite iš skiedimo faktoriaus, kad gautumėte mėginio koncentraciją.

Mėginiai su koncentracija didesne kaip 300 IU/ml turi būti pateikiami kaip "didesni nei 300 IU/ml". Mėginiai su dideliu anti-toksoplazma IgM titru gali turėti poveikį skiedžiamiems mėginiams.

Serologinei atrankai rekomenduojama tirti mėginius iš skirtingų surinkimų tuo pačiu metu, naudojant tą pačią reagentų seriją.

Tyrimų rezultatų interpretacija turi būti atliekama įvertinant paciento istoriją ir kitų tyrimų rezultatus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su VIDAS TOXO IgG II rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinos vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

1. Serumai, surinkti labai anksti esant ūmiai ligos fazei gali turėti IgG lygį < 4 IU/ml.
2. Teigiami rezultatai iš virkštelės kraujo turi būti interpretuojami atsargiai. Bendrų ar anti-*T. gondii* IgG antikūnų virkštelės kraujyje buvimas dažnai yra pasyvaus perdavimo vaisiui iš motinos organizmo rezultatas.
3. Teigiami rezultatai negali būti patvirtinami asmenims, kuriems paskutiniaisiais keliais mėnesiais buvo perpiltas kraujas.
4. VIDAS TOXO IgG II rezultatai turi būti naudojami kartu su klinikiniais simptomais ir laboratorinių tyrimų rezultatais, tokiais kaip anti-*T. gondii* IgM rezultatais.
5. Tyrimų rezultatus imunologiškai slopinamiems pacientams gali būti sunku interpretuoti dėl sumažėjusio imunologinio atsako.
6. VIDAS TOXO IgG II gali būti naudojamas tik su serumo ar plazmos (EDTA, heparinas) mėginiais. Amniotinio skysčio ar kitų skysčių panaudojimas nėra patvirtintas.

7. Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento istoriją ir kitų atliktų tyrimų rezultatus.

ATLIKIMAS

Tyrimai, atlikti naudojantis VIDAS TOXO IgG II rodė sekančius rezultatus:

1. Jautrumas - Specifiškumas

1940 mėginiai buvo tiriami 3 vietose, lyginant su kitais imunofermentiniais referentiniais metodais.

49 mėginiai buvo rasti esantys įtartinai viena ir/ar dvejomis metodikomis ir nebuvo įtraukti į analizavimą.

Jungtiniai 3 vietų rezultatai yra sekantys:

		EIA metodas		
		Teigiamas	Neigiamas	Viso
VIDAS	Teigiamas	572	3	575
	Neigiamas	9	1307	1316
Viso		581	1310	1891

12 prieštarinių mėginių buvo tiriami naudojant trečią referentinį metodą: Sabin-Feldmann tyrimą (Spalvos testas). Galutinė interpretacija kiekvienam iš šių mėginių buvo atliekama pagal 2 iš 3 metodų galutinius rezultatus (2/3 taisyklė).

Iš 3 VIDAS TOXO IgG II-teigiamų/EIA-neigiamų mėginių, 2 buvo teigiami pagal 2/3 taisyklę.

Iš 9 VIDAS TOXO IgG II-neigiamų /EIA-teigiamų mėginių, 6 buvo neigiami pagal 2/3 taisyklę ir 1 negalėjo būti ištirtas naudojantis referentiniu metodu dėl nepakankamo mėginio kiekio.

Jungtiniai rezultatai ištyrus prieštarinius rezultatus yra sekantys:

		2/3 taisyklė		
		Teigiamas	Neigiamas	Viso
VIDAS	Teigiamas	574	1	575
	Neigiamas	2	1313	1315
Viso		576	1314	1890

Jautrumas: 99.65 %

(Ribos prie 95 %: 98.75 – 99.96 %)

specifiškumas: 99.92 %

(Ribos prie 95 %: 99.58 % - 100 %)

Tikslumas

Tikslumas buvo tiriamas su neigiamais mėginiais, silpnai teigiamais mėginiais ir smarkiai teigiamais mėginiais. Kiekvienas mėginys buvo tiriamas dvigubu pakartojimu du kartus per dieną dvidešimt dienų.

Atkartojamumas to pačio tyrimo serijos ribose (intra tikslumas) ir atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų (bandras tikslumas) buvo apskaičiuoti pagal NCCLS Dokumento EP5-T2, leidimo 12 numerio 4 rekomendacijas

Atkartojamumas to pačio tyrimo serijos ribose:

Mėginys	N	Vidutinis titras	Standartinis nuokrypis	CV %
Neigiamas	80	1.21	0.25	--*
Silpnai teigiamas	80	17.18	0.88	5.13
Smarkiai teigiamas	80	168.90	12.17	7.21

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų:

Mėginys	N	Vidutinis titras	Standartinis nuokrypis	CV %
Neigiamas	80	1.21	0.43	--*
Silpnai teigiamas	80	17.18	1.15	6.70
Smarkiai teigiamas	80	168.90	18.38	10.88

* Nereikšmingas.

KRYŽMINIS REAKTYVUMAS IR SVARBI INTERFERENCIJA

Joks VIDAS TOXO IgG II tyrimo kryžminis reaktyvumas ar interferencija nepastebėti su jokiais tirtais reumatoidiniam faktoriui, antinukleariniams antikūnams ar Epstein Barr virusui teigiamais mėginiais.

TIKŲ VERČIŲ RIBOS

Toxoplasma gondii yra griežtas patogenas, kurio paplitimas kinta nuo vienos šalies prie kitos ar net nuo vieno regiono prie kito. Užsikrėtimas *T. gondii* gali kisti priklausomai nuo kultūros ar mitybos įpročių, dėl ko paplitimas kinta nuo mažiau nei 10% tam tikruose Šiaurės Europos regionuose iki daugiau kaip 90% Afrikoje.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras.

Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. P. AMBROISE-THOMAS, et al. Le toxoplasme et sa pathologie. Médecine et Maladies infectieuses, 1993, 23 spécial, 121-128.
2. J. ZUFFEREY, A. SUGAR, P. RUDAZ, J. BILLE, M.P. GLAUSER, J.P. CHAVE. Prevalence of latent toxoplasmosis and serological diagnosis of active infection in HIV-positive patients. European journal of clinical microbiology and infectious disease, 1993, 12, 591-595.
3. A. BERREBI, W.E. KOBACH. Toxoplasmosis in pregnancy. The Lancet, 1994, 344, 950.
4. B. CARME, V. TIRARD-FLEURY. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France: séroprévalence, taux de séroconversion et niveau de connaissance des mesures préventives. Médecine et maladies infectieuses, 1996, 26, 431-436.
5. J.L. EXCLER, M.A. PIENS, H. MAISONNEUVE, E. PUJOL, J.P. GARIN. Dépistage de la toxoplasmose acquise chez la femme enceinte et de la toxoplasmose congénitale chez le nouveau-né. Enquête menée dans les maternités des hospices civils de Lyon pour les années 1980, 1981, 1982. Lyon Medical, 1985, 253, 33-38.
6. P. THULLIEZ, F. DAFFOS, F. FORESTIER. Diagnosis of toxoplasma infection in the pregnant woman and the unborn child, current problems. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 1992, 84, 18-22.
7. P. THULLIEZ. Toxoplasmose et grossesse. Médecine et maladies infectieuses, 1993, 23 spécial, 170-175.
8. B. LECOLIER. Séroconversion de la toxoplasmose. Tempo Medical n° 422 - 20/03/91-13.

9. CANDOLFI E., KIEN T. Les nouvelles données de l'interprétation de la sérologie de la toxoplasmose par l'évaluation comparée d'anciennes et de nouvelles techniques sérologiques. Spectra Biologie, 1990, 90, 55-62.
10. SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J.Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of Toxoplasma infection using a purified parasite protein (P30), Clin. exp. Immunol., 1985, 62, 262-269.
11. FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. - Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale. - NPN Médecine, 1990, 165, 259-265.
12. COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	In Vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui
Pastaba:	<i>Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.</i>

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	09065I	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	09065J	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

BIOMERIEUX, mėlynasis logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, artimiausiu metu registruotini ir/ar registruoti prekybiniai ženklai, priklausantys bioMérieux, vienam iš filialų ar kompanijų.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS[®] Varicella-Zoster IgG (VZG)



VIDAS Varicella-Zoster IgG (VZG) is an automated qualitative test for use on the instruments of the VIDAS family, for the detection of IgG antibodies to varicella zoster virus in human serum using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay). VIDAS VZG is intended as an aid in the determination of immunological experience with varicella-zoster virus.

SUMMARY AND EXPLANATION

Varicella (chickenpox) and zoster (shingles) are two different clinical manifestations of infection with the varicella-zoster virus (VZV). Chickenpox, the primary infection, is a highly contagious disease which spreads rapidly in susceptible populations (e.g. children or immunocompromised adults) (1, 2, 3). It is spread by direct contact or by airborne droplets. The contagious period is from 24 hours before until six or seven days after the appearance of vesicles (4). In most cases, chickenpox is a mild illness occurring in childhood, characterized by a mild fever and malaise accompanied by a vesicular rash (4). However, adults with chickenpox usually have a high fever and severe constitutional symptoms. Approximately 20% develop pneumonia (2).

Shingles generally occurs in adults, resulting from a reactivation of latent VZV. Although there is often no apparent reason for zoster to occur, it often is linked to stress, trauma, or certain types of drug therapy.

VZV infection in immunosuppressed patients can cause serious or fatal disease. Progressive, generalized varicella occurs in up to 30% of children who acquire chickenpox while on cancer therapy. Children with deficient cell-mediated immunity also are at risk for progressive varicella. In older immunodeficient patients there is an increased risk of disseminated zoster (1,3).

Laboratory diagnosis of VZV infection can be accomplished via viral isolation by culture, viral antigen detection, or by serological methods. Serological methods are preferred over viral isolation techniques because serologies give results rapidly and because the virus is extremely labile. Serological methods include neutralizing antibody, complement fixation (CF), fluorescent antibody to membrane antigen (FAMA), anticomplement immunofluorescence (ACIF) (5) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Measurement of FAMA is rapid and more sensitive than CF (6). ELISA methods are easier to perform than FAMA, are extremely sensitive, and do not require propagation of the virus (7).

In most cases, VZV infection can be diagnosed by observing clinical symptoms. However ELISA is valuable for determining immunological experience particularly in adults whose memory of previous varicella may be inaccurate (8).

The VIDAS Varicella-Zoster IgG (VZG) assay is intended as an aid in the determination of immunological experience with varicella-zoster virus.

PRINCIPLE

The assay principle combines a 2-step enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR[®]), serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay.

Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After a preliminary wash step and a sample dilution step, anti-varicella IgG antibodies present in the specimen will bind to the varicella antigen coating the interior of the SPR. Unbound sample components are washed away.

Anti-human IgG conjugated with alkaline phosphatase bind to any human IgG bound to the SPR wall. A final wash step removes unbound conjugate.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of anti-varicella IgG antibodies present in the sample.

At the end of the assay, results are automatically analyzed by the instrument, a test value is generated and a report is printed for each sample.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS):

60 VZG strips	STR	Ready-to-use.
60 VZG SPRs (2 x 30)	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with inactivated varicella-zoster viral antigen (Sissy strain).
VZG standard 1 x 2 ml (liquid)	S1	Ready-to-use. Human* defibrinated plasma containing antibodies to varicella + 1 g/l sodium azide. MLE data indicate the confidence interval in "Relative Fluorescence Value (RFV)" ("Standard (S1) RFV Range").
VZG positive control 1 x 2 ml (liquid)	C1	Ready-to-use. Human* defibrinated plasma containing antibodies to varicella + 1 g/l sodium azide. MLE data indicate the Test Value (TV) range: Control C1 (+) Test Value Range.
Negative control 1 x 1.9 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin+ preservatives. MLE data indicate the Test Value (TV) range: Control C2 (-) Test Value Range.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar codes printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with inactivated varicella-zoster viral antigen (Sissy strain). Each SPR is identified by the VZG code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the VZG strip:

Wells	Reagents
1	Sample well: a minimum of 100 µl of serum is placed into the well.
2	Sample diluent: 400 µl of phosphate buffered saline (0.01 mol/l, pH 7.2) + bovine albumin + 1 g/l sodium azide.
3	Prewash buffer: Phosphate buffered saline (0.01 mol/l ; pH = 7.2) + bovine albumin + 1 g/l sodium azide. (400 µl).
4 - 5	Wash buffer: casein (bovine) in TRIS buffered saline (0.05 mol/l, pH 7.4) + 1 g/l sodium azide (600 µl).
6	Conjugate: prediluted mixture of anti-human IgG (mouse) conjugated to alkaline phosphatase + bovine albumin + 1 g/l sodium azide (400 µl).
7 - 8	Wash buffer: casein (bovine) in TRIS buffered saline (0.05 mol/l; pH = 7.4) + 1 g/l sodium azide (600 µl).
9	Empty well.
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6 %) pH 9.2 + 1 g/l sodium azide (300 µl).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard statement**

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 µl.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials, please refer to the Instrument Operator's Manual.
- Instrument of the VIDAS family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Consider all patient specimens potentially infectious and observe routine biosafety precautions. Though the varicella-zoster virus coating the SPRs has been inactivated, handle the SPRs as if they were infectious. Dispose of all used components and other contaminated materials by acceptable procedures for potentially biohazardous human blood products.
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests (9).
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the Operator's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the Operator's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS VZG kit at 2-8° C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection:

Whole blood should be collected and the serum separated by standard procedures. Do not heat the serum. Clarify samples containing particulate matter by centrifugation or filtration prior to testing. Lipemic serum may interfere with the assay. Do not use samples that are clearly hemolyzed, lipemic or icteric. Collect a new sample.

The use of plasma has not been established for this test. Do not test specimens with obvious microbial contamination.

Specimen stability:

If the sera cannot be tested on the day of collection, store them at 2 - 8°C in stoppered tubes for up to five days. If longer storage is required, freeze the sera at -25 ± 6°C. Avoid successive freezing and thawing.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master lot data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration data and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by "S1", must be tested in **duplicate** (see Operator's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.
2. Use one "VZG" strip and one "VZG" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "VZG" code on the instrument. The standard must be identified by "S1", and tested **in duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
4. **If needed, label the Reagents Strips with the appropriate sample identification in the space provided.**
5. Mix the standard, controls and sample using a vortex-type mixer (for serum separated from the pellet).
6. **For this test, the standard, control, and sample test portion is 100 µl.**
NOTE: When manual pipetting is performed, check the sample wells for bubbles. If necessary, gently tap the strips to remove any bubbles present.
7. Insert the "VZG" SPRs and "VZG" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
8. Initiate the assay as directed in the Operator's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
9. Reclose the vials and return them to 2–8°C after pipetting.
10. The assay will be completed within approximately 35–40 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
11. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result.

A test value is generated for each sample by forming a ratio from the RFV of the sample to that of a standard. Test values from patient and control samples are compared to a set of thresholds stored in the computer representing a low varicella antibody titer.

The following table shows the thresholds and the interpreted results.

Test value	Interpretation
$TV < 0.60$	Negative
$0.60 \leq TV < 0.90$	Equivocal
$TV \geq 0.90$	Positive

Results with test values less than the negative threshold (0.60) indicate patients with undetectable concentrations of anti-VZV IgG antibodies. Patients with a current primary infection of varicella may not begin producing measurable concentrations of anti-VZV IgG until several days after infection.

Samples with test values greater than or equal to the threshold (0.90) are reported as positive.

A report is printed which records

- the type of test performed,
- the sample identification,
- the date and time,
- the lot number and the expiration date of the reagent being used,
- each sample's RFV, test value and interpreted result.

The imprecision inherent in any method implies a lack of confidence in samples with test values very close to the thresholds. Consequently, an equivocal zone is established between the thresholds based on a statistical understanding of this imprecision.

Equivocal samples should be repeated with a fresh specimen. If it is impractical to obtain a fresh specimen, repeat the assay with the original specimen (provided it is not microbially contaminated or lipemic). If the sample repeats as an equivocal, test it using another method.

Invalid results are reported when the background reading is above a predetermined cutoff (indicating low-level substrate contamination). In this case, repeat the assay with the original specimen.

An invalid result is also seen if there is no standard available for the lot number of the patient test strip. In this case, run a standard in duplicate in VZG strips with the same lot number as the invalid patient test. The patient test result can then be recalculated using the new stored standard, (See the Operator's Manual for complete information).

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS VZG kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2. The expected values for the VIDAS VZG assay are entered into the instrument using the master lot entry (MLE) data. If the results from testing the controls do not fall within these ranges, the result will be flagged – do not report patient results.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

1. The VIDAS Varicella-Zoster IgG assay should be used as a means of determining the immunological experience of an individual through the detection of anti-varicella IgG antibodies.
2. The results of this test are qualitative and should be considered as either positive or negative for the presence of antibodies to VZV.
3. The presence of anti-varicella IgG antibodies indicates prior exposure to the virus but does not exclude the possibility of an ongoing infection. Quantitative testing on acute and convalescent phase paired sera or an assay for the presence of IgM varicella antibody should be used to diagnose recent infection.
4. Test results for IgG/IgM antibodies to VZV should be evaluated in relation to patient symptoms and clinical history to establish a diagnosis.
5. A positive test result in immunocompromised patients receiving prophylactic treatment with zoster immune serum globulin or zoster immune plasma may not be indicative of prior infection with VZV (10).
6. The correlation of negative test results determined with this test as they relate to protection from varicella infection has not yet been definitely established. If a definitive determination of immunity is required, all persons with negative results should be retested by a more sensitive assay, e.g. FAMA (6).
7. Although negative results by FAMA, ACIF, and EIA are reliable indicators of susceptibility to VZV infection, the occurrence of clinical VZV infections in a few individuals with low titers of antibody demonstrable by FAMA and by ACIF indicates that low levels of antibody are not always a reliable indication of protection against clinical illness. However, the detection of serum antibody to VZV has correlated with protection in up to 96% of individuals in one study (1).
8. Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

RANGE OF EXPECTED VALUES

In urban populations of the United States, an estimated 95% of the adult population have antibody indicating prior exposure and immunity to varicella-zoster virus (2). The incidence of reactivation in older adults of a latent varicella infection is 0-2% - 2% (2).

The expected values will vary according to the age of the population, geographical location, and seasonal trends.

The VIDAS Varicella-Zoster IgG assay was evaluated at a clinical reference laboratory using samples from a normal patient population. The positivity rate was 88%.

PERFORMANCE

Sensitivity / specificity:

364 serum samples were tested at two sites - a clinical reference laboratory and bioMérieux Vitek. Each sample was tested using the VIDAS VZG assay, a commercially available IFA, and a commercially available latex agglutination test. In the final interpretation, a sample was considered to be positive if at least two of the three tests were positive. A sample was considered to be negative if at least two of the three tests were negative. A sample was considered unresolved if one of the tests was equivocal and the other two were discrepant. There were three unresolved samples. There were originally 8 (2.2%) equivocal results. Upon retesting, 2 were true positives, 4 were true negatives, and 2 (0.5%) repeated as equivocal. The following table shows the VIDAS Varicella-Zoster IgG results compared to the final interpretation as described above.

Combined sites - VIDAS VZG assay compared to Latex agglutination / IFA / Final interpretation

364 samples tested.

2 equivocal results (excluded from calculations).

3 unresolved samples (excluded from calculations).

		Latex agglutination	
		+	-
VIDAS	+	315	4
VZG	-	6	37

Sensitivity = 98.1%

(95% confidence interval: 95.9% – 99.2%)

Specificity = 90.2%

(95% confidence interval: 76.9% – 97.3%)

Overall agreement: 97.2%

(95% confidence interval: 94.9% – 98.5%)

		IFA *	
		+	-
VIDAS	+	302	2
VZG	-	5	31

Sensitivity = 98.4%

(95% confidence interval: 96.2% – 99.3%)

Specificity = 93.9%

(95% confidence interval: 95%: 79.8% – 99.3%)

Overall agreement: 97.9%

(95% confidence interval: 95.8% – 99.0%)

* 22 samples were IFA "equivocal" IFA – indeterminate due to nonspecific fluorescence.

		VIDAS / LA / IFA	
		+	-
VIDAS	+	317	1
VZG	-	1	40

Sensitivity = 99.7%
(95% confidence interval: 98.2% – 99.9%)

Specificity = 97.6%
(95% confidence interval: 87.1% – 99.9%)

Relative positive predictive value 99.7%
(95% confidence interval: 98.2% – 99.9%)

Relative negative predictive value 97.6%
(95% confidence interval: 87.1% – 99.9%)

Overall agreement: 99.4%
(95% confidence interval: 98.0% – 99.9%)

Additional testing – negative samples

Forty-nine serum samples were obtained from several clinical laboratories. These samples had been tested with immunoenzyme (VZV-IgG) and indirect immunofluorescence (IFA) tests and had been determined to be negative. At bioMérieux Vitek, the samples were tested using the VIDAS VZG assay and two other commercially available tests: one latex agglutination test and an IFA test. Of the 49 samples, 43 were found to be negative. Of these 43 samples, there were 40 VIDAS VZG true negatives, 2 false positives and 1 equivocal (which repeated as equivocal). Three of the remaining 6 samples were positive by both of the commercially available tests. One sample was positive by both the IFA and VIDAS VZG, the 2 others were unresolved (discrepancies between the 3 techniques).

Intra-assay reproducibility:

Intra-assay reproducibility was evaluated at two sites. High positive, low positive, and negative controls were tested «n» times in a single run.

SITE A	n =	Mean RFV	% CV
- High positive	22	1816	7.3 %
- Low positive	22	1073	6.7 %
- Negative	21	107	7.9 %

SITE B	n =	Mean RFV	% CV
- High positive	28	1961	7.0 %
- Low positive	27	926	11.2 %
- Negative	28	195	12.2 %

Inter-assay reproducibility:

Inter-assay reproducibility was evaluated at two sites. At each site, high positive, low positive, and negative controls were each tested in triplicate in a single work list for 9 consecutive days. The mean RFV for each day was used in the calculations.

SITE A	n =	Mean RFV	% CV
- High positive	9	1722	6.4%
- Low positive	9	1052	3.6%
- Negative	9	102	4.2%

SITE B	n =	Mean RFV	% CV
- High positive	9	1657	6.4%
- Low positive	9	975	1.7%
- Negative	9	103	6.2%

CROSS REACTIVITY

35 serum samples which were positive for one or more of the following biological markers: HSV, CMV, EBV, ANA or FR, were tested using the VIDAS Varicella-Zoster IgG. The results indicate no cross-reactivity.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

- SCHMIDT N., Varicella-zoster Virus. In: Lennette, Balows, Hausler, and Shadomy. Manual of Clinical Microbiology. 4th Ed. Washington, D. C.: American Society for Microbiology. 1985, 720-727.
- STEELE R., Immunology of varicella-zoster virus. In: Nahmias and O'Reilly. Comprehensive Immunology, Vol. 9, Part II. New York: Plenum Publishing Corporation. 1982, 73-87.
- TAKAHASHI M., Herpesviridae: varicella-zoster virus. In: Lennette, Halonen, and Murphy. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases, Principles and Practices, Vol. II. New York: Springer-Verlag. 1988, 261-283.
- BRUNELL, P.A., et al. 1984. Herpesvirus Varicella. In: Ziai. Pediatrics. 3rd Ed. Boston/Toronto: Little, Brown, and Company. 522-523.
- GALLO D., SCHMIDT NJ., Comparison of anticomplement immunofluorescence and fluorescent antibody-to-membrane antigen tests for determination of immunity status to varicella-zoster virus and for serodifferentiation of varicella-zoster and herpes simplex virus infections. Journal of Clinical Microbiology, 1981, 539-543.
- WILLIAMS, V., A. GERSHON, AND P. BRUNELL. 1974. Serologic response to varicella-zoster membrane antigens measured by indirect immuno-fluorescence. J. Inf. Dis. 130:669-672.
- GERSHON A., et al.. Determination of immunity to varicella using an enzyme-linked-immunosorbent-assay. Archives of Virology. 1981, 70: 169-172.
- SHEHAB, Z., AND P. BRUNELL. 1986. Varicella-zoster virus. In: Rose, Freidman, and Fahey. Manual of Clinical Laboratory Immunology. 3rd. Ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology. 502-503.
- LAMPE, A.S., H.J. PEITERSE-BRUIJS, AND J.C.R. EGTERVAN Wissenderke. 1988. Wearing gloves as cause of false negative HIV tests. Lancet ii 1140-1144.
- SCHAUF V., and SALOT R. J. Varicella-zoster virus. In: Belshe. Textbook of Human Virology. Littleton, MA: PSG Publishing. 1991, 842-861.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user
<i>Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.</i>	

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	07968I	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	07968J	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) INSTRUCTIONS FOR USE
2016/05	07968K	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS)

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.
Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS[®] Varicella-Zoster IgG (VZG)

IVD

VIDAS Varicella-Zoster IgG (VZG) yra automatizuotas kokybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, IgG antikūnų prieš varicella zoster virusą aptikimui žmogaus serume, naudojant ELFA technologiją (imunofermentinis fluorescencinis metodas). VIDAS VZG yra pagalbinė priemonė imunologiniame varicella-zoster viruso nustatyme.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Varicella (vėjaraupiai) ir zoster (juostinė pūslelinė) yra dvi skirtingos varicella-zoster viruso (VZV) klinikinės apraiškos. Vėjaraupiai, pirminė infekcija, yra stipriai užkrečiamas susirgimas, kuris jautrioje populiacijoje greitai plinta (pvz. vaikai ar suaugusieji su silpna imunine sistema) (1, 2, 3). Liga plinta per tiesioginį kontaktą arba oro lašeliniu būdu. Infekcinis periodas prasideda nuo 24 valandų prieš iki septynių dienų po vezikulių atsiradimo (4). Daugumoje atvejų, vėjaraupiai yra nepavojingas susirgimas vaikystėje, charakterizuojamas nedideliu karščiavimu ir negalavimu, lydimu pūsleliniu bėrimu (4). Tačiau suaugusieji, sergantys vėjaraupiais, paprastai kenčia nuo didelio karščiavimo ir struktūrinių simptomų. Apie 20% išsivysto pneumonija (2).

Juostinė pūslelinė dažniausiai pasireiškia suaugusiesiems, kaip latentinio VZV reaktivacijos rezultatas. Nors paprastai nėra akivaizdžios priežasties zoster atsiradimui, jis dažnai yra susijęs su stresu, traumomis, ar tam tikrais vaistų terapijos tipais.

VZV infekcija pacientams su susilpnėjusia imunine sistema gali sukelti rimtą ar mirtiną susirgimą. Progresyvi varicella aptinkama iki 30% vaikų, kurie suserga vėjaraupiais taikant vėžio terapiją. Vaikai su ląstelių įtakotu imuniteto deficitu taip pat yra rizikos grupėje dėl progresyvios varicella. Vyresni pacientai su silpna imunine sistema yra rizikos grupėje dėl išsėtinės zoster (1,3).

Laboratorinė VZV infekcijos diagnozė gali būti užbaigta atliekant virusinę kultūros izoliaciją, virusinį antigeno aptikimą, ar taikant serologinius metodus. Serologiniams metodams yra teikiama didesnė pirmenybė nei virusinėms izoliacinėms technologijoms, nes serologija duoda rezultatus greičiau, o virusai yra nepaprastai labilūs. Serologiniai metodai apima antikūnų neutralizavimo, papildomo fiksavimo (CF), fluorescencinio antikūno prieš membranos antigeną (FAMA), antikomplementinės imuno fluorescencijos (ACIF) (5) ir fermentu surišto imunosorbentinį tyrimą (ELISA).

FAMA matavimas yra greitas ir jautresnis nei CF (6). ELISA metodus yra lengviau atlikti nei FAMA, jie yra ypatingai jautrūs ir nereikalauja viruso auginimo (7). Daugeliu atvejų VZV infekcija gali būti diagnozuojama stebint klinikinius simptomus. Tačiau ELISA yra vertingas dėl imunologinio nustatymo ypatingai suaugusiesiems, kurie tiksliai nepamena sirgę vėjaraupiais praeityje (8).

VIDAS Varicella-Zoster IgG (VZG) tyrimas yra pagalbinė priemonė imunologiniame varicella-zoster viruso nustatyme.

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas dviejų etapų imunofermentiniu sumuštinio metodu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR[®]), tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui.

Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotose reagentų juostelėse.

Visi reakcijos etapai yra atliekami automatiškai instrumente. Reakcijos terpė cirkuliuoja į ir iš SPR antgalio keletą kartų.

Po preliminarus praplovimo ir mėginio skiedimo etapo anti-varicella IgG antikūnai, esantys mėginyje, susiriša su varicella antigenais, padengtu vidinėje SPR pusėje. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

Anti-žmogaus IgG, konjuguotas su šarmine fosfataze, susiriša su žmogaus IgG, susirišusiu su SPR sienele. Paskutinio plovimo metu nesusirišęs konjugatas yra pašalinamas.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4–metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šio substrato hidrolizę į fluorescuojantį produktą (4–metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas anti-varicella IgG antikūnų koncentracijai mėginyje.

Tyrimo pabaigoje rezultatai ir tyrimo vertė yra automatiškai apskaičiuojami instrumente ir tuomet kiekvienam mėginiui yra atspausdinama ataskaita.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) :

60 VZG juostelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 VZG SPR antgalių (2 x 30)	SPR	Paruošta naudoti. SPR antgalio vidinė pusė padengta inaktyvuotu varicella-zoster virusiniu antigenu (Sissy padermė).
VZG standartas 1 x 2 ml (skystis)	S1	Paruoštas naudoti. Žmogaus* defibrinuota plazma su antikūnais prieš varicella + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo pasikiojimo intervalą "Relative Fluorescence Value (RFV)" ("Standard (S1) RFV Range") vienetais.
VZG teigiama kontrolė 1 x 2 ml (skystis)	C1	Paruošta naudoti. Žmogaus* defibrinuota plazma su antikūnais prieš varicella + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo tyrimo vertės (TV) ribas: "Control C1 (+) Test Value Range".
Neigiama kontrolė 1 x 1,9 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai. MLE duomenys nurodo tyrimo vertės (TV) ribas: "Control C2 (-) Test Value Range".
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR antgalis

SPR antgalio gamybos metu jo vidinis paviršius buvo padengtas inaktyvuotu varicella-zoster virusiniu antigenu (Sissy padermė). Kiekvienas SPR yra identifikuotas VZG kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR kiekį ir **sandariai jį uždarykite po atidarymo.**

Juostelė

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra brūkšninis kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti mėginį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Centrinės juostelės sekcijos šulinėliuose yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

VZG juostelės aprašymas:

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis: šulinėlyje yra mažiausiai 100 µl serumo.
2	Mėginio skiediklis: 400 µl fosfato buferio tirpalas (0.01 mol/l, pH 7.2) + jaučio albuminas + 1 g/l natrio azido.
3	Prieš praplovimo buferis: fosfato buferio tirpalas (0.01 mol/l ; pH = 7.2) + jaučio albuminas + 1 g/l natrio azido. (400 µl).
4 - 5	Praplovimo buferis: kazeinas (jaučio) TRIS buferio tirpale (0.05 mol/l, pH 7.4) + 1 g/l natrio azido (600 µl).
6	Konjugatas: anti-žmogaus IgG (pelės) konjuguoto šarmine fosfataze + jaučio albumino + 1 g/l natrio azido (400 µl) atskiestas mišinys.
7 - 8	Praplovimo buferis: kazeinas (jaučio) TRIS buferio tirpale (0.05 mol/l; pH = 7.4) + 1 g/l natrio azido (600 µl).
9	Tuščias šulinėlis.
10	Kiuvetė su substratu: 4-metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/l) + dietanolaminas DEA* (0.62 mol/l ar 6.6%) pH 9.2 + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS

- Dozatoriai su vienkartiniais antgaliais, skirti dozuoti po 100 µl.
- Vienkartinės pirštinės be talko.
- Kitas specifinės priemonės ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kraujo produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite *Laboratory biosafety manual – WHO-Geneva-latest edition*).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Visų pacientų mėginius laikykite potencialiai užkrėstais ir dirbdami laikykitės visų saugumo priemonių. Nors varicella-zoster virusas, padengtas ant SPR antgalių, buvo inaktyvuotas, naudodami SPR antgalius laikykitės visų atsargumo priemonių. Panaudotus komponentus ir kitas užterštas medžiagas utilizuokite laikydamiesi potencialiai pavojingų žmogaus kraujo produktų naikinimo procedūrų.
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite sugadintų STR antgalių (jei folja ar plastikas yra pažeisti).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar vienkartinių priemonių) iš skirtingų gaminio serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus (9).
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengti šių junginių susikaupimo.
- Substratas, esantis 10 šulinėlyje, turi dirginančio reagento (dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipylę skysčiai turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buityje naudojamu balikliu, kurio sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žiūrėkite naudojimo instrukciją dėl išsipylusių skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentai turi būti reguliariai valomi ir nukenksminami (žiūrėkite naudojimo instrukciją).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS VZG rinkinį prie 2-8° C.
- **Neužšaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas:

Naudokite standartines procedūras surenkant bendrą kraują ir atskiriant serumą. Serumo nekaitinkite.

Mėginiai, turintys tam tikrų neaiškumų, turi būti išskaidrinti centrifuguojant arba filtruojant, prieš atliekant tyrimą. Lipemiškas serumas gali įtakoti tyrimą. Nenaudokite aiškiai hemolizuotų, lipemiškų ar ikteriškų mėginių. Paimkite naują mėginį.

Šiame tyrime plazmos naudojimas nėra patvirtintas.

Nenaudokite mėginių su mikrobiniu užterštumu.

Mėginio stabilumas

Jei serumas nėra tiriamas surinkimo dieną, jis gali būti laikomas užkimštame mėgintuvėlyje prie 2-8°C iki 5 dienų. Jei reikalingas ilgesnis laikymas, serumą užšaldykite prie -25 ± 6°C. Venkite papildomo užšaldymo ir atšildymo.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinius kalibravimo duomenis ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip „S1“, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną „VZG“ juostelę ir vieną „VZG“ SPR antgalį kiekvienam tiriamam mėginiui, kontrolei ar kalibratoriui. Įsitinkite, kad pakuotė sandariai uždaryta po to, kai SPR antgaliai buvo išimti.
3. Ant instrumento tyrimas yra nurodytas „VZG“ kodu. Standartas turi būti žymimas „S1“, ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei yra tirama teigiama kontrolė, ji turi būti žymima „C1“. Jei yra tirama neigiama kontrolė, ji turi būti žymima „C2“.
4. Jei reikia, reagentų strypelius žymėkite tinkama mėginių identifikacija tam skirtoje vietoje.
5. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (serumas atskirtas nuo ląstelių).
6. Šiam tyrimui, standarto, kontrolės ir mėginio tiriamoji dalis yra 100 µl. **PASTABA:** atliekant manualinį dozavimą, patikrinkite, ar mėginių šulinėliuose nėra burbuliukų. Jei reikia, švelniai patapšnokite per strypelius, kad burbuliukai visiškai pasišalintų.
7. Įstatykite „VZG“ SPR antgalius ir „VZG“ juosteles į instrumentą. Įsitinkite, ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir reagentų juostelės.
8. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta Naudotojo Instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
9. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į 2–8°C temperatūrą.
10. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 35–40 minučių. Pasibaigus tyrimui, SPR antgalius išimkite iš instrumento.
11. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai yra įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui reagentų juostelės matavimo kiuvetėje yra matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas.

Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų.

Tyrimo vertė yra skaičiuojama kiekvienam mėginiui, nustatant ribas iš mėginio ir kalibratoriaus RFV. Tyrimo vertė iš paciento ir kontrolės mėginio yra palyginama su slenkstine verte, saugoma instrumente, kuri rodo žemą varicella antikūno titrą.

Žemiau esančioje lentelėje yra pateikiamos slenkstinės vertės ir interpretuojami rezultatai.

Tyrimo vertė	Interpretavimas
TV < 0.60	Neigiamas
$0.60 \leq TV < 0.90$	Abejotinas
TV ≥ 0.90	Teigiamas

Rezultatai su tyrimo verte, mažesne nei neigiama slenkstinė vertė (0.60), indikuoja apie neaptinkamas anti-VZV IgG antikūnų koncentracijas. Pacientams su pradine varicella infekcija gali neprasidėti aptinkama anti-VZV IgG koncentracijos gamyba iki kelių dienų po infekcijos.

Mėginiai su tyrimo vertėmis, didesnėmis arba lygiomis slenkstinei vertei (0.90), yra laikomi teigiamais.

Jrašai, esantys atspausdintoje ataskaitoje:

- atlikto tyrimo tipas,
- mėginio identifikacija,
- data ir laikas,
- serijos numeris ir naudojamo reagentų rinkinio galiojimo data,
- kiekvieno mėginio RFV, tyrimo vertė ir interpretuotas rezultatas.

Bet kuriame metode yra būdingas netikslumas, kuris įtakoja pasiskliovimą mėginiais, kurių tyrimo vertė yra labai artima slenkstinei vertei. Abejotina zona yra tarp slenkstinių verčių, pagrįstų statistiniu netikslumo supratimu.

Gavus abejotiną rezultatą, tyrimą reikia pakartoti su šviežiai paimtu mėginiu. Jei gauti naują mėginį yra sudėtinga, pakartokite tyrimą su pradiniu mėginiu (jei jame nėra mikrobinio užterštumo ar mėginys nėra lipemiškas). Jei yra gaunamas pakartotinis abejotinas rezultatas, tirkite jį naudodami kitą metodą.

Klaidingi rezultatai yra rodomi tuomet, kai foninis nuskaitymas yra didesnis nei nustatyta slenkstinė vertė (nurodanti žemo lygio substrato užterštumą). Šiuo atveju pakartokite tyrimą su pirminiu mėginiu.

Klaidingi mėginio rezultatai taip pat yra rodomi tuomet, kai nėra atitinkamos serijos juostelės standarto duomenų. Šiuo atveju paleiskite standartą VZG juostelėms su dvigubu pakartojimu su tos pačios serijos reagentais kaip ir netinkamas tyrimas. Mėginio rezultatai gali būti perskaičiuojami naudojantis nauju standartu. Dėl papildomos informacijos žiūrėkite naudojimosi instrukciją.

Rezultatų interpretavimas turi būti atliekamas atsižvelgiant į paciento istoriją bei kitų atliktų tyrimų rezultatus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su VIDAS VZG rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Tikėtinos VIDAS VZG tyrimo vertės yra įvedamos į instrumentą per MLE duomenis. Rezultatai nėra priimtini ir neregistruojami, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinės vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

1. VIDAS Varicella-Zoster IgG tyrimas turi būti naudojamas kaip priemonė imunologiniam nustatymui per anti-varicella IgG antikūnų aptikimą.
2. Šio tyrimo rezultatai yra kokybiniai ir turi būti laikomi teigiamais arba neigiamais, priklausomai nuo antikūnų prieš VZV buvimą.
3. Anti-varicella IgG antikūnų buvimas indikuoja apie ankstesnį viruso buvimą, tačiau neatmeta prasidedančios infekcijos galimybes. Kiekviniis porinių serumų tyrimas ūmioje ir atsitraukimo fazėse ar IgM antikūnų tyrimas turi būti naudojamas diagnozuojant neseniai įvykusią infekciją.
4. Nustatant diagnozę, IgG/IgM antikūnų prieš VZV rezultatai turi būti vertinami kartu su paciento simptomais ir klinicine istorija.
5. Teigiamas tyrimo rezultatas pacientams su silpna imunine sistema ir gaunantiems profilaktinį gydymą zoster imuniniu serumo globulinu ar zoster imunine plazma neturi būti traktuojamas kaip buvusios VZV infekcijos indikatorius (10).
6. Neigiamų šio tyrimo rezultatų, nustatytų šiuo tyrimų, koreliacija su apsauga nuo varicella infekcijos, dar nėra nustatyta. Jei yra reikalingas galutinis imuninio statuso nustatymas, visi asmenys turintys neigiamus rezultatus, turi būti pakartotinai patikrinami jautresniu metodu, pvz. FAMA (6).
7. Nors FAMA, ACIF, ir EIA neigiami rezultatai yra patikimi VZV infekcijos jautrumo indikatoriai, keliems asmenims klinikinės VZV infekcijos atsiradimas su žemais antikūnų titrais, demonstruotinais su FAMA ir ACIF, indikuoja, kad žemi antikūnų titrai ne visada yra patikimas indikatorius, rodantis, kad žemas antikūnų lygmuo nėra patikima apsaugos nuo klinikinės ligos indikacija. Tačiau, serumo antikūnų prieš VZV aptikimas pagal vienos studijos duomenis koreliuoja su atitinkama apsauga iki 96% (1).
8. Gali būti pastebėta interferencija su serumu, turinčiu antikūnų, tiesiogiai nukreiptų prieš reagento komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento ligos istoriją, bei kitų tyrimų rezultatus.

TIKĖTINŲ VERČIŲ RIBOS

Jungtinių Amerikos Valstijų urbanistinėse populiacijose, apie 95% suaugusiųjų populiacijos turi antikūnų, indikuojančių apie anksčiau buvusį susirgimą ir imunitetą prieš varicella-zoster virusą (2). Latentinės varicella infekcijos reaktyvacijos paplitimas tarp suaugusiųjų yra 0.2% - 2% (2).

Tikėtinės vertės svyruoja priklausomai nuo populiacijos amžiaus, geografinės padėties ir sezono.

VIDAS Varicella-Zoster IgG tyrimas buvo įvertintas klinikinėje referentinėje laboratorijoje naudojant sveikų pacientų populiacijos mėginius. 88% rezultatų buvo teigiami.

ATLIKIMAS

Jautrumas / specifiškumas:

364 serumo mėginiai buvo tirti dviejose vietose – klinikinėje referentinėje laboratorijoje ir bioMérieux Vitek. Kiekvienas mėginys buvo tirtas naudojant VIDAS VZG tyrimą, komerciškai įsigytą IFA bei komerciškai įsigytą latekso agliutinacijos tyrimą. Galutinėje interpretacijoje mėginys buvo registruojamas kaip teigiamas, jei bent du iš trijų tyrimų buvo teigiami. Mėginys buvo registruojamas kaip neigiamas, jei bent du iš trijų tyrimų buvo neigiami. Mėginys buvo laikomas neaiškiu, jei vienas iš tyrimų buvo abejotinas, o kiti du buvo prieštaringi. Buvo gauti trys neaiškūs mėginiai. Iš pradžių buvo 8 (2.2%) abejotini rezultatai. Atlikus pakartotinį tyrimą, 2 buvo teisingai teigiami, 4 buvo teisingai neigiami, o 2 (0.5%) pakartotinai - abejotini.

Žemiau esančioje lentelėje yra pateikiami VIDAS Varicella-Zoster IgG rezultatai, sulyginami su galutine interpretacija, aprašyta aukščiau.

Jungtinės vietos - VIDAS VZG tyrimas palyginamas su latekso agliutinacija/IFA/galutine interpretacija

Tirti 364 mėginiai.

2 abejotini rezultatai (neįtraukti į apskaičiavimus).

3 neaiškūs mėginiai (neįtraukti į apskaičiavimus).

		Latekso agliutinacija	
		+	-
VIDAS	+	315	4
VZG	-	6	37

Jautrumas = 98.1%

(95% pasiklovimo intervalas: 95.9% – 99.2%)

Specifiškumas = 90.2%

(95% pasiklovimo intervalas: 76.9% – 97.3%)

Bendras sutikimas: 97.2%

(95% pasiklovimo intervalas: 94.9% – 98.5%)

		IFA *	
		+	-
VIDAS	+	302	2
VZG	-	5	31

Jautrumas = 98.4%

(95% pasiklivimo intervalas: 96.2% – 99.3%)

Specifiškumas = 93.9 %

(95% pasiklivimo intervalas: 95%: 79.8% – 99.3%)

Bendras sutikimas: 97.9%

(95% pasiklivimo intervalas: 95.8% – 99.0%)

* 22 mėginiai buvo IFA "abejotini" IFA – nenustatomi dėl nespecifinės fluorescencijos.

		VIDAS / LA / IFA	
		+	-
VIDAS	+	317	1
VZG	-	1	40

Jautrumas = 99.7%

(95% pasiklivimo intervalas: 98.2% – 99.9%)

Specifiškumas = 97.6%

(95% pasiklivimo intervalas: 87.1% – 99.9%)

Santykinė teigiama tikėtina vertė 99.7%

(95% pasiklivimo intervalas: 98.2% – 99.9%)

Santykinė neigiama tikėtina vertė 97.6%

(95% pasiklivimo intervalas: 87.1% – 99.9%)

Bendras sutikimas: 99.4%

(95% pasiklivimo intervalas: 98.0% – 99.9%)

Papildomas tyrimas – neigiami mėginiai

Keturiasdešimt devyni serumo mėginiai buvo gauti iš kelių klinikinių laboratorijų. Šiuos mėginius ištyrus imunofermentiniu (VZV-IgG) ir netiesioginės imuno fluorescencijos (IFA) tyrimais, buvo nustatyta, kad jie yra neigiami. BioMérieux Vitek vietoje, mėginiai buvo tirti naudojant VIDAS VZG tyrimą ir du kitus komerciškai įsigytus tyrimus: latekso aglutinacijos tyrimą ir IFA tyrimą. Iš 49 mėginių, 43 buvo neigiami. Iš šių 43 mėginių, 40 buvo VIDAS VZG teisingai neigiami, 2 klaidingai teigiami ir 1 abejotinas (pakartojus tyrimą jis išliko abejotinas). Trys iš likusių 6 mėginių buvo teigiami su abiem komerciškai įsigytais tyrimais. Vienas mėginys buvo teigiamas ir su IFA, ir su VIDAS VZG, kiti 2 buvo neaiškūs (neatitikimai tarp visų trijų technologijų).

Intra-tyrimo atkartojamumas:

Intra-tyrimo atkartojamumas buvo įvertintas dviejose vietose.

Stipriai teigiama, silpnai teigiama ir neigiama kontrolės buvo tirtos «n» kartų vienos tyrimo serijos metu.

A VIETA	n =	Vidutinė RFV	% CV
- Stipriai teigiama	22	1816	7.3 %
- Silpnai teigiama	22	1073	6.7 %
- Neigiama	21	107	7.9 %

B VIETA	n =	Vidutinė RFV	% CV
- Stipriai teigiama	28	1961	7.0 %
- Silpnai teigiama	27	926	11.2 %
- Neigiama	28	195	12.2 %

Inter tyrimo atkartojamumas:

Inter- tyrimo atkartojamumas buvo įvertintas dviejose vietose.

Kiekvienoje vietoje stipriai teigiama, silpnai teigiama ir neigiama kontrolės buvo tiriamos trigubu pakartojimu, naudojant vieną darbalapį 9 dienas iš eilės. Apskaičiavimuose buvo naudojama vidutinė kiekvienos dienos RFV.

A VIETA	n =	Vidutinė RFV	% CV
- Stipriai teigiama	9	1722	6.4%
- Silpnai teigiama	9	1052	3.6%
- Neigiama	9	102	4.2%

B VIETA	n =	Vidutinė RFV	% CV
- Stipriai teigiama	9	1657	6.4%
- Silpnai teigiama	9	975	1.7%
- Neigiama	9	103	6.2%

KRYŽMINIS REAKTYVUMAS

35 serumo mėginiai, kurie buvo teigiami vienam ar daugiau šių biologinių žymenų: HSV, CMV, EBV, ANA ar FR, buvo tirti naudojant VIDAS Varicella-Zoster IgG. Rezultatai kryžminio reaktyvumo neparodė.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

- SCHMIDT N., Varicella-zoster Virus. In : Lennette, Balows, Hausler, and Shadomy. Manual of Clinical Microbiology. 4th Ed. Washington, D. C. : American Society for Microbiology. 1985, 720-727.
- STEELE R., Immunology of varicella-zoster virus. In : Nahmias and O'Reilly. Comprehensive Immunology, Vol. 9, Part II. New York : Plenum Publishing Corporation. 1982, 73-87.
- TAKAHASHI M., Herpesviridae : varicella-zoster virus. In : Lennette, Halonen, and Murphy. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases, Principles and Practices, Vol. II. New York : Springer-Verlag. 1988, 261-283.
- BRUNELL, P.A., et al. 1984. Herpesvirus Varicella. In: Ziai. Pediatrics. 3rd Ed. Boston/Toronto: Little, Brown, and Company. 522-523.

5. GALLO D., SCHMIDT NJ., Comparison of anticomplement immunofluorescence and fluorescent antibody-to-membrane antigen tests for determination of immunity status to varicella-zoster virus and for serodifferentiation of varicella-zoster and herpes simplex virus infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 1981, 539-543.
6. WILLIAMS, V., A. GERSHON, AND P. BRUNELL. 1974. Serologic response to varicella-zoster membrane antigens measured by indirect immuno-fluorescence. *J. Inf. Dis.* 130:669-672.
7. GERSHON A., et al.. Determination of immunity to varicella using an enzyme-linked-immunosorbent-assay. *Archives of Virology*, 1981, 70 : 169-172.
8. SHEHAB, Z., AND P. BRUNELL. 1986. Varicella-zoster virus. In: Rose, Freidman, and Fahey. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd. Ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology. 502-503.
9. LAMPE, A.S., H.J. PEITERSE-BRUIJS, AND J.C.R. EGTERVAN Wissenderke. 1988. Wearing gloves as cause of false negative HIV tests. *Lancet* ii 1140-1144.
10. SCHAUF V., and SALOT R. J. Varicella-zoster virus. In : Belshe. *Textbook of Human Virology*. Littleton, MA : PSG Publishing. 1991, 842-861.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ

Kategorijų tipų keitimas

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

Pastaba: *Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.*

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	07968I	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	07968J	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/05	07968K	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ)

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausančios prekių ženklai.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS® EBV VCA/EA IgG (VCAG)**IVD**

VIDAS EBV VCA/EA IgG is an automated test for use on the VIDAS family instruments, for the qualitative detection of anti-VCA and anti-EA IgG in human serum using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Detection of these specific antibodies is an aid in diagnosing infectious mononucleosis (IM).

SUMMARY AND EXPLANATION

The Epstein-Barr virus (EBV, also called Human Herpesvirus 4 (HHV4)) is ubiquitous. It was identified as the cause of infectious mononucleosis (IM). In adolescents and young adults, EBV may cause an infectious mononucleosis still known as Pfeiffer's disease (glandular fever) or the kissing disease. In young children, EBV infection is usually asymptomatic.

Transmission mainly occurs through contact with saliva. Indeed, EBV replication takes place in the oropharyngeal epithelial cells where the virions are released into the saliva by infected B-lymphocytes.

Over 95% of the adult population carries the virus. As this virus generally remains dormant in the body, reactivation may occur, particularly in immunocompromised patients. While reactivated EBV infection is asymptomatic in immunocompetent carriers, it is however associated with clinical disorders and a high morbidity and mortality rate in immunocompromised patients.

Diagnosis of IM is mainly based on clinical symptoms (sore throat, fever and swollen lymph glands). Serology is used to confirm diagnosis of IM and exclude illnesses such as lymphoma and leukemia, which may produce IM-type symptoms. Mononucleosis syndrome may also be caused by other pathogenic agents (cytomegalovirus, HHV6, adenovirus, rubella virus, mumps virus, HIV, hepatitis A virus, influenza A & B viruses and toxoplasma gondii).

Serologic diagnosis of IM includes non-specific tests such as the detection of heterophile antibodies, as well as EBV-specific tests. The latter tests are based on the detection of antibodies produced by the host in response to different antigens produced during the viral cycle. During the lytic phase, EBV early antigens (EA) are produced, then viral capsid antigens (VCA) are expressed at the same time as the viral genome. During the latent cycle, Epstein-Barr nuclear antigens (EBNA) are synthesized.

When IM occurs, heterophile antibodies appear in 60-80% of cases, anti-EA antibodies in 70-80% of cases, anti-VCA IgM antibodies in 100% of cases and anti-VCA IgG antibodies in nearly 100% of cases.

During the convalescent phase, anti-VCA IgG antibodies persist and approximately 95% of patients produce anti-EBNA IgG antibodies (1, 2, 3, 4, 5).

The VIDAS tests enable the detection of anti-EA IgG and anti-VCA IgG antibodies (VIDAS EBV VCA/EA IgG), anti-VCA IgM antibodies (VIDAS EBV VCA IgM) and anti-EBNA IgG antibodies (VIDAS EBV EBNA IgG).

Global interpretation of these assays is useful in diagnosing IM and establishing the stage of infection (see the following table):

VIDAS EBV VCA IgM	VIDAS EBV VCA/EA IgG	VIDAS EBV EBNA IgG	Interpretation of VIDAS EBV (combined results)
-	-	-	Seronegative subject (non infected)
+	-	-	Early-phase IM / primary infection (2)
+	+	-	Acute IM / primary infection
-	+	+	Seropositive subject (past infection)
-	-	+	Isolated EBNA IgG (2)
-	+	-	Isolated VCA/EA IgG (2)
+	+	+	Indeterminate profile (2)

-: Absence of antibodies.

+: Presence of antibodies.

(1) in rare cases, anti-EBNA antibodies are not detected in seropositive subjects who have had a past infection.

(2) to be checked using a specimen collected 1 to 2 weeks later.

PRINCIPLE

The assay principle combines a 2-step enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR®) serves as the solid phase as well as the pipetting device. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strip.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

In the first step, the sample is diluted and then cycled in and out of the SPR. The anti-VCA and/or EA antibodies in the sample will bind to the VCA P18 and EA P54 antigens coated on the interior of the SPR wall. Unbound components are eliminated during the washing steps. During the second step, mouse monoclonal anti-human IgG antibodies in Fab' form, conjugated to alkaline phosphatase, are cycled in and out of the SPR and will attach to any human IgG bound to the antigen. During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antibody present in the sample. At the end of the assay, the results are automatically calculated by the instrument in relation to the stored standard S1, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (30 TESTS):

30 EBV VCA/EA IgG Strips	STR	Ready-to-use.
30 EBV VCA/EA IgG SPRs 1 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with VCA P18 and EA P54 antigens.
EBV VCA/EA IgG Positive Control 1 x 1,2 ml (liquid)	C1	Pool of human sera* containing anti-VCA IgG in a phosphate buffer pH 7.4 + 50 g/l BSA + preservatives. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1 (+) Test Value Range").
Negative Control 1 x 1.9 ml (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin + preservatives. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C2 (-) Test Value Range").
Standard EBV VCA/EA IgG 1 x 2 ml (liquid)	S1	Pool of human sera* containing anti-VCA IgG in a phosphate buffer pH 7.4 + 50 g/l BSA + preservatives.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Clip Seal		
1 Package Insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs surface antigen, and antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR® is coated during production with VCA P18 and EA P54 antigens. Each SPR is identified by the code VCAG. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening using the clip seal provided.**

The Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the VCAG strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	Sample diluent: Phosphate buffered saline + Tween 20 0.05% pH 7.2 + 5 g/l BSA + preservatives (600 µl).
3 - 4 - 5 - 7 - 8	Wash buffer: Phosphate buffered saline + Tween 20 0.25% pH 7.8 + preservatives (600 µl).
6	Conjugate: alkaline phosphatase-labeled mouse monoclonal anti-human IgG antibodies in Phosphate buffered saline pH 6.1 + protein stabilizers + preservatives (400 µl).
9	Sample diluent: Phosphate buffered saline + Tween 20 0.05% + 5 g/l BSA pH 7.2 + preservatives (400 µl).
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l sodium azide (300 µl).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard statement**

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 µl.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- VIDAS family instrument.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - Latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPR®s if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the box label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS EBV VCA/EA IgG kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **To maintain stability of the remaining SPRs, carefully reseal the pouch after use with the desiccant inside using the clip seal provided, and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection

Human serum (glass or plastic plain tube with coagulation activator and tube with separation gel).

It is recommended that each laboratory validate the type of collection tube used.

Sample-related interference

None of the following factors have been found to significantly influence this assay.

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin: 0 to 300 µmol/l (monomer)),
- lipemia (after spiking samples with lipids: 0 to 30 mg/ml equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: 0 to 610 µmol/l).

However, it is recommended not to use samples that are clearly hemolyzed, lipemic or icteric and, if possible, to collect a new sample.

Specimen preparation:

Plain tubes: wait for samples to coagulate and **centrifuge** according to the tube manufacturer's recommendations to eliminate fibrin.

Other tubes: follow the tube manufacturer's recommendations for use.

Frozen-stored samples: after thawing, these samples must be homogenized before analysis.

Sample stability

Samples can be stored in stoppered tubes for up to 5 days at 2-8°C; if longer storage is required, freeze the sera at -25 ± 6°C.

Do not exceed 3 freeze/thaw cycles.

A study performed on samples frozen for 6 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTION FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading VIDAS® Protocole Test Change (PTC) protocol data and MLE data

When using the assay for the first time:

With the external instrument barcode reader,

1. Scan the PTC barcode(s) at the end of the package insert. or downloadable from www.biomerieux.com/techlib. This reading allows VIDAS® PTC protocol data to be transferred to the instrument software for its update.

2. Scan the MLE data on the box label.

Note: If the MLE data have been read before the VIDAS® PTC protocol, read the MLE data again.

When opening a new lot of reagents:

Enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed before initiating the tests, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 28 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested in **triplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "VCAG" strip and on "VCAG" SPR® for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "VCAG" code on the instrument. The standard must be identified by "S1" and tested in triplicate. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
4. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum separated from the pellet).

5. For this test, the standard, control, and sample test portion is 100 µl.

6. Insert the "VCAG" SPRs and "VCAG" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.

8. Restopper the vials and return them to 2–8°C after pipetting.
9. The results are obtained within approximately 40 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate biohazard receptacle.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The RFV obtained for each sample is interpreted by the VIDAS system as follows:

Test value = patient RFV / standard RFV

This test value and the interpreted result are also included on the result sheet. The test value is interpreted as follows:

Test Value (TV)	Results
≤ 0.09	Negative
0.10 ≤ VT ≤ 0.20	Equivocal
≥ 0.21	Positive

IM diagnosis is based on the biological interpretation of test results taking into account the patient's history and the results of the other VIDAS EBV assays (VIDAS EBV EBNA IgG ref. 30 235 and VIDAS EBV VCA IgM ref. 30 237). Please refer to the VIDAS interpretation table on page 1 of this package insert.

It is advisable to check the equivocal results using a second specimen collected one or two weeks later.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS EBV VCA/EA IgG kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note:

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- Biological interpretation for the diagnosis of IM must be based on at least the results of the 3 VIDAS EBV assays (VIDAS EBV EBNA IgG ref. 30 235, VIDAS EBV VCA/EA IgG ref. 30 236 and VIDAS EBV VCA IgM ref. 30 237).
- In the presence of negative results for the 3 VIDAS markers and suspicion of IM, collect a second specimen one or two weeks later and test the two samples simultaneously.
- A positive VCA/EA IgG result (non-differentiated result) does not rule out a recent EBV infection if a negative result is obtained for the VCA IgM and EBNA IgG markers.
- In some cases, at the end of the acute phase of IM (transitional phase), isolated anti-VCA/EA IgG antibodies may be encountered (drop in anti-VCA IgM antibodies and late appearance of anti-EBNA IgG antibodies).
- A negative VIDAS EBV VCA/EA IgG result does not exclude the presence of antibodies directed against VCA P23 protein.
- In rare cases, anti-EBNA antibodies are not detected in seropositive subjects who have a past infection.
- In rare cases, only anti-EBNA antibodies are detected:
- in seropositive subjects who have a past infection,
- in children under 6 months of age (passive transfer of maternal anti-EBNA IgG antibodies),
- in transfused subjects.
- The performance characteristics of this test have not been established for use within the scope of blood donation.
- The performance characteristics of this test have not been established for immunocompromised or immunosuppressed patients (transplanted patients).
- This test has not been validated for use in the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma (NPC).
- Certain negative samples may have a test value < 0.
- Cross reactivity or interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history and the results of the two other tests: VIDAS EBV VCA IgM and VIDAS EBV EBNA IgG.

USUAL VALUES

In Western countries, only 5% of adults are never affected by an EBV infection; thus, the antibodies characteristic of a past infection (EBNA and VCA IgG) reach a prevalence rate of 95%.

PERFORMANCE

Performance studies conducted using the VIDAS EBV VCA/EA IgG assay gave the following results:

Precision

Three samples were tested for 10 days in 2 runs per day and 2 replicates per run, with 2 reagent lots on 3 instruments (N = 240).

Mean index of negative sample varies between 0.00 and 0.01.

The **intra-run precision** (repeatability) and the **total precision intra-lot** (intra-run, inter-run, inter-day, inter-calibration, inter-instrument reproducibility) were calculated using this protocol, based on the recommendations of the **NCCLS/CLSI document EP5 A2, volume 24 number 25**.

Lot 1		Repeatability		Inter-run precision		Inter-instrument precision		Total precision	
Sample	Index	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
Sample 1	0.26	0.01	5.2	0.01	3.0	0.01	5.4	0.02	8.7
Sample 2	1.21	0.04	3.7	0.05	3.9	0.03	2.8	0.08	7.0

Lot 2		Repeatability		Inter-run precision		Inter-instrument precision		Total precision	
Sample	Index	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
Sample 1	0.26	0.02	5.8	0.01	2.0	0.01	3.5	0.02	7.5
Sample 2	1.23	0.05	4.2	0.02	1.8	0.00	0.0	0.07	5.8

Sensitivity - Specificity

Specificity and sensitivity performance was established on 2 lots of VIDAS EBV EBNA IgG reagent using 621 samples characterized for their EBV status (past infections, primary infections including 53 early-phase primary infections, seronegatives) and including 93 fresh serum samples. The status of the samples was determined on the basis of the available demographic (patient age) and clinical data, and the results obtained with the routine methods used by the expert site's laboratory.

	Reference populations for sensitivity calculation	Reference population for specificity calculation
VIDAS EBV VCA/EA IgG	Acute primary infections and past infections	Seronegatives

The following consolidated results were obtained:

The 21 samples were found to be equivocal with the VIDAS EBV VCA/EA IgG assay and were not taken into account for the sensitivity and specificity calculations.

The 53 samples characterized as early-phase primary infections were not taken into account for the total sensitivity calculation.

Population	Sensitivity				Specificity
	Total sensitivity**	Early-phase primary infections**	Acute primary infections	Past infections	Seronegatives
Positive	377	25	120	257	0
Negative	14	19	9	5	165
Total*	391	44	129	262	165
%*	96.42	NA	93.02	98.09	100
95% confidence interval	94.02 – 97.88	NA	87.13 – 96.33	95.54 – 99.20	97.63 - 100

• *Equivocal results were not taken into account for the calculations.

** Early-phase primary infections are characterized by the presence of anti-VCA IgM and the absence of anti-VCA IgG with the EIA tests routinely used by the expert site.

NA: Not applicable

Concordance study

Comparison with two other EIA methods

A study was performed at an external site, using 526 samples, to establish the concordance between the VIDAS EBV VCA/EA IgG kit and two other automated EIA methods.

The discordances between the methods were analyzed on the basis of the EBV clinical status of the samples determined by the expert site, taking into consideration the patient's history and serological evolution.

		EA IgG and VCA IgG EIA			Total
		Positive	Equivocal	Negative	
VIDAS EBV VCA/EA IgG	Positive	302	1	15****	318
	Equivocal	12	0	9	21**
	Negative	6***	2	179	187
	Total*	308	3	194	
Concordance % *		95.82%			

*The equivocal results for each of the VIDAS and EIA assays were not taken into account for the calculations.

** Among the 21 samples, 1 is seronegative, 16 are primary infections and 4 are past infections.

*** The 6 samples are primary infections.

**** Among the 15 samples, 10 are primary infections and 5 are past infections.

Comparison with the clinical status of the specimen

A study was performed to establish the concordance between the EBV status defined by the expert site, and the global status obtained using the results of the 3 VIDAS EBV VCA/EA IgG, VIDAS VCA IgM and VIDAS EBNA IgG reagents. The clinical status of EBV and the global interpretations of the 3 VIDAS assays were defined by the expert site taking into consideration the patient's history and serological evolution.

		Reference serological status				
		Seronegatives	Total primary infections		Total past infections	
			Early-phase primary infections	Acute primary infections	Past infections	Isolated VCA IgG
VIDAS Serological status	Seronegatives	159	6	3	0	0
	Primary infections (early-phase and acute)	4	37	120	0	5
	Past infections	0	0	0	224	4
	Isolated VCA/EA IgG	0	5	3	7	12
	Isolated EBNA IgG	2	0	0	5	0
	Indeterminate	1	5	10	8	1
	Total*	165	48	126	236	21
Total concordance %*		92.62%				

*The indeterminate EBV statuses (4.03%) were not taken into account for the calculations.

CROSS REACTIVITY AND INTERFERENCES

Cross-reactivity

The notion of cross-reactivity is the study of samples which are negative for the test to be evaluated and positive for the potentially interfering pathology. The presence of these potentially interfering pathologies must not modify the interpretation of the evaluated test. The equivocal results were not taken into account for the analysis.

The results of the 136 samples tested are presented in the following table:

Pathology	Number of sera tested	Number of cross reactions	Number of equivocal results	Pathology	Number of sera tested	Number of cross reactions
Toxo IgG	10	0	1	HAVT	4	1
CMV IgG	12	0	0	HHV6	8	0
VZVG	30	0	0	HCV	5	0
HSV IgG	7	0	0	HIV	4	0
Rheumatoid factor	12	0	0	HBsT	5	0
Rub IgG	7	0	0	HBcT	5	0
HAMA	3	0	0	HBs Ag	5	0
Parvo B19 IgG	17	0	0	ANA	2	0

Among all the samples tested, only one sample with anti-HAV antibodies showed cross-reactivity with a weakly positive index (index = 0.21).

Interferences

The notion of interference is the study of samples which are positive for the test to be evaluated and positive for the potentially interfering pathology. The presence of these potentially interfering pathologies must not modify the interpretation of the evaluated test.

124 samples of potentially interfering pathologies (Toxo IgG, HBs Ag, Rub IgG, HBcT, HBsT, ANA+, HCV, HIV, CMV IgG, VZV IgG, HAVT, HSV IgG, FR, Parvo B19 IgG, HAMA and HHV6 IgG) with anti-VCA/EA IgG antibodies, were tested.

There was no change in the interpretation of the VIDAS EBV VCA/EA IgG test results.

No interference was observed with the VIDAS EBV VCA/EA IgG test.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents, as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. Seigneurin JM. Infections à virus Epstein-Barr . Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses,8-070-K-10, 2001, 12 p.
2. Fafi-Kremer S., Seigneurin J-M., Morand P. La mononucléose infectieuse (MNI) "revisitée", Virologie 2007, 11: 13-26 p.
3. H.B. Jenson, Virologic Diagnosis, Viral Monitoring, and treatment of Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis, Current Infectious Disease Reports, 2004, vol 6, p 200-207.
4. R.D. Hess, Routine Epstein Barr Virus Diagnostics from the Laboratory Perspective: still challenging after 35 years, Journal of Clinical Microbiology, 2004, vol 2, n° 8, p 3381-3387.
5. K.F.Macsween and D.H.Crawford, Epstein Barr virus – recent advances, The Lancet Infectious Diseases, 2003, vol 3, p 131-140.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	14120E	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	14120F	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) INSTRUCTIONS FOR USE
2016/05	14120G	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS)

BIOMERIEUX, the blue logo, SPR and VIDAS are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux or one of its subsidiaries or one of its companies.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS® EBV VCA/EA IgG (VCAG)

VIDAS EBV VCA/EA IgG yra automatizuotas tyrimas, naudojamas su VIDAS šeimos instrumentais, kokybiniam anti-VCA ir anti-EA IgG nustatymui žmogaus serume, naudojant ELFA technologiją (imunofermentinis fluorescencinis metodas). Šių specifinių antikūnų aptikimas yra pagalbinė priemonė infekcinės mononukleozės (IM) nustatyme.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Epstein-Barr virusas (EBV, taip pat vadinamas Žmogaus Herpes virusu 4 (ŽHV4)) yra "visur esantis". Jis yra nustatytas kaip infekcinės mononukleozės (IM) sukėlėjas. Paaugliams ir jauniems žmonėms EBV gali sukelti infekcinę mononukleozę, taip pat žinomą kaip *Pfeiffer* susirgimas (liaukų uždegimas) ar bučinių liga. Mažiesiems vaikams EBV infekcija paprastai būna besimptomatinė.

Pernesimas dažniausiai vyksta esant kontaktui su seilėmis. Paprastai EBV replikacija vyksta orofaringinio epitelio ląstelėse, kur virionai patenka į seiles per infekuotus B-limfocitus.

Daugiau nei 95 % suaugusiųjų populiacijos yra viruso nešiotojai. Kadangi šis virusas kūne paprastai yra miegantis, gali įvykti reaktyvacija, ypatingai pacientams su silpna imunine sistema. Kadangi atsinaujinusi EBV infekcija yra besimptomatinė šio viruso nešiotojams su stipria imunine sistema, ji yra siejama su klinikiniais sutrikimais ir dideliu sergamumu bei mirštamumu pacientams su silpna imunine sistema.

IM diagnozė remiasi klinikiniais simptomais (skaudanti gerkle, karščiavimas ir padidėję limfiniai mazgai). Serologija yra naudojama patvirtinti IM diagnozei ir atmesti tokias ligas kaip limfoma ir leukemija, prie kurių gali atsirasti IM tipo simptomai. Mononukleozės sindromas gali būti sukeltas ir kitų patogeninių agentų (citomegalo viruso, ŽHV6, adenoviruso, raudonukės viruso, kiaulytės viruso, ŽIV, hepatito A viruso, gripo A ir B virusų bei Toksoplazmos gondii).

Serologinė IM diagnozė įtraukia nespecifinius tyrimus, tokius kaip heterofilinių antikūnų aptikimas bei EBV-specifinius tyrimus. Pastarieji tyrimai yra grindžiami aptikimu antikūnų, gaminamų šeimininko, kaip atsakas skirtingiems antigenams, besigaminantiems viruso ciklo metu. Litinės fazės metu, yra gaminami EBV ankstyvieji antigenai (EA), o virusiniai kapsidiniai antigenai (VCA) yra ekspresuojami tuo pat metu kaip ir virusinis genomas. Latentinio ciklo metu yra sintetiniai Epstein-Barr nukleariniai antigenai (EBNA).

Atsiradus IM, heterofiliniai antikūnai yra aptinkami 60-80% atvejų, anti-EA antikūnai - 70-80% atvejų, anti-VCA IgM antikūnai - 100% atvejų, o anti-VCA IgG antikūnai – apie 100% atvejų.

Sveikimo fazės metu, anti-VCA IgG antikūnai išlieka ir apie 95% pacientų yra gaminami anti-EBNA IgG antikūnai 1, 2, 3, 4, 5).

VIDAS tyrimai leidžia aptikti anti-EA IgG ir anti-VCA IgG antikūnus (VIDAS EBV VCA/EA IgG), anti-VCA IgM antikūnus (VIDAS EBV VCA IgM) ir anti-EBNA IgG antikūnus (VIDAS EBV EBNA IgG). Šių tyrimų visuotinis interpretavimas yra naudingas diagnozuojant IM ir nustatant infekcijos stadiją (žr. šią lentelę):

VIDAS EBV VCA IgM	VIDAS EBV VCA/EA IgG	VIDAS EBV EBNA IgG	VIDAS EBV interpretavimas (jungtiniai rezultatai)
-	-	-	Seroneigiamas subjektas (neinfekuotas)
+	-	-	Ankstyva IM fazė/ pradinė infekcija (2)
+	+	-	Ūmi IM / pradinė infekcija
-	+	+	Seroteigiamas subjektas (pasibaigusi infekcija)
-	-	+	Izoliuotas EBNA IgG (2)
-	+	-	Izoliuotas VCA/EA IgG (2)
+	+	+	Nenustatytas profilis (2)

- : Antikūnų nėra.

+ : Antikūnai yra.

(1) retais atvejais, anti-EBNA antikūnai nėra aptinkami seroteigiamuose pacientuose, kurie jau yra turėję pasibaigusią infekciją.

(2) reikia tikrinti naudojant mėginį, surinktą po 1-2 savaičių.

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas dviejų etapų imunofermentiniu sumuštinio metodu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgali (SPR®) tarnauja kaip kietą fazę reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Pirmame etape mėginys yra atskiedžiamas ir cirkuliuojamas į ir iš SPR antgalio. Anti-VCA ir/ar EA antikūnai, esantys mėginyje, susiriša su VCA P18 ir EA P54 antigenais, padengtais vidinėje SPR angalo pusėje. antigenais, padengtais vidinėje SPR angalo pusėje. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu. Antro etapo metu pelės monokloniniai anti-žmogaus IgG, esantys Fab' formoje, konjuguoti su šarmine fosfataze, cirkuliuoja į ir iš SPR antgalio ir prisijungia prie žmogaus IgG, susirišusio su antigenu. Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas antikūnų, esančių mėginyje, koncentracijai. Tyrimo pabaigoje rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento, priklausomai nuo atmintyje saugomo standarto S1, ir tada atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ):

30 EBV VCA/EA IgG strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
30 EBV VCA/EA IgG SPR antgalių 1 x 30	SPR	Paruošta naudoti. Vidinė SPR antgalio pusė yra padengta VCA P18 ir EA P54 antigenais.
EBV VCA/EA IgG teigiama kontrolė 1 x 1,2 ml (skysta)	C1	Žmogaus plazmos mišinys*, turintis anti-VCA IgG fosfato buferyje pH 7.4 + 50 g/l BSA + konservantai. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklivimo intervalas ("Control C1 (+) Test Value Range").
Neigiama kontrolė 1 x 1,9 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklivimo intervalas ("Control C2 (-) Test Value Range").
Standartas EBV VCA/EA IgG 1 x 2 ml (skystas)	S1	Žmogaus plazmos mišinys*, turintis anti-VCA IgG fosfato buferyje pH 7.4 + 50 g/l BSA + konservantai.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos:		
• MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu.		
ar		
• MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 užspaustukas		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiaus antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR antgalis

SPR® antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas VCA P18 ir EA P54 antigenais. Kiekvienas SPR yra identifikuotas VCAG kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR skaičių ir **sandariai jį uždarykite po atidarymo.**

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra brūkšninis kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti mėginį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Centrinės strypelio sekcijos šulinėliuose yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

VCAG strypelio aprašymas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: fosfato buferio tirpalas + Tween 20 0.05% pH 7.2 + 5 g/l BSA + konservantai (600 µl).
3 - 4 - 5 - 7 - 8	Plovimo buferis: fosfato buferio tirpalas + Tween 20 0.25% pH 7.8 + konservantai (600 µl).
6	Konjugatas: šarmine fosfataze žymėti pelės monokloniniai anti-žmogaus IgG antikūnai, esantys Fosfato buferio tirpale pH 6.1 + Baltymo stabilizatoriai + konservantai (400 µl).
9	Mėginio skiediklis: Fosfato buferio tirpalas + Tween 20 0.05% + 5 g/l BSA pH 7.2 + konservantai (400 µl).
10	Nuskaitymo kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfatas (0.6 mmol/l) + dietanolaminas (DEA*) (0.62 mol/l ar 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS IR VIENKARTINĖS PRIEMONĖS

- Pipetės su vienkartiniais antgaliais dozuoti po 100 µl.
- Vienkartinės pirštinės be talko.
- Kitas specifinės priemonės ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite *Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas*).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR® antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas dėžutės etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar vienkartinių priemonių) iš skirtingų gaminių serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia neteisingus kai kurių imunofermentinių tyrimų rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogus metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengtų šių junginių susikaupimo.
- Substratas 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazės "H" ir atsargumo frazės "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buitėje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žiūrėkite Naudotojo Instrukciją dėl išsipylių skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentai turi būti reguliariai valomi ir nukenksminami (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS EBV VCA/EA IgG rinkinį prie 2-8°C.
- **Neužšaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugerėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**

- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas

Žmogaus serumas (stiklinis ar plastikinis paprastas mėgintuvėlis su koaguliacijos aktyvatoriumi ir mėgintuvėlis su atskyrimo geliu).

Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą.

Su mėginiu susijusi interferencija

Nebuvo nustatyta, kad kuris nors iš žemiau išvardytų faktorių žymiai įtakotų šį tyrimą.

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo: nuo 0 iki 300 µmol/l (monomeras)),
- lipemija (po lipidų įdėjimo: nuo 0 iki 30 mg/ml trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo: nuo 0 iki 610 µmol/l).

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių, kurie yra aiškiai hemolizuoti, lipemiški ar ikteriški ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius.

Mėginio paruošimas:

Paprasti mėgintuvėliai: palaukite, kol mėginys koaguluos ir **centrifuguokite** laikantis mėgintuvėlio gamintojo rekomendacijų fibrino eliminavimui.

Kiti mėgintuvėliai: laikykitės mėgintuvėlių gamintojo naudojimo rekomendacijų.

Užšaldyti mėginiai: po atšildymo šie mėginiai turi būti homogenizuoti prieš tyrimą.

Mėginio stabilumas

Mėginiai gali būti laikomi užkimštuose mėgintuvėliuose prie 2-8°C temperatūros iki 5 dienų; jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, užšaldykite serumą prie -25 ± 6 °C.

Neviršykite 3 užšaldymo/atšildymo ciklų.

Tyrimai, atlikti su 6 mėnesius užšaldytais mėginiais, parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

VIDAS® Protocole Test Change (PTC) protokolo duomenų ir MLE duomenų nuskaitymas

Tyrimą naudojant pirmą kartą:

Su išoriniu brūkšnių kodų skaitytuvu,

1. Nuskenaukite PTC brūkšninį kodą (-us), esantį pakuotės pabaigoje arba parsisiunčiamus iš www.biomerieux.com/techlib. Šis nuskaitymas perkelia VIDAS® PTC protokolo duomenis į instrument programinę įrangą atnaujinimui.

2. Nuskenaukite MLE duomenis, esančius ant dėžutės etiketės.

Pastaba: jei MLE duomenys buvo nuskaityti prieš VIDAS® PTC protokolą, dar kartą nuskaitykite MLE duomenis.

Atidarius naują reagentų partiją:

Įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama **prieš pradedant tyrimus**, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 28 dienas. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **trigubu pakartojimu** (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną "VCAG" strypelį ir vieną "VCAG" SPR® antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. Įsitinkite, kad pakuotė sandariai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.
3. Tyrimas instrumente yra identifikuojamas "VCAG" kodu. Standartas turi būti identifiкуotas kaip "S1", ir tiriamas trigubu pakartojimu. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C2".
4. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite vortekso tipo kratiklius (serumas atskirtas nuo ląstelių).
5. Šiam tyrimui, standarto, kontrolės ir mėginio tiriamoji dalis yra 100µl.

6. Įstatykite "VCAG" SPR antgalius ir "VCAG" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.

7. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta Naudojimo Instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.

8. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į 2–8°C temperatūrą.

9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 40 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas. Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Gauta RFV kiekvienam mėginiui yra interpretuojama VIDAS sistemoje šitaip:

Tyrimo vertė = paciento RFV / standartinė RFV

Ši tyrimo vertė ir interpretuotas rezultatas taip pat yra įtraukiami į rezultatų lapą. Tyrimo vertė yra interpretuojama šitaip:

Tyrimo vertė (TV)	Rezultatai
≤ 0.09	Neigiamas
$0.10 \leq VT \leq 0.20$	Abejotinas
≥ 0.21	Teigiamas

IM diagnozė remiasi tyrimo rezultatų biologine interpretacija, atsižvelgiant į paciento medicininę istoriją bei kitų VIDAS EBV tyrimų rezultatus (VIDAS EBV EBNA IgG Kat.Nr. 30 235 ir VIDAS EBV VCA IgM Kat.Nr. 30 237). Žiūrėkite į VIDAS interpretavimo lentelę šio pakuotės aprašymo 1 lape.

Abejotinus rezultatus patariama patikrinti surinkus mėginį po vienos ar dviejų savaičių.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kiekviename VIDAS EBV VCA/EA IgG IgG rinkinyje yra viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinios vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

- IM diagnozės biologinis interpretavimas turi remtis mažiausiai 3 VIDAS EBV tyrimų rezultatais (VIDAS EBV EBNA IgG Kat.Nr. 30 235, VIDAS EBV VCA/EA IgG Kat.Nr. 30 236 ir VIDAS EBV VCA IgM Kat.Nr. 30 237).
- Jei 3 VIDAS žymenų rezultatai yra neigiami įtariant IM, surinkite antrą mėginį po vienos ar dviejų savaičių ir du mėginius tirkite vienu metu.
- Teigiamas VCA/EA IgG rezultatas (nediferencijuotas rezultatas) neatmeta nesenai buvusios EBV infekcijos galimybės, jei VCA IgM ir EBNA IgG žymenims yra gaunamas neigiamas rezultatas.
- Kai kuriais atvejais, IM ūmios fazės pabaigoje (pereinamasis periodas), gali būti aptinkami izoliuoti anti-VCA/EA IgG antikūnai (anti-VCA IgM antikūnų sumažėjimas ir vėlyvas anti-EBNA IgG antikūnų atsiradimas).
- Neigiamas VIDAS EBV VCA/EA IgG rezultatas neatmeta antikūnų prieš VCA P23 baltymo galimybės.
- Retais atvejais, anti-EBNA antikūnai nėra aptinkami serotegiamuose subjektuose, kurie jau buvo turėję pasibaigusią infekciją.

- Retais atvejais, yra aptinkami tik anti-EBNA antikūnai:
- Serotegiamuose subjektuose, kuriems infekcija yra pasibaigusi,
- Vaikams iki 6 mėnesių amžiaus (pasyvus motinos anti-EBNA IgG antikūnų pernešimas),
- Subjektams, kuriems buvo atliktas kraujo perpylimas.
- Šio tyrimo atlikimo charakteristika nebuvo patvirtinta naudojimui su kraujo donorystės sritimi.
- Šio tyrimo atlikimo charakteristika nebuvo patvirtinta naudojimui su susilpnėjusios imuninės sistemos pacientais (po transplantacijų).
- Šis tyrimas nėra patvirtintas naudojimui diagnozuojant nasofaringinę karcinomą (NPC).
- Tam tikri neigiami mėginiai gali turėti tyrimo vertę < 0.
- Gali būti pastebimas kryžminis reaktyvumas arba interferencija su serumais, turinčiais antikūnų prieš reagento komponentus. Todėl tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento medicininę istoriją ir kitų dviejų tyrimų rezultatus: VIDAS EBV VCA IgM ir VIDAS EBV EBNA IgG.

ĮPRASTOS VERTĖS

Vakarų šalyse tik 5% suaugusiųjų niekada neturėjo EBV infekcijos; nors pasibaigusios infekcijos antikūnų (EBNA ir VCA IgG) charakteristika siekia 95%.

ATLIKIMAS

Atlikus veiksmingumo tyrimą, naudojant VIDAS EBV VCA/EA IgG tyrimą, gauti šie rezultatai:

Tikslumas

Dešimt dienų buvo tirti trys mėginiai dvigubu pakartojimu, 2 serijomis per dieną, su 2 reagentų serijomis trimis instrumentais (N = 240).

Vidutinis neigiamo mėginio indeksas svyruoja tarp 0.00 ir 0.01.

Tikslumas to paties tyrimo ribose (atkartojamumas) ir **tarp skirtingų serijų** (atkuriamumas toje pačioje serijoje, tarp skirtingų serijų, tarp skirtingų dienų, skirtingų kalibravimų, skirtingų instrumentų) buvo apskaičiuotas naudojant šį protokolą, remiantis **NCCLS/CLSI dokumento EP5 A2, tomas 24 numeris 25** rekomendacijomis.

Serija 1		Atkartojamumas		Tikslumas tarp skirtingų serijų		Tikslumas tarp skirtingų instrumentų		Viso	
Mėginys	Indeksas	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)
Mėginys 1	0.26	0.01	5.2	0.01	3.0	0.01	5.4	0.02	8.7
Mėginys 2	1.21	0.04	3.7	0.05	3.9	0.03	2.8	0.08	7.0

Serija 2		Atkartojamumas		Tikslumas tarp skirtingų serijų		Tikslumas tarp skirtingų instrumentų		Viso	
Mėginys	Indeksas	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)
Mėginys 1	0.26	0.02	5.8	0.01	2.0	0.01	3.5	0.02	7.5
Mėginys 2	1.23	0.05	4.2	0.02	1.8	0.00	0.0	0.07	5.8

Jautrumas - specifiškumas

Specifiškumas ir jautrumas buvo nustatomi su dviem VIDAS EBV VCA/EA IgG reagento serijomis, naudojant 621 mėginius, charakterizuojamus dėl EBV statuso (buvusios infekcijos, pradinės infekcijos, įskaitant 53 ankstyvos fazės pradinės infekcijas, seroneigiamos) ir 93 šviežius serumo mėginius. Mėginių būklė buvo nustatoma remiantis demografiniais (pacientų amžius) ir klinikiniais duomenimis bei rezultatais, gautais iš rutininių metodų, naudojamų ekspertų laboratorijoje.

	Referentinės populiacijos jautrumo apskaičiavimui	Referentinės populiacijos specifiškumo apskaičiavimui
VIDAS EBV VCA/EA IgG	Ūmios pradinės infekcijos ir pasibaigusios infekcijos	Seroneigiami

Gauti šie jungtiniai rezultatai:

Dvidešimt vienas mėginys buvo nustatyti kaip abejotini su VIDAS EBV VCA/EA IgG tyrimu ir nebuvo įtraukti į jautrumo ir specifiškumo apskaičiavimus.

53 mėginiai, charakterizuojami kaip ankstyvos fazės pirminės infekcijos, nebuvo įtraukti į bendro jautrumo apskaičiavimus.

Populiacija	Jautrumas				Specifiškumas
	Bendras jautrumas**	Ankstyvos fazės pradinės infekcijos **	Ūmios pradinės infekcijos	Pasibaigusios infekcijos	Seroneigiami
Teigiama	377	25	120	257	0
Neigiama	14	19	9	5	165
Viso*	391	44	129	262	165
%*	96.42	NA	93.02	98.09	100
95% pasiklivimo intervalas	94.02 – 97.88	NA	87.13 – 96.33	95.54 – 99.20	97.63 - 100

• *Abejotini rezultatai nebuvo įtraukti į apskaičiavimus.

**Ankstyvosios fazės pradinės infekcijos yra charakterizuojamos anti-VCA IgM buvimu ir anti-VCA IgG nebuvimu ištyrus su EIA tyrimais, rutinškai naudojamais ekspertų.

NA: Netaikoma.

Atitikimo tyrimasPalyginimas su kitais dviem EIA metodais

Tyrimas buvo atliekamas išorinėje vietoje, naudojant 526 mėginius, atitikimo nustatymui tarp VIDAS EBV VCA/EA IgG tyrimo ir kitų dviejų automatizuotų EIA metodų.

Neatitikimas tarp metodų buvo analizuojamas EBV klinikinio statuso pagrindu mėginiuose, tirtuose ekspertų, atsižvelgiant į paciento istoriją ir serologinę raidą.

		EA IgG ir EIA VCA IgG EIA			Viso
		Teigiamas	Abejotinas	Neigiamas	
VIDAS EBV VCA/EA IgG	Teigiamas	302	1	15****	318
	Abejotinas	12	0	9	21**
	Neigiamas	6***	2	179	187
	Viso *	308	3	194	
Atitikimas % *		95.82%			

* Abejotini VIDAS ir EIA tyrimų rezultatai nebuvo įtraukti į apskaičiavimus.

** Iš 21 mėginio, 1 buvo seroneigiamas, 16 su pirminėmis infekcijomis ir 4 su pasibaigusiomis infekcijomis.

*** 6 mėginiai buvo su pirminėmis infekcijomis.

**** Iš 15 mėginių, 10 buvo su pirminėmis infekcijomis ir 5 su pasibaigusiomis infekcijomis.

Palyginimas su klinicine mėginio būkle

Tyrimas buvo atliekamas norint nustatyti atitikimą tarp EBV būklės nustatytos išorinėje vietoje ir visuotinės būklės, gautos naudojant 3 VIDAS EBV VCA/EA IgG, VIDAS VCA IgM ir VIDAS EBNA IgG reagentus. EBV klinikinė būklė ir visuotinė 3 VIDAS tyrimų interpretacija buvo nustatyta ekspertų, atsižvelgiant į paciento medicinos istoriją ir serologinę raidą.

		Referentinis serologinis statusas				
		Seroneigiami	Visos pirminės infekcijos		Visos pasibaigusios infekcijos	
			Ankstyvos fazės pradinės infekcijos	Ūmios pradinės infekcijos	Pasibaigusios infekcijos	Izoliuotas VCA IgG
VIDAS Serologinis statusas	Seroneigiami	159	6	3	0	0
	Pirminės infekcijos (ankstyvos fazės ir ūmios)	4	37	120	0	5
	Pasibaigusios infekcijos	0	0	0	224	4
	Izoliuotas VCA/EA IgG	0	5	3	7	12
	Izoliuotas EBNA IgG	2	0	0	5	0
	Nenustatytas	1	5	10	8	1
	Viso*	165	48	126	236	21
Bendras atitikimas %*		92.62%				

*Nenustatytas EBV statusas (4.03%) nebuvo įtrauktas į apskaičiavimus.

KRYŽMINIS REAKTYVUMAS IR RELEVANTINIAI INTERFERENTAI

Kryžminis reaktyvumas

Kryžminio reaktyvumo sąvoka yra tyrimas neigiamų tyrimui ir teigiamų mėginių potencialiai interferuojančiai patologijai. Šių potencialiai interferuojančių patologijų buvimas neturi keisti tyrimo interpretacijos. Abejotini rezultatai nebuvo įtraukti į apskaičiavimus.

136 tirtų mėginių rezultatai yra pateikiami šioje lentelėje:

Patologija	Tirtų serumų skaičius	Kryžminių reakcijų skaičius	Abejotinų rezultatų skaičius
Toxo IgG	10	0	1
CMV IgG	12	0	0
VZVG	30	0	0
HSV IgG	7	0	0
Reumatoidinis faktorius	12	0	0
Rub IgG	7	0	0
HAMA	3	0	0
Parvo B19 IgG	17	0	0

Patologija	Tirtų serumų skaičius	Kryžminių reakcijų skaičius
HAVT	4	1
HHV6	8	0
HCV	5	0
HIV	4	0
HBsT	5	0
HBcT	5	0
HBs Ag	5	0
ANA	2	0

Iš visų tirtų mėginių, tik vienas mėginys su anti-HAV antikūnais, parodė kryžminį reaktyvumą su silpnai teigiamu indeksu (indeksas = 0.21).

Interferentai

Kryžminio reaktyvumo sąvoka yra tyrimas neigiamų tyrimui ir teigiamų mėginių potencialiai interferuojančiai patologijai. Šių potencialiai interferuojančių patologijų buvimas neturi keisti tyrimo interpretacijos.

Buvo ištirtas 124 potencialiai interferuojančios patologijos mėginiai (Toxo IgG, HBs Ag, Rub IgG, HBcT, HBsT, ANA+, HCV, ŽIV, CMV IgG, VZV IgG, HAVT, HSV IgG, FR, Parvo B19 IgG, HAMA ir ŽHV6 IgG) su anti-VCA/EA IgG antikūnais. Nepastebėta jokių pakitimų VIDAS EBV VCA/EA IgG tyrimo rezultatų interpretacijoje.

Kryžminis reaktyvumas VIDAS EBV VCA/EA IgG tyrime nebuvo pastebėtas.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras.

Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. Seigneurin JM. Infections à virus Epstein-Barr. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses, 8-070-K-10, 2001, 12 p.
2. Fafi-Kremer S., Seigneurin J-M., Morand P. La mononucléose infectieuse (MNI) "revisitée", Virologie 2007, 11 : 13-26 p.
3. H.B. Jenson, Virologic Diagnosis, Viral Monitoring, and treatment of Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis, Current Infectious Disease Reports, 2004, vol 6, p 200-207
4. R.D. Hess, Routine Epstein Barr Virus Diagnostics from the Laboratory Perspective : still challenging after 35 years, Journal of Clinical Microbiology, 2004, vol 2, n° 8, p 3381-3387.
5. K.F.Macswen and D.H.Crawford, Epstein Barr virus – recent advances, The Lancet Infectious Diseases, 2003, vol 3, p 131-140.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Symbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A

Netaikoma (pirmoji publikacija)

Korekcijos

Dokumentacijos anomalijų korekcijos

Techniniai pakeitimai

Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas

Administracinis

Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

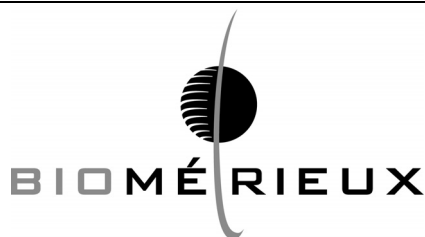
Pastaba:

Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	14120E	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	14120F	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/05	14120G	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ)

BIOMERIEUX, mėlynasis logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, artimiausiu metu registruotini ir/ar registruoti prekybiniai ženklai, priklausantys bioMérieux, vienam iš filialų ar kompanijų.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS® EBV VCA IgM (VCAM)

VIDAS EBV VCA IgM is an automated test for use on the VIDAS family instruments, for the qualitative detection of anti-VCA IgM in human serum using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Detection of these specific antibodies is an aid in diagnosing infectious mononucleosis (IM).

SUMMARY AND EXPLANATION

The Epstein-Barr virus (EBV, also called Human Herpesvirus 4 (HHV4)) is ubiquitous. It was identified as the cause of infectious mononucleosis (IM). In adolescents and young adults, EBV may cause an infectious mononucleosis still known as Pfeiffer's disease (glandular fever) or the kissing disease. In young children, EBV infection is usually asymptomatic.

Transmission mainly occurs through contact with saliva. Indeed, EBV replication takes place in the oropharyngeal epithelial cells where the virions are released into the saliva by infected B-lymphocytes.

Over 95 % of the adult population carries the virus. As this virus generally remains dormant in the body, reactivation may occur, particularly in immunocompromised patients. While reactivated EBV infection is asymptomatic in immunocompetent carriers, it is however associated with clinical disorders and a high morbidity and mortality rate in immunocompromised patients.

Diagnosis of IM is mainly based on clinical symptoms (sore throat, fever and swollen lymph glands). Serology is used to confirm diagnosis of IM and exclude illnesses such as lymphoma and leukemia, which may produce IM-type symptoms. Mononucleosis syndrome may also be caused by other pathogenic agents (cytomegalovirus, HHV6, adenovirus, rubella virus, mumps virus, HIV, hepatitis A virus, influenza A & B viruses and toxoplasma gondii).

Serologic diagnosis of IM includes non-specific tests such as the detection of heterophile antibodies, as well as EBV-specific tests. The latter tests are based on the detection of antibodies produced by the host in response to different antigens produced during the viral cycle. During the lytic phase, EBV early antigens (EA) are produced, then viral capsid antigens (VCA) are expressed at the same time as the viral genome. During the latent cycle, Epstein-Barr nuclear antigens (EBNA) are synthesized.

When IM occurs, heterophile antibodies appear in 60-80% of cases, anti-EA antibodies in 70-80% of cases, anti-VCA IgM antibodies in 100% of cases and anti-VCA IgG antibodies in nearly 100% of cases.

During the convalescent phase, anti-VCA IgG antibodies persist and approximately 95% of patients produce anti-EBNA IgG antibodies (1, 2, 3, 4, 5).

The VIDAS tests enable the detection of anti-EA IgG and anti-VCA IgG antibodies (VIDAS EBV VCA/EA IgG), anti-VCA IgM antibodies (VIDAS EBV VCA IgM) and anti-EBNA IgG antibodies (VIDAS EBV EBNA IgG). Global interpretation of these assays is useful in diagnosing IM and establishing the stage of infection (see the following table):

VIDAS EBV VCA IgM	VIDAS EBV VCA/EA IgG	VIDAS EBV EBNA IgG	Interpretation of VIDAS EBV (combined results)
-	-	-	Seronegative subject (non infected)
+	-	-	Early-phase IM / primary infection (2)
+	+	-	Acute IM / primary infection
-	+	+	Seropositive subject (past infection)
-	-	+	Isolated EBNA IgG (2)
-	+	-	Isolated VCA/EA IgG (2)
+	+	+	Indeterminate profile (2)

-: Absence of antibodies.

+: Presence of antibodies.

(1) in rare cases, anti-EBNA antibodies are not detected in seropositive subjects who have had a past infection.

(2) to be checked using a specimen collected 1 to 2 weeks later.

PRINCIPLE

The assay principle combines an enzyme immunoassay method by immunocapture with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR®) serves as the solid phase as well as the pipetting device. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strip.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After a sample dilution step, the IgM are captured by the monoclonal Ab coating the interior of the SPR. The anti-EBV IgM are specifically detected by the VCA P18 antigen conjugated with alkaline phosphatase.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antibody present in the sample. At the end of the assay, an index is automatically calculated by the instrument in relation to the S1 standard stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (30 TESTS):

30 EBV VCA IgM Strips	STR	Ready-to-use.
30 EBV VCA IgM SPRs 1 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with mouse monoclonal anti-human IgM antibody.
EBV VCA IgM Positive Control 1 x 0.6 ml (liquid)	C1	Ready-to-use. Pool of human plasma* containing anti-VCA IgM in a phosphate buffer Ph 7.4 + 50 g/l BSA + preservatives. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1 (+) Test Value Range").
Negative control 1 x 1.9 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin + preservatives. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C2 (-) Test Value Range").
EBV VCA IgM Standard 1 x 1.6 ml (liquid)	S1	Ready-to-use. Pool of human plasma* containing anti-VCA IgM dans in a phosphate buffer pH 7.4 + 50 g/l BSA + preservatives.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package Insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs surface antigen, and antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR® is coated during production with anti-human antibody (mouse). Each SPR is identified by the code VCAM. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the VCAM strip

1	Sample well.
2	Sample diluent: Phosphate buffered saline + Tween 20 0.05% pH 7.2 + 5 g/l BSA + preservatives (300 µl).
3 - 4 - 5 - 7 - 8	Wash buffer: TRIS buffered saline + Tween 20 0.25% pH 7.8 + preservatives (600 µl).
6	Conjugate: alkaline phosphatase-labeled VCA P18 antigen in Phosphate buffered saline pH 6.1 + Protein stabilizers + preservatives (400 µl).
9	Empty well.
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l sodium azide (300 µl).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard statement**

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 µl.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- VIDAS family instrument.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - Latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPR®s if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the box label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS EBV VCA IgM kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **To maintain stability of the remaining SPRs, carefully reseal the pouch after use with the desiccant inside and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection

Human serum (glass or plastic plain tube with coagulation activator and tube with separation gel).

It is recommended that each laboratory validate the type of collection tube used.

Sample-related interference

None of the following factors have been found to significantly influence this assay.

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin: 0 to 300 µmol/l (monomer)),
- lipemia (after spiking samples with lipids: 0 to 30 mg/ml equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: 0 to 607 µmol/l).

However, it is recommended not to use samples that are clearly hemolyzed, lipemic or icteric and, if possible, to collect a new sample.

Specimen preparation:

Plain tubes: wait for samples to coagulate and **centrifuge** according to the tube manufacturer's recommendations to eliminate fibrin.

Other tubes: follow the tube manufacturer's recommendations for use.

Frozen-stored samples: after thawing, these samples must be homogenized before analysis.

Sample stability

Samples can be stored in stoppered tubes for up to 2 days at 2-8°C; if longer storage is required, freeze the sera at -25 ± 6°C.

Do not exceed one freeze/thaw cycle.

A study performed on samples frozen for 6 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTION FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading VIDAS® Protocole Test Change (PTC) protocol data and MLE data

When using the assay for the first time:

With the external instrument barcode reader,

1. Scan the PTC barcode(s) at the end of the package insert. or downloadable from www.biomerieux.com/techlib. This reading allows VIDAS® PTC protocol data to be transferred to the instrument software for its update.

2. Scan the MLE data on the box label.

Note: If the MLE data have been read before the VIDAS® PTC protocol, read the MLE data again.

When opening a new lot of reagents:

Enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed before initiating the tests, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 28 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested in **triplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "VCAM" strip and "VCAM" SPR® for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "VCAM" code on the instrument. The standard must be identified by "S1" and tested in **triplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
4. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum separated from the pellet).
5. **For this test, the standard, control, and sample test portion is 100 µl.**
5. Insert the "VCAM" SPRs and "VCAM" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
6. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
7. Restopper the vials and return them to 2–8°C after pipetting.
8. The results are obtained within approximately **40 minutes**. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
9. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate biohazard receptacle.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The RFV obtained for each sample is interpreted by the VIDAS system as follows:

Test value = patient RFV / standard RFV

This test value and the interpreted result are also included on the result sheet. The test value is interpreted as follows:

Test Value (TV)	Interpretation
≤ 0.11	Negative
$0.12 \leq VT \leq 0.18$	Equivocal
≥ 0.19	Positive

IM diagnosis is based on the biological interpretation of test results taking into account the patient's history and the results of the other VIDAS EBV assays (VIDAS EBV EBNA IgG ref. 30 235 and VIDAS EBV VCA/EA IgG ref. 30 236). Please refer to the VIDAS interpretation table on page 1 of this package insert.

It is advisable to check the equivocal results using a second specimen collected one or two weeks later.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS EBV VCA IgM kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note:

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- Biological interpretation for the diagnosis of IM must be based on at least the results of the 3 VIDAS EBV assays (VIDAS EBV EBNA IgG ref. 30 235, VIDAS EBV VCA/EA IgG ref. 30 236 and VIDAS EBV VCA IgM ref. 30 237).
- In the presence of negative results for the 3 VIDAS markers and suspicion of IM, collect a second specimen one or two weeks later and test the two samples simultaneously.
- A positive VCA/EA IgG result (non-differentiated result) does not rule out a recent EBV infection if a negative result is obtained for the VCA IgM and EBNA IgG markers.
- In some cases, at the end of the acute phase of IM (transitional phase), isolated anti-VCA/EA IgG antibodies may be encountered (drop in anti-VCA IgM antibodies and late appearance of anti-EBNA IgG antibodies).
- In rare cases, anti-EBNA antibodies are not detected in seropositive subjects who have a past infection.
- In rare cases, only anti-EBNA antibodies are detected:
 - in seropositive subjects who have a past infection,
 - in children under 6 months of age (passive transfer of maternal anti-EBNA IgG antibodies),
 - in transfused subjects.
- The performance characteristics of this test have not been established for use within the scope of blood donation.
- The performance characteristics of this test have not been established for immunocompromised or immunosuppressed patients (transplanted patients).
- Certain negative samples may have a test value < 0.
- Cross reactivity or interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components or against other potentially interfering pathologies (particularly with IgM directed against CMV and Parvovirus B19). For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history and the results of the two other tests: VIDAS EBV VCA/EA IgG and VIDAS EBV EBNA IgG.

USUAL VALUES

In Western countries, only 5% of adults are never affected by an EBV infection; thus, the antibodies characteristic of a past infection (EBNA and VCA IgG) reach a prevalence rate of 95%.

PERFORMANCE

Performance studies conducted using the VIDAS EBV VCA IgM assay gave the following results:

Precision

Three samples were tested for 10 days in 2 runs per day and 2 replicates per run, with 2 reagent lots on 3 instruments (N = 240).

Mean index of negative sample varies between 0.00 and 0.01.

The **intra-run precision** (repeatability) and the **total precision intra-lot** (intra-run, inter-run, inter-day, inter-calibration, inter-instrument reproducibility) were calculated using this protocol, based on the recommendations of the **NCCLS/CLSI document EP5 A2, volume 24 number 25**.

Lot 1		Repeatability		Inter-run precision		Inter-instrument precision		Total precision	
Sample	Index	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
Sample 1	0.19	0.01	4.5	0.00	0.5	0.02	8.2	0.02	9.6
Sample 2	0.94	0.02	2.6	0.01	1.0	0.00	0.0	0.04	3.8

Lot 2		Repeatability		Inter-run precision		Inter-instrument precision		Total precision	
Sample	Index	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
Sample 1	0.24	0.01	5.0	0.01	3.7	0.02	9.4	0.03	11.5
Sample 2	1.23	0.03	2.7	0.03	2.5	0.00	0.0	0.06	5.2

Sensitivity - Specificity

Specificity and sensitivity performance was established on 2 lots of VIDAS EBV VCA IgM reagent using 621 samples characterized for their EBV status (past infections, early-phase and acute primary infections, seronegatives) and including 93 fresh serum samples. The status of the samples was determined on the basis of the available demographic (patient age) and clinical data, and the results obtained with the routine methods used by the expert site's laboratory.

	Reference population for sensitivity calculation	Reference populations for specificity calculation
VIDAS EBV VCA IgM	Early-phase and acute primary infections	Past infections and seronegatives

The following consolidated results were obtained:

The 17 samples were found to be equivocal with the VIDAS EBV VCA IgM assay and were not taken into account for the sensitivity and specificity calculations.

	Sensitivity			Specificity		
Population	Total sensitivity	Early-phase primary infections**	Acute primary infections	Total specificity	Past infections	Seronegatives
Positive	160	38	122	9	6	3
Negative	21***	13	8	414	252	162
Total*	181	51	130	423	258	165
%*	88.40	74.51	93.85	97.87	97.67	98.18
95% confidence interval	82.79 – 92.35	60.84 – 84.61	88.18 – 96.89	95.96 – 98.89	94.95 – 98.95	94.69 – 99.39

* Equivocal results were not taken into account for the calculations.

**Early-phase primary infections are characterized by the presence of anti-VCA IgM and the absence of anti-VCA IgG with the EIA tests routinely used by the expert site.

*** Among the 21 samples, additional samples were collected from 6 patients: for 4 of them, the second sample led to the detection of anti-VCA IgM antibodies. The other 2 samples, collected 2 to 4 days after the first one, remained negative.

Concordance study

Comparison with another EIA method

A study was performed at an external site, using 526 samples, to establish the concordance between the VIDAS EBV VCA IgM kit and another automated EIA method.

The discordances between the 2 methods were analyzed on the basis of the EBV clinical status of the samples defined by the expert site, taking into consideration the patient's history and serological evolution.

		VCA IgM EIA			Total
		Positive	Equivocal	Negative	
VIDAS EBV VCA IgM	Positive	153	10	2****	165
	Equivocal	3	6	5	14**
	Negative	13***	18	316	347
	Total*	166	28	318	
Concordance % *		96.90%			

*The equivocal results for each of the VIDAS and EIA assays were not taken into account for the calculations.

** Among the 14 samples, 1 is seronegative, 8 are primary infections and 5 are past infections.

*** Among the 13 samples, 2 are seronegatives, 9 are primary infections and 2 are past infections.

**** Among the 2 samples, 1 is seronegative and 1 is a primary infection.

Comparison with the clinical status of the sample

A study was performed to establish the concordance between the EBV status defined by the expert site, and the global status obtained using the results of the 3 VIDAS EBV VCA/EA IgG, VIDAS VCA IgM and VIDAS EBNA IgG reagents. The clinical status of EBV and the global interpretations of the 3 VIDAS assays were defined by the expert site taking into consideration the patient's history and serological evolution.

		Reference serological status				
		Seronegatives	Total primary infections		Total past infections	
			Early-phase primary infections	Acute primary infections	Past infections	Isolated VCA IgG
VIDAS serological status	Seronegatives	159	6	3	0	0
	Primary infections (early-phase and acute)	4	37	120	0	5
	Past infections	0	0	0	224	4
	Isolated VCA/EA IgG	0	5	3	7	12
	Isolated EBNA IgG	2	0	0	5	0
	Indeterminate	1	5	10	8	1
	Total*	165	48	126	236	21
Total concordance %*		92.62%				

*The indeterminate EBV statuses (4.03%) were not taken into account for the calculations.

CROSS REACTIVITY AND INTERFERENCES

Cross-reactivity

The notion of cross-reactivity is the study of samples which are negative for the test to be evaluated and positive for the potentially interfering pathology. The presence of these potentially interfering pathologies must not modify the interpretation of the evaluated test. The equivocal results were not taken into account for the analysis.

The results of the 181 samples tested are presented in the following table:

Pathology	Number of sera tested	Number of cross reactions	Number of equivocal results
Toxo IgM	11	1	3
CMV IgM	8	2	3
VZV IgM	10	0	1
HSV IgM	18	1	0
Rheumatoid factor	12	1	0
Rub IgM	7	1	1
Parvo B19 IgM	11	0	1
Anti Pal	10	1	1

Pathology	Number of sera tested	Number of cross reactions	Number of equivocal results
HAV IgM	9	2	1
HHV6 IgM	9	0	0
HCV	12	1	0
HIV	8	0	0
HBc IgM	14	0	0
HBs Ag	23	1	0
ANA	19	0	1

Cross-reactivity may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components or against other potentially interfering pathologies. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history and the results of the two other tests: VIDAS EBV VCA/EA IgG and VIDAS EBV EBNA IgG.

Interferences

The notion of interference is the study of samples which are positive for the test to be evaluated and positive for the potentially interfering pathology. The presence of these potentially interfering pathologies must not modify the interpretation of the evaluated test.

115 samples of potentially interfering pathologies (Toxo IgM, HBs Ag, Rub IgM, HBc IgM, ANA+, HCV, HIV, CMV IgM, VZV IgM, HAV IgM, HSV IgM, FR, Parvo B19 IgM, anti-Pal and HHV6 IgM) with anti-VCA IgM antibodies, were tested. There was no change in the interpretation of the VIDAS EBV VCA IgM test results.

No interference was observed with the VIDAS EBV VCA IgM test.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents, as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. Seigneurin JM. Infections à virus Epstein-Barr . Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses, 8-070-K-10, 2001, 12 p.
2. Fafi-Kremer S., Seigneurin J-M., Morand P. La mononucléose infectieuse (MNI) "revisitée", Virologie 2007, 11: 13-26 p.
3. H.B. Jenson, Virologic Diagnosis, Viral Monitoring, and treatment of Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis, Current Infectious Disease Reports, 2004, vol 6, p 200-207.
4. R.D. Hess, Routine Epstein Barr Virus Diagnostics from the Laboratory Perspective: still challenging after 35 years, Journal of Clinical Microbiology, 2004, vol 2, n° 8, p 3381-3387.
5. K.F.Macsween and D.H.Crawford, Epstein Barr virus – recent advances, The Lancet Infectious Diseases, 2003, vol 3, p 131-140.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	14125G	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	14125H	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2016/05	14125I	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS)

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS® EBV VCA IgM (VCAM)

VIDAS EBV VCA IgM yra automatizuotas tyrimas, naudojamas su VIDAS šeimos instrumentais, kokybiniam anti-VCA IgM nustatymui žmogaus serume, naudojant ELFA technologiją (imunofermentinis fluorescencinis metodas). Šių specifinių antikūnų aptikimas yra pagalbinė priemonė infekcinės mononukleozės (IM) nustatyme.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Epstein-Barr virusas (EBV, taip pat vadinamas Žmogaus Herpes virusu 4 (ŽHV4)) yra "visur esantis". Jis yra nustatytas kaip infekcinės mononukleozės (IM) sukėlėjas. Paaugliams ir jauniems žmonėms EBV gali sukelti infekcinę mononukleozę, taip pat žinomą kaip *Pfeiffer* susirgimas (liaukų uždegimas) ar bučinių liga. Mažiesiems vaikams EBV infekcija paprastai būna besimptomatinė.

Pernešimas dažniausiai vyksta esant kontaktui su seilėmis. Paprastai EBV replikacija vyksta orofaringinio epitelio ląstelėse, kur virionai patenka į seiles per infekuotus B-limfocitus.

Daugiau nei 95 % suaugusiųjų populiacijos yra viruso nešiotojai. Kadangi šis virusas kūne paprastai yra miegantis, gali įvykti reaktyvacija, ypačingai pacientams su silpna imunine sistema. Kadangi atsinaujinusi EBV infekcija yra besimptomatinė šio viruso nešiotojams su stipria imunine sistema, ji yra siejama su klinikiniais sutrikimais ir dideliu sergamumu bei mirštamumu pacientams su silpna imunine sistema.

IM diagnozė remiasi klinikiniais simptomais (skaudanti gerkle, karščiavimas ir padidėję limfiniai mazgai). Serologija yra naudojama patvirtinti IM diagnozei ir atvesti tokias ligas kaip limfoma ir leukemija, prie kurių gali atsirasti IM tipo simptomai. Mononukleozės sindromas gali būti sukeltas ir kitų patogeninių agentų (citomegalo viruso, ŽHV6, adenoviruso, raudonukės viruso, kiaulytės viruso, ŽIV, hepatito A viruso, gripo A ir B virusų bei Toksoplazmos gondii).

Serologinė IM diagnozė įtraukia nespecifinius tyrimus, tokius kaip heterofilinių antikūnų aptikimas bei EBV-specifinius tyrimus. Pastarieji tyrimai yra grindžiami aptikimu antikūnų, gaminamų šeimininko, kaip atsakas skirtingiems antigenams, besigaminantiems viruso ciklo metu. Litinės fazės metu, yra gaminami EBV ankstyvieji antigenai (EA), o virusiniai kapsidiniai antigenai (VCA) yra ekspresuojami tuo pat metu kaip ir virusinis genomas. Latentinio ciklo metu yra sintetiniai Epstein-Barr nukleariniai antigenai (EBNA).

Atsiradus IM, heterofiliniai antikūnai yra aptinkami 60-80% atvejų, anti-EA antikūnai - 70-80% atvejų, anti-VCA IgM antikūnai - 100% atvejų, o anti-VCA IgG antikūnai – apie 100% atvejų.

Sveikimo fazės metu, anti-VCA IgG antikūnai išlieka ir apie 95% pacientų yra gaminami anti-EBNA IgG antikūnai (1, 2, 3, 4, 5).

VIDAS tyrimai leidžia aptikti anti-EA IgG ir anti-VCA IgG antikūnus (VIDAS EBV VCA/EA IgG), anti-VCA IgM antikūnus (VIDAS EBV VCA IgM) ir anti-EBNA IgG antikūnus (VIDAS EBV EBNA IgG). Šių tyrimų visuotinis interpretavimas yra naudingas diagnozuojant IM ir nustatant infekcijos stadiją (žr. šią lentelę):

VIDAS EBV VCA IgM	VIDAS EBV VCA/EA IgG	VIDAS EBV EBNA IgG	VIDAS EBV interpretavimas (jungtiniai rezultatai)
-	-	-	Seroneigiamas subjektas (neinfekuotas)
+	-	-	Ankstyva IM fazė/ pradinė infekcija (2)
+	+	-	Ūmi IM / pradinė infekcija
-	+	+	Seroteigiamas subjektas (pasibaigusi infekcija)
-	-	+	Izoliuotas EBNA IgG (2)
-	+	-	Izoliuotas VCA/EA IgG (2)
+	+	+	Nenustatytas profilis (2)

- : Antikūnų nėra.

+ : Antikūnai yra.

(1) retais atvejais, anti-EBNA antikūnai nėra aptinkami seroteigiamuose pacientuose, kurie jau yra turėję pasibaigusią infekciją.

(2) reikia tikrinti naudojant mėginį, surinktą po 1-2 savaičių.

PRINCIPAS

Tyrimo principas yra pagrįstas imunofermentiniu metodu surišant, su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR®) tarnauja kaip kietą fazę reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po mėginio skiedimo etapo IgM yra pritraukiamas prie monokloninio Ab, kuris yra padengtas ant vidinės SPR pusės. Anti-EBV IgM yra specifiskai aptinkamas VCA P18 antigeno, konjuguoto su šarmine fosfataze.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas antikūnų, esančių mėginyje, koncentracijai. Tyrimo pabaigoje rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento, priklausomai nuo atmintyje saugomo standarto S1, ir tada atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ):

30 EBV VCA IgM strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
30 EBV VCA IgM SPR antgalių 1 x 30	SPR	Paruošta naudoti. Vidinės SPR antgalių pusės yra padengtos pelės monokloniniais anti-žmogaus IgM antikūnais.
EBV VCA IgM teigiama kontrolė 1 x 0.6 ml (skysta)	C1	Paruošta naudoti. Žmogaus plazmos mišinys*, turintis anti-VCA IgM fosfatiniame buferyje pH 7.4 + 50 g/l BSA + konservantai. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklovimo intervalas ("Control C1 (+) Test Value Range").
Neigiama kontrolė 1 x 1,9 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklovimo intervalas ("Control C2 (-) Test Value Range").
EBV VCA IgM standartas 1 x 1.6 ml (skystas)	S1	Paruošta naudoti. Žmogaus plazmos mišinys*, turintis anti-VCA IgM fosfatiniame buferyje pH 7.4 + 50 g/l BSA + konservantai.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiaus antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR antgalis

SPR® antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas anti-žmogaus antikūnais (pelės). Kiekvienas SPR yra identifikuotas VCAM kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR skaičių ir **sandariai ją uždarykite po atidarymo**.

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra brūkšninis kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti mėginį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Centrinės strypelio sekcijos šulinėliuose yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

VCAM strypelio aprašymas

1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: fosfato buferio tirpalas + Tween 20 0.05% pH 7.2 + 5 g/l BSA + konservantai (300 µl).
3 - 4 - 5 - 7 - 8	Plovimo buferis: TRIS buferio tirpalas + Tween 20 0.25% pH 7.8 + konservantai (600 µl).
6	Konjugatas: šarmine fosfataze žymėtas VCA P18 antigenas Fosfato buferio tirpale pH 6.1 + baltymo stabilizatoriai + konservantai (400 µl).
9	Tuščias šulinėlis.
10	Nuskaitymo kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfatas (0.6 mmol/l) + dietanolaminas (DEA*) (0.62 mol/l ar 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l natrio azidas (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS IR VIENKARTINĖS PRIEMONĖS

- Pipetės su vienkartiniais antgaliais dozuoti po 100 µl.
- Vienkartinės pirštinės be talko.
- Kitas specifines priemones ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite **Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas**).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR® antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas dėžutės etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar vienkartinių priemonių) iš skirtingų gaminių serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia neteisingus kai kurių imunofermentinių tyrimų rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengtų šių junginių susikaupimo.
- Substratas 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukensminus skystu detergentu arba buitėje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žiūrėkite Naudotojo Instrukciją dėl išsipyliusių skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentai turi būti reguliariai valomi ir nukensminami (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS EBV VCA IgM rinkinį prie 2-8°C.
- **Neužšaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės. Dėl ypatingų laikymo sąlygų žiūrėkite rinkinio sudėties lentelę.

MĖGINIAI**Mėginio tipas ir surinkimas**

Žmogaus serumas (stiklinis ar plastikinis paprastas mėgintuvėlis su koaguliacijos aktyvatoriumi ir mėgintuvėlis su atskyrimo geliu).

Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą.

Su mėginiu susijusi interferencija

Nebuvo nustatyta, kad kuris nors iš žemiau išvardytų faktorių žymiai įtakotų šį tyrimą.

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo: nuo 0 iki 300 µmol/l (monomeras)),
- lipemija (po lipidų įdėjimo: nuo 0 iki 30 mg/ml trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo: nuo 0 iki 607 µmol/l).

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių, kurie yra aiškiai hemolizuoti, lipemiški ar ikteriški ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius.

Mėginio paruošimas:

Paprasti mėgintuvėliai: palaukite, kol mėginys koaguluos ir **centrifuguokite** laikantis mėgintuvėlio gamintojo rekomendacijų fibrino eliminavimui.

Kiti mėgintuvėliai: laikykitės mėgintuvėlių gamintojo naudojimo rekomendacijų.

Užšaldyti mėginiai: po atšildymo šie mėginiai turi būti homogenizuoti prieš tyrimą.

Mėginio stabilumas

Mėginiai gali būti laikomi prie 2-8°C temperatūros užkimštuose mėgintuvėliuose iki 2 dienų; jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, užšaldykite prie -25 ± 6 C.

Neviršykite 1 užšaldymo/atšildymo ciklą.

Tyrimai, atlikti su 6 mėnesius užšaldytais mėginiais, parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

VIDAS® Protocole Test Change (PTC) protokolo duomenų ir MLE duomenų nuskaitymas

Tyrimą naudojant pirmą kartą:

Su išoriniu brūkšnių kodų skaitytuvu,

1. Nuskenaukite PTC brūkšninį kodą (-us), esantį pakuotės pabaigoje arba parsisiunčiamus iš www.biomerieux.com/techlib. Šis nuskaitymas perkelia VIDAS® PTC protokolo duomenis į instrument programinę įrangą atnaujinimui.

2. Nuskenaukite MLE duomenis, esančius ant dėžutės etiketės.

Pastaba: jei MLE duomenys buvo nuskaityti prieš VIDAS® PTC protokolą, dar kartą nuskaitykite MLE duomenis.

Atidarius naują reagentų partiją:

Įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama **prieš pradedant tyrimus**, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 28 dienas. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **trigubu pakartojimu** (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną "VCAM" strypelį ir vieną "VCAM" SPR® antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.
3. Tyrimas instrumente yra identifikuojamas "VCAM" kodu. Standartas turi būti identifiukuotas kaip "S1", ir tiriamas **trigubu** pakartojimu. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tiriama, ji turi būti identifiukuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tiriama, ji turi būti identifiukuota kaip "C2".
4. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite vortekso tipo kratiklius (serumas atskirtas nuo ląstelių).
5. Šiam tyrimui, standarto, kontrolės ir mėginio tiriamoji dalis yra 100µl.
6. Įstatykite SPR "VCAM" antgalius ir "VCAM" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
7. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta Naudojimo Instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
8. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į 2–8°C temperatūrą.
9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 40 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas. Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Gauta RFV kiekvienam mėginiui yra interpretuojama VIDAS sistemoje šitaip:

Tyrimo vertė = paciento RFV / standartinė RFV

Ši tyrimo vertė ir interpretuotas rezultatas taip pat yra įtraukiami į rezultatų lapą. Tyrimo vertė yra interpretuojama šitaip:

Tyrimo vertė (TV)	Interpretacija
≤ 0.11	Neigiama
0.12 ≤ VT ≤ 0.18	Abejotina
≥ 0.19	Teigiama

IM diagnozė remiasi tyrimo rezultatų biologine interpretacija, atsižvelgiant į paciento medicininę istoriją bei kitų VIDAS EBV tyrimų rezultatus (VIDAS EBV EBNA IgG Kat.Nr. 30 235 ir VIDAS EBV VCA/EA IgG Kat.Nr. 30 236). Žiūrėkite į VIDAS interpretavimo lentelę šio pakuotės aprašymo 1 lape.

Abejotinus rezultatus patariama patikrinti surinkus mėginį po vienos ar dviejų savaičių.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kiekviename VIDAS EBV VCA IgM rinkinyje yra viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuo pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinos vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

- IM diagnozės biologinis interpretavimas turi remtis mažiausiai 3 VIDAS EBV tyrimų rezultatais (VIDAS EBV EBNA IgG Kat.Nr. 30 235, VIDAS EBV VCA/EA IgG Kat.Nr. 30 236 ir VIDAS EBV VCA IgM Kat.Nr. 30 237).
- Jei 3 VIDAS žymenų rezultatai yra neigiami įtariant IM, surinkite antrą mėginį po vienos ar dviejų savaitių ir du mėginius tirkite vienu metu.
- Teigiamas VCA/EA IgG rezultatas (nediferencijuotas rezultatas) neatmeta neseniai buvusios EBV infekcijos galimybės, jei VCA IgM ir EBNA IgG žymenims yra gaunamas neigiamas rezultatas
- Kai kuriais atvejais, IM ūmios fazės pabaigoje (pereinamasis periodas), gali būti aptinkami izoliuoti anti-VCA/EA IgG antikūnai (anti-VCA IgM antikūnų sumažėjimas ir vėlyvas anti-EBNA IgG antikūnų atsiradimas).
- Retais atvejais, anti-EBNA antikūnai nėra aptinkami serotegiamuose subjektuose, kurie jau buvo turėję pasibaigusią infekciją.

- Retais atvejais, yra aptinkami tik anti-EBNA antikūnai:
 - Serotegiamuose subjektuose, kuriems infekcija yra pasibaigusi,
 - Vaikams iki 6 mėnesių amžiaus (pasivys motinos anti-EBNA IgG antikūnų pernešimas),
 - Subjektams, kuriems buvo atliktas kraujo perpylimas.
- Šio tyrimo atlikimo charakteristika nebuvo patvirtinta naudojimui su kraujo donorystės sritimi.
- Šio tyrimo atlikimo charakteristika nebuvo patvirtinta naudojimui su susilpnėjusios imuninės sistemos pacientais (po transplantacijų).
- Tam tikri neigiami mėginiai gali turėti tyrimo vertę < 0.
- Gali būti pastebimas kryžminis reaktyvumas arba interferencija su serumais, turinčiais antikūnų prieš reagento komponentus ar prieš kitas potencialiai interferuojančias patologijas (ypatingai su IgM, nukreiptu prieš CMV ir Parvovirusą B19). Todėl tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento medicininę istoriją ir kitų dviejų tyrimų rezultatus: VIDAS EBV VCA/EA IgG ir VIDAS EBV EBNA IgG.

ĮPRASTOS VERTĖS

Vakarų šalyse tik 5% suaugusiųjų niekada neturėjo EBV infekcijos; nors pasibaigusios infekcijos antikūnų (EBNA ir VCA IgG) charakteristika siekia 95%.

ATLIKIMAS

Atlikus veiksingumo tyrimą, naudojant VIDAS EBV VCA IgM tyrimą, gauti šie rezultatai:

Tikslumas

Dešimt dienų buvo tirti trys mėginiai dvigubu pakartojimu, 2 serijomis per dieną, su 2 reagentų serijomis trimis instrumentais (N = 240).

Vidutinis neigiamo mėginio indeksas yra tarp 0.00 ir 0.01.

Tikslumas to paties tyrimo ribose (atkartojamumas) ir **tarp skirtingų serijų** (atkuriamumas toje pačioje serijoje, tarp skirtingų serijų, tarp skirtingų dienų, skirtingų kalibravimų, skirtingų instrumentų) buvo apskaičiuotas naudojant šį protokolą, remiantis **NCCLS/CLSI dokumento EP5 A2, tomas 24 numeris 25** rekomendacijomis.

Serija 1		Atkartojamumas		Tikslumas tarp skirtingų serijų		Tikslumas tarp skirtingų instrumentų		Viso	
Mėginys	Indeksas	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)
Mėginys 1	0.19	0.01	4.5	0.00	0.5	0.02	8.2	0.02	9.6
Mėginys 2	0.94	0.02	2.6	0.01	1.0	0.00	0.0	0.04	3.8

Serija 2		Atkartojamumas		Tikslumas tarp skirtingų serijų		Tikslumas tarp skirtingų instrumentų		Viso	
Mėginys	Indeksas	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)
Mėginys 1	0.24	0.01	5.0	0.01	3.7	0.02	9.4	0.03	11.5
Mėginys 2	1.23	0.03	2.7	0.03	2.5	0.00	0.0	0.06	5.2

Jautrumas - specifiškumas

Specifiškumas ir jautrumas buvo nustatomi su dviem VIDAS EBV VCA IgM reagento serijomis, naudojant 621 mėginius, charakterizuojamus dėl EBV statuso (pasibaigusios infekcijos, ankstyvos fazės ir ūmios pradinės infekcijos, seroneigiami), įskaitant 93 šviežius serumo mėginius. Mėginių būklė buvo nustatoma remiantis demografiniais (pacientų amžius) ir klinikiniais duomenimis bei rezultatais, gautais iš rutininių metodų, naudojamų ekspertų laboratorijoje.

	Referentinė populiacija jautrumo apskaičiavimui	Referentinė populiacija specifiškumo apskaičiavimui
VIDAS EBV VCA IgM	Ankstyvos fazės ir ūmios pradinės infekcijos	Pasibaigusios infekcijos ir seroneigiami

Gauti šie jungtiniai rezultatai:

17 mėginių buvo abejotini su VIDAS EBV VCA IgM tyrimu ir nebuvo įtraukti į jautrumo bei specifiškumo apskaičiavimus.

	Jautrumas			Specifiškumas		
Populiacija	Bendras jautrumas	Ankstyvos fazės pradinės infekcijos**	Ūmios pradinės infekcijos	Bendras specifiškumas	Pasibaigusios infekcijos	Seroneigiami
Teigiama	160	38	122	9	6	3
Neigiama	21***	13	8	414	252	162
Viso*	181	51	130	423	258	165
%*	88.40	74.51	93.85	97.87	97.67	98.18
95% pasiklivimo intervalas	82.79 – 92.35	60.84 – 84.61	88.18 – 96.89	95.96 – 98.89	94.95 – 98.95	94.69 – 99.39

* Abejotini rezultatai nebuvo įtraukti į apskaičiavimus.

** Ankstyvosios fazės pradinės infekcijos yra charakterizuojamos anti-VCA IgM buvimu ir anti-VCA IgG nebuvimu ištyrus su EIA tyrimais, rutinškai naudojamais ekspertų.

*** Tarp 21 mėginio, buvo papildomi mėginiai, surinkti iš 6 pacientų: 4 iš jų, antrame mėginyje buvo aptikti anti-VCA IgM antikūnai. Kiti 2 mėginiai, surinkti 2-4 dieną po pirmojo surinkimo, išliko neigiami.

Atitikimo tyrimasPalyginimas su kitu EIA metodu

Tyrimas buvo atliekamas išorinėje vietoje, naudojant 526 mėginius, atitikimo nustatymui tarp VIDAS EBV VCA IgM tyrimo ir kito automatizuoto EIA metodo.

Neatitikimas tarp dvejų metodų buvo analizuojamas EBV klinikinio statuso pagrindu mėginiuose, tirtuose ekspertų, atsižvelgiant į paciento istoriją ir serologinę raidą

		VCA IgM EIA			Viso
		Teigiamas	Abejotinas	Neigiamas	
VIDAS EBV VCA IgM	Teigiamas	153	10	2****	165
	Abejotinas	3	6	5	14**
	Neigiamas	13***	18	316	347
	Viso *	166	28	318	
Atitikimas % *		96.90%			

*The equivocal results for each of the VIDAS and EIA assays were not taken into account for the calculations.

** Iš 14 mėginių, 1 buvo seroneigiamas, 8 su pradinėmis infekcijomis ir 5 su pasibaigusiomis infekcijomis.

*** Iš 13 mėginių, 2 buvo seroneigiami, 9 su pradinėmis infekcijomis ir 2 su pasibaigusiomis infekcijomis.

**** Iš 2 mėginių, 1 buvo seroneigiamas ir 1 su pradine infekcija.

Palyginimas su klinicine mėginio būkle

Tyrimas buvo atliekamas norint nustatyti atitikimą tarp EBV būklės nustatytos ekspertų vietoje ir visuotinės būklės, gautos naudojant 3 VIDAS reagentus. EBV klinikinė būklė ir visuotinė 3 VIDAS tyrimų interpretacija buvo nustatyta ekspertų, atsižvelgiant į paciento medicinos istoriją ir serologinę raidą.

		Reference serological status				
		Seroneigiami	Total primary infections		Total past infections	
			Early-phase primary infections	Acute primary infections	Past infections	Isolated VCA IgG
VIDAS Serologinis statusas	Seroneigiami	159	6	3	0	0
	Pirminės infekcijos (ankstyvos fazės ir ūmios)	4	37	120	0	5
	Pasibaigusios infekcijos	0	0	0	224	4
	Izoliuotas VCA/EA IgG	0	5	3	7	12
	Izoliuotas EBNA IgG	2	0	0	5	0
	Nenustatytas	1	5	10	8	1
	Viso*	165	48	126	236	21
Bendras atitikimas %*		92.62%				

*Nenustatytas EBV statusas (4.03%) nebuvo įtrauktas į apskaičiavimus. kryžminis reaktyvumas ir relevantiniai interferentai

Kryžminis reaktyvumas

Kryžminio reaktyvumo sąvoka yra tyrimas neigiamų tyrimui ir teigiamų mėginių potencialiai interferuojančiai patologijai. Šių potencialiai interferuojančių patologijų buvimas neturi keisti tyrimo interpretacijos. Abejotini rezultatai nebuvo įtraukti į apskaičiavimus.

181 tirtų mėginių rezultatai yra pateikiami šioje lentelėje:

Patologija	Tirtų serumų skaičius	Kryžminių reakcijų skaičius	Abejotinų rezultatų skaičius
Toxo IgM	11	1	3
CMV IgM	8	2	3
VZV IgM	10	0	1
HSV IgM	18	1	0
Reumatoidinis faktorius	12	1	0
Rub IgM	7	1	1
Parvo B19 IgM	11	0	1
Anti Pal	10	1	1

Patologija	Tirtų serumų skaičius	Kryžminių reakcijų skaičius	Abejotinų rezultatų skaičius
HAV IgM	9	2	1
HHV6 IgM	9	0	0
HCV	12	1	0
HIV	8	0	0
HBc IgM	14	0	0
HBs Ag	23	1	0
ANA	19	0	1

Gali būti pastebėtas kryžminis reaktyvumas arba interferencija su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnų, nukreiptų prieš reagento komponentus ar prieš kitas potencialiai interferuojančias patologijas. Dėl šios priežasties, tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento medicininę istoriją bei kitų dviejų tyrimų rezultatus: VIDAS EBV VCA/EA IgG ir VIDAS EBV EBNA IgG.

Interferentai

Kryžminio reaktyvumo sąvoka yra tyrimas neigiamų tyrimui ir teigiamų mėginių potencialiai interferuojančiai patologijai. Šių potencialiai interferuojančių patologijų buvimas neturi keisti tyrimo interpretacijos.

Buvo iširta 115 potencialiai interferuojančios patologijos mėginių (Toxo IgM, HBs Ag, Rub IgM, HBc IGM, ANA+, HCV, HIV, CMV IgM, VZV IgM, HAV IgM, HSV IgM, FR, Parvo B19 IgM, anti-Pal ir HHV6 IgM) su anti-VCA IgM antikūnais. Nepastebėta jokių pakitimų VIDAS EBV VCA IgM tyrimo rezultatų interpretacijoje.

Kryžminis reaktyvumas VIDAS EBV VCA IgM tyrime nebuvo pastebėtas.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimtios ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. Seigneurin JM. Infections à virus Epstein-Barr . Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses, 8-070-K-10, 2001, 12 p.
2. Fafi-Kremer S., Seigneurin J-M., Morand P. La mononucléose infectieuse (MNI) "revisitée", Virologie 2007, 11 : 13-26 p.
3. H.B. Jenson, Virologic Diagnosis, Viral Monitoring, and treatment of Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis, Current Infectious Disease Reports, 2004, vol 6, p 200-207.
4. R.D. Hess, Routine Epstein Barr Virus Diagnostics from the Laboratory Perspective : still challenging after 35 years, Journal of Clinical Microbiology, 2004, vol 2, n° 8, p 3381-3387.
5. K.F.Macsween and D.H.Crawford, Epstein Barr virus – recent advances, The Lancet Infectious Diseases, 2003, vol 3, p 131-140.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	In Vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui
Pastaba:	<i>Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.</i>

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	14125G	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	14125H	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/05	14125I	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ)

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausantys prekių ženklai.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS® HBe/Anti-HBe (HBE/HBET)

IVD

VIDAS HBe/Anti-HBe is an automated qualitative test for use on the VIDAS family instruments, for the detection of the hepatitis B e-antigen (HBe Ag) or antibodies (anti-HBe) in human serum or plasma (lithium heparin, sodium citrate or EDTA) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Approximately 5% of the world population is infected by the hepatitis B virus (HBV) which causes a necroinflammatory liver disease of variable duration and severity. Chronically infected patients with active liver disease carry a high risk of developing cirrhosis or hepatocellular carcinoma. The immune response to HBV-encoded antigens is responsible both for viral clearance and for disease pathogenesis during this infection. Hepatitis B can be transmitted through sexual contact, exposure to blood products, or perinatally.

Perinatal transmission can be as high as 90% in women who are chronically infected with HBV, in highly endemic areas or in regions with no systematic testing of pregnant women. The child becomes a chronic carrier of HBs antigen in 90% of cases (1).

The C gene of the HBV viral genome can express two distinct proteins: 1) core protein (HBc Ag) which forms the nucleocapsid, 2) e non-particulate protein (HBe Ag). HBe Ag can be detected in the serum of patients with hepatitis B wild-type virus during active viral replication (2). The function of this antigen in the viral replication cycle is not clearly defined. It is not indispensable to the virus, however this antigen is a major immunological target in the clearance of the virus.

Generally, HBe Ag can be detected early in an acute HBV infection. It coincides with or follows the appearance of HBs Ag. In acute cases which evolve to recovery, HBe Ag disappears after several weeks and seroconversion to anti-HBe usually follows. For chronic HBV cases, HBe Ag can persist from several months to as long as several years, indicating on-going viral replication (2). The presence of HBe Ag in serum indicates active replication of HBV and people with HBe Ag-positive results are considered highly infectious for hepatitis B (3).

HBe Ag is used to monitor chronic hepatitis and anti-viral therapy. The objective of anti-viral therapy is to prevent the progression to liver cirrhosis. HBe Ag seroconversion to anti-HBe is generally considered as an indicator of transition to a state of viral latency accompanied by normalization of aminotransferase levels. HBe Ag seroconversion to Anti-HBe reduces the risk of developing cirrhosis and decompensated liver disease (4).

A positive result for anti-HBe in patients recovering from acute hepatitis indicates normal recovery, particularly if HBsAg and HBe Ag are no longer detectable. In an HBV carrier, a positive anti-HBe result usually indicates inactivity of the virus and low infectivity of the patient (5). However a positive anti-HBe result in the presence of a positive HBV-DNA test result can indicate active viral replication and progression of liver disease in a carrier (5).

HBV mutants, unable to secrete HBe Ag, can prevail over wild-type HBVs in patients with severe acute and chronic hepatitis B and in chronic HBs Ag carriers at the time of HBe Ag/anti-HBe seroconversion (6).

The VIDAS HBe/anti-HBe assay aids in detecting the presence of HBe antigen or anti-HBe antibody which are respectively, except for infections by mutant HBe viruses, markers for a viral replication phase or an evolution towards normalization.

PRINCIPLE

HBe Ag

The principle of the assay combines an enzyme immunoassay method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR®), serves as the solid phase as well as the pipetting device. The reagents for the assay, with the exception of the standard and controls, are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After dilution in the instrument, the sample is cycled in and out of the SPR. During this time, the HBe antigen, if present in the sample, will bind simultaneously to the specific monoclonal antibody fixed to the SPR and to another monoclonal specific antibody conjugated with biotin. Unbound components are removed by washing steps. The presence of biotin is detected by incubation with streptavidin conjugated with alkaline phosphatase. Successive washes remove unbound components. During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antigen present in the sample. At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument and then printed out.

anti-HBe antibodies

The test for anti-HBe uses the same protocol outlined above with the exception of a pre-assay sample incubation with added recombinant HBeAg. During this incubation, the recombinant HBe Ag is neutralized by antibodies of the sample, if present. The HBe Ag assay is then performed, to detect the residual free HBe Ag. The presence of antibodies in the sample will decrease the signal. If anti-HBe is not present in the sample, the added recombinant HBe Ag will be completely detected. The specific interpretation of the results for anti-HBe will be done automatically by the instrument, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS:

30 HBE strips	STR	Ready-to-use.
30 HBE SPRs 1 x 30	SPR®	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with mouse monoclonal anti-HBe Ab.
HBe Ag positive control 1 x 1.5 ml (liquid)	C1	Ready-to-use. Stable protein base overloaded with recombinant HBe Ag + 0.9 g/l sodium azide. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1 (+)Test Value Range").
Negative control 1 x 1.9 mL (liquid)	C2	Ready-to-use negative control for both the HBe Ag and Anti-HBe assays. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin + preservatives.
Anti-HBe positive control 1 x 1.5 ml (liquid)	C3	Ready-to-use. Stable protein base overloaded with mouse monoclonal anti-HBe Ab + 0.9 g/l sodium azide. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C3 (+)Test Value Range").
HBe Ag standard 4 x 1 ml (lyophilized)	S1	Stable protein base overloaded with recombinant HBe Ag + protein stabilizers. Dilute the contents of a vial with 1 ml of standard diluent to reconstitute the standard. Store at 2-8°C after reconstitution for up to 6 months.
Anti-HBe standard 1 x 2 ml (liquid)	S2	Ready-to-use. Delipidated human serum* + 0.9 g/l sodium azide.
S1 Standard diluent 1 x 5 ml (liquid)	R1	Ready-to-use. Contains 0.9 g/l sodium azide
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with monoclonal anti-HBe antibody. Each SPR is identified by the HBE code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The first well in the strip is for the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the HBe/Anti-HBe strip

Wells	Reagents
1	Sample well
2	Conjugate: biotin labeled monoclonal anti-HBe Ab (mouse) + 0.9 g/l sodium azide (300 µl).
3 - 4 - 6 - 7 - 8 - 9	Wash buffer: Buffered saline (0.05 mol/l) (pH 7.8) with 0.9 g/l sodium azide (600 µl).
5	Tracer: Alkaline Phosphatase-labeled streptavidin + 0.9 g/l sodium azide (400 µl).
10	Optical Cuvette with Substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine DEA* (0.62 mol/l or 6.6 %) pH 9.2 + 1 g/l sodium azide (300 µl).

* Signal Word: **DANGER**



Hazard statement

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100µl, 150µl, 1 ml.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- VIDAS family instrument.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated strips (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless gloves** as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS HBe/Anti-HBe kit at 2-8°C .

- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C, including S1 standard after reconstitution.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain the stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection

Serum or plasma with lithium heparin, sodium citrate or EDTA.

It is recommended that each laboratory checks the compatibility of collection tubes used.

The use of heat inactivated sera has not been validated for this test. Do not heat samples.

None of the following factors have been found to significantly influence this assay:

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin, from 0 to 5.6 mg/ml (monomer)),
- lipemia (after spiking samples with lipids, from 0 to 10 mg/ml equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin, from 0 to 490 µmol/l).

However, it is recommended not to use samples that are hemolyzed or lipemic and, if possible, to collect a new sample.

Specimen stability

Samples can be stored at 2-8°C in stoppered tubes for up to 1 week. If longer storage is required, freeze the sera or plasma at -25 ± 6°C.

Avoid successive freezing and thawing.

A study performed on frozen samples over a period of 2 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master lot data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standards provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration data and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standards, identified by S1 (Ag HBe) and S2 (Anti-HBe) must be tested in duplicate (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV ("Relative Fluorescence Value") and the coefficient of variation of the standard run in duplicate must be less than the normal value indicated on the MLE card. If this is not the case, recalibrate.

HBe assay procedure

1. Only remove the required reagents from the refrigerator and allow to come to room temperature for 30 minutes before use.
2. Remove one "HBE" strip and one "HBE" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "HBE" code on the instrument. The calibrator, which must be identified by "S1", should be tested **in duplicate** and be placed at the beginning of the run. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
4. Mix the standard, control and samples using a vortex type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).
5. **For this test, the standard, control, and sample test portion is 150 µl.**
6. Insert the "HBE" SPRs and the "HBE" Reagent Strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
8. Restopper the vials and return them to 2–8°C after pipetting.
9. The assay will be completed within approximately 90 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and the strips from the instrument.
10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION OF HBe TEST

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent strip's reading cuvette for each test. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The index value is calculated by dividing the sample or control RFV by the standard RFV:

$$i = \text{index} = \text{sample RFV} / \text{S1 standard RFV}$$

This index and its interpretation appear on the result sheet:

Index	Interpretation
$i < 0.1$	Negative: absence of HBe Ag
$i \geq 0.1$	Positive: presence of HBe Ag

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

As no international standard is available for the determination of HBe Ag, the VIDAS reagent is calibrated against collection sera.

Anti-HBe assay procedure

Note: The VIDAS Anti-HBe assay begins with a preliminary incubation step which can be performed in a water bath, dry incubator, or directly in the instrument.

Caution: Each time a new vial of S1 is reconstituted for the HBET test, this operation must be validated by testing the C2 and C3 controls.

Preliminary incubation

1. Mix the S1 and S2 standards, the C2 and C3 controls and the samples using a vortex type mixer.
2. For each sample standard (S2) and control to be tested: pipette 100 µl of HBe (S1) standard into a glass or plastic tube or into the sample well of the VIDAS "HBE" strip. Add 100 µl of sample, standard (S2) or control. Cover and mix the tubes using a vortex type mixer or mix by pipetting several times in the sample well.

Incubate at 37 ± 2°C for 1 hour ± 5 minutes in a water bath, dry incubator if tubes are used, or in the instrument if preliminary incubation is performed in the strips.

Testing with the instrument

3. Remove the required reagents from the refrigerator 30 minutes before the end of preliminary incubation to allow them to come to room temperature.
4. The test is identified by the "HBET" code on the instrument. The standard, must be identified by "S2", and tested **in duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C3". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
5. a) If preliminary incubation is not performed in the strip, pipette 150 µl of the mixture (prepared during preliminary incubation) into the sample well of the "HBE" strip (NB: samples and controls will be tested singly and the standard in duplicate).

Insert the strips and the SPRs into the instrument.

5. b) **If preliminary incubation has been performed in the instrument, remember to insert the SPRs.**
6. Check to make sure the color labels with the assay code on the "HBE" SPRs and the "HBE" Reagent strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
8. Restopper the vials and return them to 2–8°C after pipetting.
9. The assay will be completed within approx. 90 minutes. After the analysis is completed, remove the SPRs and the strips from the instrument.
10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

Anti-HBe RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the strip's cuvette for each test. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The index value is calculated by dividing the sample or control RFV by the standard RFV:

$$i = \text{index} = \text{sample RFV} / \text{standard S2 RFV}$$

This index and its interpretation appear on the result sheet: Interpretation of results according to the index is as follows:

Index	Interpretation
$i < 0.4$	Positive: presence of anti-HBe
$0.4 \leq i < 0.5$	Equivocal
$i \geq 0.5$	Negative: absence of anti-HBe

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

As no international standard is available for the determination of anti-HBe Ab, the VIDAS reagent is calibrated against collection sera.

QUALITY CONTROL

One positive Ag HBe control (C1) and one positive Anti-HBe control (C3) are included in each VIDAS HBe/Anti-HBe kit as well as one negative HBe/Anti-HBe control (C2) which can be used for both tests.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. Results cannot be validated if any of the control values deviate from the expected values.

Caution: any reconstitution of a new S1 vial used for the anti-HBe test must be validated using C2 and C3 controls.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent

components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

HBe PERFORMANCE

Precision

Intra-assay, intra-instrument reproducibility

Five samples were tested singly in 12 runs on the same instrument over a 7-week period (calibration was performed every 14 days as described in the User's Manual).

Sample	Mean index	% CV
1	0.01	20.4
2	0.01	15
3	0.22	5.1
4	0.80	4.2
5	2.12	5.5

Inter-assay reproducibility (inter-instrument)

A panel of 3 samples was tested singly in 3 runs at 4 different sites.

Sample	Mean index	% CV
Negative	0.00	-
Weak positive	0.29	12.5
Strong positive	1.61	8.6

Analytical sensitivity

The sensitivity, determined using the PEI standard, was estimated at 0.25 PEI U/ml.

Sensitivity - Specificity

1) Random population

413 samples from blood donors were tested in parallel using VIDAS and an enzyme immunoassay technique (EIA).

		EIA	
		positive	negative
VIDAS	positive	0	0
HBe Ag	negative	3*	410

* These samples were found to be negative with a second EIA technique used to resolve discrepant results. These samples were also found to be negative for HBV-DNA.

Relative specificity after confirmation: 100%
(95% Confidence interval: 99.04% - 100%).

2) Routine diagnostic population

368 samples were tested at two different clinical sites using VIDAS HBe and an enzyme immunoassay technique. Five discrepant results (negative with VIDAS / positive with EIA) were analyzed using a second EIA technique and HBV-DNA detection. The final results are as follows:

		Final interpretation	
		positive	negative
VIDAS	positive	204	0
Ag HBe	negative	4	160

Relative sensitivity after confirmation: 98.1%

(95% Confidence interval: 95.1% - 99.3%).
Relative specificity after confirmation: 100%
(95% Confidence interval: 97.6% - 100%).

3) Study of 203 clinically negative samples

203 samples were tested using VIDAS HBe and an enzyme immunoassay technique.

Discrepant results were resolved using another EIA technique.

		Final interpretation	
		positive	negative
VIDAS	positive	1	1
Ag HBe	negative	0	201

Relative specificity after confirmation: 99.5%
(95% Confidence interval: 97.2% - 99.9%).

CROSS REACTIVITY AND RELEVANT INTERFERENTS

69 potentially interfering samples were tested.

	VIDAS	EIA 1
	negative	negative
Antinuclear antibodies	9	9
Anti-EBV antibodies	3	3
Anti-HCV antibodies	18	18
Anti-HAV IgM	6	6
Rheumatoid factor	33	33

Anti-HBe PERFORMANCE DATA

Precision

Precision was evaluated using the positive control and the negative control tested in duplicate twice a day for eight days at three sites.

Sample	negative control C2	Positive control C3
Mean index	0.99	0.20
Intra-assay reproducibility	3.4%	6.6%
Inter-assay reproducibility	10.8%	8.2%

Analytical sensitivity

The sensitivity, determined using the PEI standard, was estimated at 0.03 PEI U/ml.

Sensitivity - Specificity

1) Routine diagnostic population

900 acute hepatitis, chronic hepatitis, and potentially interfering samples were tested at two different sites. The VIDAS results were compared to a commercially available EIA for anti-HBe. Equivocal samples were not included in the assay performance calculation. Discordant results were resolved with a second commercially available EIA for anti-HBe and taking into account the patient's history.

		Confirmed results	
		positive	negative
VIDAS	positive	292	3
Anti-HBe	negative	4	581

Relative sensitivity after confirmation 98.65%
(95% Confidence interval: 96,52% - 99.48%)
Relative specificity after confirmation: 99.49%
(95% Confidence interval: 98,47%-99.83%)

2) Study of 210 blood donor samples

210 samples were tested using VIDAS anti-HBe and an enzyme immunoassay technique.

Discrepant results were resolved using another EIA technique.

		positive	negative
VIDAS	positive	0	1
Anti- HBe	negative	0	209

Relative specificity after confirmation: 99.5%
(95% Confidence interval: 97.3% - 99.9%).

CROSS REACTIVITY AND RELEVANT INTERFERENTS

58 potentially interfering samples were tested.

	VIDAS	EIA
	negative	negative
Anti-HBs antibodies	10	10
Antinuclear antibodies	10	10
Anti-HCV antibodies	8	8
Anti-HAV IgM	9	9
Rheumatoid factor	11	11
Anti-EBV antibodies	10	10

EXPECTED VALUES

The incidence of hepatitis B cases in Europe is approximately 20/100,000, ranging from 1/100,000 in Scandinavian countries to 60/100,000 in Central Europe. In Europe, the endemia increases North to South and West to East. In South-East Asia, in China, in Sub-Saharan Africa or in South America the prevalence can exceed 10%.

The HBe antigen only exists in HBs Ag positive subjects, its presence is an unfavorable prognosis element as it is the marker of an active viral multiplication.

The anti-HBe antibody is a favorable prognosis element, especially if it appears early on.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. CHISARI F., FERRARI C. Hepatitis B virus immunopathology, Springer Semin Immunopathol, 1995, 17, 261-281.
2. ZUCKERMAN A.J., THOMAS H.C. Viral Hepatitis. Scientific Basis and Clinical Management, Churchill Livingstone, 1993, 396.
3. AHTONE J., MAYNARD J.E. Laboratory Diagnosis of Hepatitis B, JAMA, 1983, 249: 2067-2069.
4. HEIJTINK R.A., SNOBL J., KRUINING J., KERKHOF-LOS C., DE MAN R.A., JANSSEN H.L.A., SCHALM S.W. Quantitative measurement of HBe Ag in chronic hepatitis B. Journal of Medical Virology, 1995, 47, 245-250.
5. CHEN D.S., LAI M.Y., LEE S.C., et al: Serum HBsAg, HBeAg, anti-HBe and Hepatitis B virus DNA in Asymptomatic Carriers in Taiwan. J. Med. Virol., 1986, 19: 87-94.
6. BONINO F., BRUNETTO M.R. Hepatitis B Virus Precore Mutants, Viral Hepatitis and Liver Disease, 1994, 256-260.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORY

Change type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/06	09078K	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS INSTRUCTIONS FOR USE
2016/04	09078L	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.
Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS® HBe/Anti-HBe (HBE/HBET)

VIDAS HBe/Anti-HBe yra automatizuotas kokybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, hepatito B e antigeno (HBe Ag) ar antikūnų (anti-HBe) žmogaus serume ar plazmoje (ličio heparinas, natrio citratas ar EDTA), panaudojant ELFA technologiją (Imunofermentinis fluorescencinis metodas), nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Apie 5% pasaulio populiacijos yra užsikrėtę hepatito B virusu (HBV), kuris sukelia nekreipiamą uždegiminę įvairios trukmės ir sunkumo kepenų ligas. Chroniški infekuoti pacientai su aktyviu kepenų uždegimu turi didelę riziką, jog jiems išsivystys cirozė ar hepatoceliulinė karcinoma. Imuninis atsakas HBV koduotiems antigenams yra atsakingas už viruso pašalinimą ir už ligos patogenezę infekcijos metu. Hepatitas B gali būti perduodamas lytinių kontaktų, poveikio su kraujo produktais metu ar perinatališkai.

Perinatalinis perdavimas gali būti didesnis nei 90% moterims, kurios yra chroniškai infekuotos HBV, didelio endemiškumo regionuose ar regionuose, kur nėra atliekamas sistemingas nėščiųjų moterų tyrimas. Kūdikiai tampa chroniški HBs antigeno nešiotojai net 90% atvejų (1).

HBV viruso genomo C genas gali ekspresuoti su baltymais: 1) šerdinį baltymą (HBc Ag), kuris sudaro nukleokapsidę. 2) e nežalingą sveikatai baltymą (HBe Ag). HBe Ag gali būti aptinkamas serume pacientų su hepatito B laukinio tipo virusu aktyvios virusinės replikacijos metu (2). Šio antigeno funkcija virusinės replikacijos metu nėra visiškai aiški. Tai nėra būtina pačiam virusui, nors šis antigenas yra pagrindinis imunologinis taikinytis viruso šalinimo metu.

Dažniausiai HBe Ag gali būti aptinkamas ankstyvoje ūmios HBV infekcijos stadijoje. Jis sutampa ar seka po HBs Ag pasirodymo. Ūmiai atvejais, kurie vėliau pagyja, HBe Ag prapuola po keleto savaičių ir dažnai išsivysto anti-HBe serokonversija. Chroniškiems HBV atvejams, HBe Ag gali laikyti keletą mėnesių ar keletą metų, rodanti vis atsinaujinančią virusinę replikaciją (2). HBe Ag buvimas serume rodo aktyvią HBV replikaciją ir žmonės su HBe Ag teigiamais rezultatais yra laikomi labai užkrečiami hepatitu B (3).

HBe Ag yra naudojamas chroniško hepatito ir prieš virusinės terapijos kontrolei. Prieš virusinės terapijos tikslas yra užkirsti kelią kepenų cirozės progresavimui. HBe Ag serokonversija į anti-HBe yra dažnai laikomas kaip indikatorius, jog įvyko perėjimas į virusinę latentinę fazę, kartu lydimą aminoransferazės kiekio normalizavimusi. HBe Ag serokonversija į Anti-HBe sumažina riziką cirozės išsivystymui ir kompensuoja kepenų susirgimą (4).

Teigiamas anti-HBe rezultatas pacientams besiveikstantiems nuo ūmaus hepatito rodo normalų sveikimą, dažniausiai jei HBsAg ir HBe Ag daugiau nėra aptinkami. Pas HBV nešiotojus teigiamas anti-HBe rezultatas dažnai rodo viruso neveiklumą ir mažą paciento užkrečiamumą (5). Žinoma teigiamas anti-HBe rezultatas, esant teigiamam HBV DNR tyrimo rezultatui gali rodyti aktyvią viruso replikaciją ir kepenų susirgimo progresavimą pas nešiotąją (5).

HBV mutantai, negalintys išskirti HBe Ag, gali vyrauti prieš laukinį HBV tipą pas pacientus su sunkiu ūmiu ir chronišku hepatitu B ir pas chroniškus HBs Ag nešiotojus HBe Ag/anti-HBe serokonversijos metu (6).

VIDAS HBe/anti-HBe tyrimas padeda nustatyti HBe antigeno ar anti-HBe antikūnų buvimą, kurie atitinkamai, išskyrus infekcijų mutantiniu HBe virusu atvejus, yra virusinės replikacijos fazės ar sveikimo žymenys.

PRINCIPAS**HBe Ag**

Tyrimo principas grindžiamas imunofermentiniu sumuštinio metodu, su galutiniu fluorescencijos nustatymu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR®) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip dozavimo priemonė. Tyrimo reagentai, išskyrus standartus ir kontroles, yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po praskiedimo instrumente mėginys keletą kartų cirkuliuoja į ir iš SPR antgalio. Tuo metu HBe antigenas, jei jis yra mėginyje, vienu metu jungiasi su specifiniais antikūnais, pritvirtintais prie SPR antgalio vidinio paviršiaus, ir kito monokloninio specifinio antikūno konjuguoto su biotinu. Nesurišti komponentai yra pašalinami plovimo etapo metu. Biotino buvimas yra aptinkamas su streptavidino, konjuguotu su šarmine fosfataze. Plovimo metu pašalinami nesurišti komponentai. Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4–metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4–metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas mėginyje esančio antigeno koncentracijai. Tyrimo pabaigoje rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumente ir tuomet yra atspausdinami.

anti-HBe antikūnai

Anti-HBe antikūnų tyrimas naudoja tokį patį protokolą, aprašytą aukščiau su ta išimtimi, kad pradžioje yra atliekamas papildomas mėginio inkubavimas su pridedamu rekombinantiniu HBe Ag. Šio inkubavimo metu rekombinantinis HBe Ag yra neutralizuojamas mėginyje esančių antikūnų. Toliau atliekamas HBe Ag tyrimas, likusių laisvų HBe Ag nustatymui. Antikūnų buvimas mėginyje sumažina signalą. Jei anti-HBe nėra mėginyje, tuomet papildomai pridėtas rekombinantinis HBe Ag bus pilnai aptiktas. Specifinis anti-HBe rezultatų interpretavimas bus atliekamas instrumente automatiškai ir tuomet jis bus atspausdintas.

RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS:

30 HBE strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
30 HBE SPR antgalių 1 x 30	SPR®	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta pelės monokloniniais anti-HBe antikūnais.
HBe Ag teigiama kontrolė 1 x 1.5 ml (skysta)	C1	Paruošta naudojimui. Stabilaus baltymo pagrindas perpildytas rekombinantiniu HBe Ag + 0.9 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklivimo intervalas ("Control C1 (+) Test Value Range").
Neigiama kontrolė 1 x 1,9 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti, Neigiama kontrolė skirta HBe Ag ir Anti-HBe tyrimams. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai.
Anti-HBe teigiama kontrolė 1 x 1.5 ml (skysta)	C3	Paruošta naudojimui. Stabilaus baltymo pagrindas perpildytas pelės monokloniniais anti-HBe Ab + 0.9 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklivimo intervalas ("Control C3 (+) Test Value Range").
HBe Ag standartas 4 x 1 ml (liofilizuota)	S1	Stabilaus baltymo pagrindas perpildytas rekombinantiniu HBe Ag + baltyminiai stabilizatoriai. Buteliuko turinį skieskite 1 ml standarto skiedikliu, kad praskiesti standartą. Po praskiedimo laikykite prie 2-8°C iki 6 mėnesių.
Anti-HBe standartas 1 x 2 ml (skysta)	S2	Paruoštas naudojimui. Nuriebalintas žmogaus serumas* + 0.9 g/l natrio azido.
S1 Standarto skiediklis 1 x 5 ml (skysta)	R1	Paruoštas naudojimui. Turi 0.9 g/l natrio azido
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniam antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas monokloniniu anti-HBe antikūnu. Kiekvienas SPR yra identifikuotas "HBE" kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR skaičių ir **sandariai jį uždarykite po atidarymo.**

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

HBe/Anti-HBe strypelio apibūdinimas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis
2	Konjugatas: biotinu žymėti monokloniniai anti-HBe antikūnai (pelės) + 0.9 g/l natrio azido (300 µl).
3 - 4 - 6 - 7 - 8 - 9	Plovimo buferis: buferinis tirpalas (0.05 mol/l) (pH 7.8) su 0.9 g/l natrio azido (600 µl).
5	Konjugatas nešėjas: šarmine fosfataze žymėtas streptavidinas + 0.9 g/l natrio azido (400 µl).
10	Optinė kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/l) + dietanolamino DEA* (0.62 mol/l ar 6.6 %) pH 9.2 + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**



Pavojingumo frazė

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS IR VIENKARTINĖS PRIEMONĖS

- Pipetės su vienkartiniais antgaliais kalibruotos dozuoti 100µl, 150µl, 1 ml.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifines priemones ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite **Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas**).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemašykite reagentų (ar SPR antgalių) iš skirtingų gaminio serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengti šių junginių susikaupimo.
- Optinė kiuvetė su substratu 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukensminus skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito.

Žiūrėkite Naudotojo Instrukciją dėl išsipyliusių skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.

- Instrumentai turi būti reguliariai valomi ir nukensminami (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS HBe/Anti-HBe rinkinį prie 2-8°C
- **Nesušaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C, taip pat ir S1 standartą po praskiedimo.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas

Serumas ar plazma su ličio heparinu, natrio citratu EDTA.

Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą.

Karščiu inaktyvuotų serumų naudojimas nėra patvirtintas šiam tyrimui. Mėginių nekaitinkite.

Nė vienas iš sekančių faktorių neturėjo žymios įtakos šiam tyrimui:

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo: nuo 0 iki 5.6 mg/ml) (monomeras),
- lipemija (po lipidų įdėjimo: nuo 0 iki 10 mg/ml trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo: nuo 0 iki 490 µmol/l).

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių kurie yra aiškiai hemolizuoti ar lipemiški ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius.

Mėginio stabilumas

Mėginiai gali būti laikomi prie 2-8°C užkimštuose mėgintuvėliuose iki 1 savaitės. Jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, serumą ar plazmą užšaldykite prie -25 ± 6°C.

Venkite pakartotino užšaldymo ir atšildymo.

Tyrimai, atlikti su 2 mėnesius užšaldytais mėginiais parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu, pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinius kalibravimo duomenis ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartai, identifikuoti kaip S1 (Ag HBe) ir S2 (Anti-HBe) turi būti tiriami dvigubu pakartojimu (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV ("Santykinė Fluorescencijos Vertė") ribose ir dvigubu pakartojimu naudojamo standarto variacijos koeficientas turi būti mažesnis, nei MLE kortelėje nurodyta vertė. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

HBe tyrimo procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Išimkite vieną "HBE" reagentų strypelį ir vieną "HBE" SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.
3. Tyrimas instrumente yra identifikuojamas "HBE" kodu. Kalibratorius, kuris turi būti identifiкуotas kaip "S1", turi būti tiriamas **dvigubu pakartojimu** ir turi būti įdedamas tyrimo pradžioje. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C2".
4. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (serumas atskirtas nuo ląstelių).
5. Šiam tyrimui, standarto, kontrolės ir mėginio tiriamoji dalis yra 150 µl.
6. Įstatykite "HBE" SPR antgalius ir "HBE" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
7. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta Naudojimo Instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
8. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į 2–8°C temperatūrą.

9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 90 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

HBE tyrimo REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas.

Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Indekso vertė yra skaičiuojama dalinant mėginio ar kontrolės RFV vertę iš standarto RFV vertės:

$$i = \text{indeksas} = \text{mėginio RFV} / \text{S1 standarto RFV}$$

Šis indeksas ir interpretacija atspausdinama duomenų išrašė:

Indeksas	Interpretacija
$i < 0.1$	Neigiamas: HBe Ag nėra
$i \geq 0.1$	Teigiamas: HBe Ag yra

Tyrimo rezultatų interpretacija turi būti atliekama atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokius kitus atliktus tyrimus.

Kadangi nėra jokių HBe Ag nustatymo tarptautinių standartų, VIDAS reagentai yra kalibruoti pagal atrinktus serumus.

Anti-HBe tyrimo procedūra

Pastaba: VIDAS Anti-HBe tyrimas prasideda parengiamosios inkubacijos etapu, kuris gali būti atliekamas vandens vonelėje, sausame inkubatoriuje ar tiesiogiai instrumente.

Dėmesio: kiekvieną kartą kai naujas S1 naujas HBET tyrimo buteliukas yra praskiedžiamas, ši operacija turi būti patvirtinta tiriant C2 ir C3 kontrolėmis.

Parengiamoji inkubacija

1. sumaišykite S1 ir S2 standartus, C2 ir C3 kontroles ir mėginius naudojanti Vortekso tipo kratiklius.
2. Kiekvienam mėginiui turi būti tiriamas standartas (S2) ir kontrolės: dozuokite 100 µl HBe (S1) standarto į stiklinį ar plastikinį mėgintuvėlį ar į mėginio šulinėlį VIDAS „HBE“ juostelėje. Dozuokite 100 µl mėginio, standarto (S2) ar kontrolės. Mėgintuvėlius uždenkite ir sumaišykite keletą kartų šulinėlyje pipetuodami. **Inkubuokite prie $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 1 valandą ± 5 minutės vandens vonelėje, sausame inkubatoriuje jei naudojami mėgintuvėliai ar pačiame instrumente, jei inkubacija atliekama juostelėje.**

Tyrimas instrumentu

3. Reikiamą reagentų kiekį išsiimkite iš šaldytuvo 30 minučių prieš pasibaigiant parengiamajai inkubacijai, leidžiant reagentams pasiekti kambario temperatūrą.

4. Tyrimas instrumente yra identifikuojamas "HBET" kodu. Kalibratorius, kuris turi būti identifiкуotas kaip "S1", turi būti tiriamas **dvigubu pakartojimu** ir turi būti įdedamas tyrimo pradžioje. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C2".
5. a) jei parengtinė inkubacija nebuvo atliekama strypelyje, dozuokite 150 µl mišinio (paruošto parengiamosios inkubacijos metu) į „HBE“ strypelio mėginio šulinėlį (pastaba: mėginiai ir kontrolės bus tiriamos viengubu pakartojimu, o standartas dvigubu).
Įdėkite strypelius ir SPR antgalius į instrumentą.
5. b) **jei parengtinė inkubacija buvo atliekama instrumente, nepamirškite įdėti SPR antgalių.**
6. Patikrinkite ir įsitikinkite, kad tyrimo kodu spalvotos etiketės ant "HBE" SPR antgalių ir "HBE" reagentų strypelių sutampa.
7. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta Naudojimo Instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
8. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į 2–8°C temperatūrą.
9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 90 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

Anti-HBe TYRIMO REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas.

Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Indekso vertė yra skaičiuojama dalinant mėginio ar kontrolės RFV vertę iš standarto RFV vertės:

$i = \text{indeksas} = \text{mėginio RFV} / \text{S2 standarto RFV}$

Šis indeksas ir interpretacija atspausdinama duomenų išrašė. Rezultatų interpretacija priklausomai nuo indekso yra sekanti:

Indeksas	Interpretacija
$i < 0.4$	Teigiamas: anti-HBe yra
$0.4 \leq i < 0.5$	Abejotinas
$i \geq 0.5$	Neigiamas: anti-HBe nėra

Tyrimo rezultatų interpretacija turi būti atliekama atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokius kitus atliktus tyrimus.

Kadangi nėra jokių anti-HBe antikūnų nustatymo tarptautinių standartų, VIDAS reagentai yra kalibruoti pagal atrinktus serumus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su kiekvienu VIDAS HBe/Anti-HBe rinkiniu yra pateikiama viena teigiama Ag HBe kontrolė (C1) ir viena teigiama Anti-HBe kontrolė (C3) bei viena neigiama HBe/Anti-HBe kontrolė, kuri gali būti naudojama abiem tyrimams.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis šiomis kontrolėmis. Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinės vertės.

Dėmesio: kiekvieno naujo S1 buteliuko, naudojamo anti-HBe tyrimui, praskiedimas turi būti patvirtinamas naudojantis C2 ir C3 kontrolėmis.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami įvertinant paciento istoriją ir kitų atliktų tyrimų rezultatus.

HBe ATLIKIMAS

Tikslumas

Atkartojamumas to pačio tyrimo viduje bei tame pačiame instrumente

Buvo tirti 5 mėginiai po vieną kartą 12 serijų tuo pačiu instrumentu 7 savaitių laikotarpyje (kalibravimas buvo atliekamas kas 14 dienų, kaip tai nurodyta Naudojimosi Instrukcijoje).

Mėginys	Vidutinis indeksas	% CV
1	0.01	20.4
2	0.01	15
3	0.22	5.1
4	0.80	4.2
5	2.12	5.5

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų (atskirų instrumentų)

3 mėginių panelis buvo tirtas vieną kartą 3 serijose 4 skirtingose vietose.

Mėginys	Vidutinis indeksas	% CV
Neigiamas	0.00	-
Silpnai teigiamas	0.29	12.5
Stipriai teigiamas	1.61	8.6

Analitinis jautrumas

Naudojant PEI standartą, buvo nustatytas 0.25 PEI U/ml jautrumas.

Jautrumas - Specifiškumas**1) Atsitiktinė populiacija**

413 kraujo donorų mėginiai buvo tirti kartu su VIDAS ir kitais imunofermentiniais tyrimais (EIA).

		EIA	
		Teigiamas	Neigiamas
VIDAS	Teigiamas	0	0
HBe Ag	Neigiamas	3*	410

* Šie mėginiai, bandant išaiškinti abejotinus rezultatus, buvo nustatyti esantys neigiami naudojantis imunofermentiniu (EIA) metodu. Šie mėginiai taip pat buvo nustatyti kaip neigiami naudojant HBV-DNR tyrimą.

Santykinis specifiškumas po patvirtinimo: 100%
(95% pasiklivimo intervalas: 99.04% - 100%).

2) Rutininė diagnostinė populiacija

Dviejose skirtingose klinikinėse laboratorijose su VIDAS HBe ir kitais imunofermentiniais tyrimais buvo tirti 368 mėginiai. Penki abejotini rezultatai (neigiami su VIDAS / teigiami su EIA) buvo tirti panaudojant antrą EIA metodą ir HBV-DNR nustatymą. Galutiniai rezultatai buvo sekantys:

		Galutinė interpretacija	
		Teigiama	Neigiama
VIDAS	Teigiama	204	0
Ag HBe	Neigiama	4	160

Santykinis jautrumas po patvirtinimo: 98.1%
(95% pasiklivimo intervalas: 95.1% - 99.3%).
Santykinis specifiškumas po patvirtinimo: 100%
(95% pasiklivimo intervalas: 97.6% - 100%).

3) 203 kliniškai neigiamų mėginių tyrimas

su VIDAS HBe ir kitais imunofermentiniais tyrimais buvo tirti 203 mėginiai.

Abejotini rezultatai buvo išaiškinti naudojantis kitu EIA metodu.

		Galutinė interpretacija	
		Teigiamas	Neigiamas
VIDAS	Teigiamas	1	1
Ag HBe	Neigiamas	0	201

Santykinis specifiškumas po patvirtinimo: 99.5%
(95% pasiklivimo intervalas: 97.2% - 99.9%).

KRYŽMINIS REAKTYVUMAS IR SUSIJUSIOS INTERFERUOJANČIOS MEDŽIAGOS

Buvo tirti 69 potencialiai interferuojantys mėginiai.

	VIDAS	EIA 1
	neigiamas	neigiamas
Antinukleariniai antikūnai	9	9
Anti-EBV antikūnai	3	3
Anti-HCV antikūnai	18	18
Anti-HAV IgM	6	6
Reumatoidinis faktorius	33	33

Anti-HBe ATLIKIMO DUOMENYS**Tikslumas**

Tikslumas buvo vertinamas naudojantis treigiama ir neigiama kontrole tiriant jas dvigubu pakartojimu du kartus per dieną aštuonių dienų laikotarpyje trijose laboratorijose.

Mėginys	Neigiama kontrolė C2	Teigiama kontrolė C3
Vidutinis indeksas	0.99	0.20
Atkartojamumas tyrimo serijos ribose	3.4%	6.6%
Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų	10.8%	8.2%

Analitinis jautrumas

Naudojant PEI standartą, buvo nustatytas 0.03 PEI U/ml jautrumas.

Jautrumas - Specifiškumas**1) Rutininė diagnostinė populiacija**

Dviejose laboratorijose buvo tirti 900 ūmaus hepatito, chroniško hepatito ir potencialiai interferuojantys mėginiai. The VIDAS rezultatai buvo lyginami su kitais komerciniais anti-Hbe imunofermentiniais tyrimais. Abejotini mėginiai nebuvo įtraukti į tyrimo atlikimo skaičiavimus. Prieštaringi rezultatai buvo išaiškinti antru komerciniu imunofermentiniu anti-HBe metodu, atsižvelgiant į paciento istoriją.

		Patvirtinti rezultatai	
		Teigiami	Neigiami
VIDAS	Teigiami	292	3
Anti-HBe	Neigiami	4	581

Santykinis jautrumas po patvirtinimo 98.65%
(95% pasiklivimo intervalas: 96.52% - 99.48%)
Santykinis specifiškumas po patvirtinimo: 99.49%
(95% pasiklivimo intervalas: 98.47% - 99.83%)

2) 210 kraujo donorų mėginių tyrimas

Su VIDAS anti-HBe ir imunofermentiniais metodais buvo tirti 210 mėginių.

Prieštaringi rezultatai buvo išaiškinti kitu komerciniu imunofermentiniu metodu.

		Teigiami	Neigiami
VIDAS	Teigiami	0	1
Anti-HBe	Neigiami	0	209

Santykinis specifiškumas po patvirtinimo: 99.5%
(95% pasiklivimo intervalas: 97.3% - 99.9%).

KRYŽMINIS REAKTYVUMAS IR SUSIJUSIOS INTERFERUOJANČIOS MEDŽIAGOS

Buvo tirti 58 potencialiai interferuojantys mėginiai.

	VIDAS	EIA
	Neigiamas	Neigiamas
Anti-HBs antikūnai	10	10
Antinukleariniai antikūnai	10	10
Anti-HCV antikūnai	8	8
Anti-HAV IgM	9	9
Reumatoidinis faktorius	11	11
Anti-EBV antikūnai	10	10

TIKĖTINOS VERTĖS

Hepatito B paplitimo atvejai Europoje yra apie 20/100,000, kintant nuo 1/100,000 Skandinavijos šalyse iki 60/100,000 Centrinėje Europoje. Europoje endemija didėja nuo Šiaurės iki Pietų ir nuo Vakarų iki Rytų. Pietryčių Azijoje, Kinijoje, žemiau Sacharos esančioje Afrikoje ar Pietų Amerikoje paplitimas viršija 10%.

HBe antigenas aptinkamas tik HBs Ag teigiamuose asmenyse, jo buvimas yra nepalankus prognozuojantis elementas, kadangi jis yra aktyvaus viruso dauginimosi žymuo.

Anti-HBe antikūnai yra nepalankus prognozuojantis elementas, ypač jei jis aptinkamas gana anksti.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdamas infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. CHISARI F., FERRARI C. Hepatitis B virus immunopathology, Springer Semin Immunopathol, 1995, 17, 261-281.
2. ZUCKERMAN A.J., THOMAS H.C. Viral Hepatitis. Scientific Basis and Clinical Management, Churchill Livingstone, 1993, 396.
3. AHTONE J., MAYNARD J.E. Laboratory Diagnosis of Hepatitis B, JAMA, 1983, 249 : 2067-2069.
4. HEIJTINK R.A., SNOBL J., KRUINING J., KERKHOF-LOS C., DE MAN R.A., JANSSEN H.L.A., SCHALM S.W. Quantitative measurement of HBe Ag in chronic hepatitis B. Journal of Medical Virology, 1995, 47, 245-250.
5. CHEN D.S., LAI M.Y., LEE S.C., et al : Serum HBsAg, HBeAg, anti-HBe and Hepatitis B virus DNA in Asymptomatic Carriers in Taiwan. J. Med. Virol., 1986, 19 : 87-94.
6. BONINO F., BRUNETTO M.R. Hepatitis B Virus Precore Mutants, Viral Hepatitis and Liver Disease, 1994, 256-260.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui
Pastaba:	<i>Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.</i>

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/06	09078K	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/04	09078L	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienas iš filialų ar vienas iš įmonių priklausantis prekių ženklai.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS® HAV IgM (HAVM)

VIDAS HAV IgM is an automated qualitative test for use on the VIDAS family instruments for the detection of IgM directed against the hepatitis A virus (HAV) after immunocapture, in human serum or plasma (heparin or EDTA), using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Hepatitis A is caused by the hepatitis A virus, belonging to the picornavirus family. It is transmitted by fecal-oral contact and was therefore considered to be a generally asymptomatic disease, occurring mainly in children. The fall in prevalence observed over the past few years has led to an increase in symptomatic cases in older patients (1). Fulminant hepatitis, which is often fatal, remains rare (0.1 to 0.2% of cases) (2).

Direct diagnosis is difficult since virus excretion in stools is early and generally ends before clinical signs appear (3). The viremia stage is short-lived, and the detection of viral RNA of little significance (4). Furthermore, the early and rapid development of IgG makes it difficult to detect the time of seroconversion by titrating the IgG. This explains why the only reliable method is the detection of anti-HAV IgM, especially after immunocapture. IgM can be detected as soon as the first symptoms appear, and generally persist for 2 to 4 months. In rare cases, residual IgM have been detected 6 to 12 months after the start of the infection (5).

In cases of active prevention, anti-HAV IgM can be detected in patient sera within two weeks following the first injection of the vaccine (6).

Detection of anti-HAV IgM aids in the diagnosis of acute hepatitis, but is not sufficient to validate post-vaccine immunity.

PRINCIPLE

The assay principle combines a 2-step enzyme immunoassay after immunocapture, with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR®) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After diluting the sample, the serum IgM bind with the anti-μ chain polyclonal antibodies coating the interior of the SPR. Unbound sample components are removed by washing.

The anti-HAV IgM are specifically detected by an immune complex, formed of inactivated viral antigen and an alkaline phosphatase-labeled anti-HAV monoclonal antibody. The unbound immune complex is removed by washing.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of anti-HAV IgM present in the sample. At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument in relation to the calibration curve stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS:

30 HAVM strips	STR	Ready-to-use.
30 HAVM SPRs 1 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with anti-human μ chain polyclonal antibodies (goat).
HAVM positive control 1 x 1 ml (liquid)	C1	Ready-to-use. Human* serum with anti-HAV IgM + protein stabilizer + 1 g/l sodium azide. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1 (+)Test Value Range).
Negative control 1 x 1.9 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin+ preservatives.
HAVM standard 1 x 1.2 ml (liquid)	S1	Ready-to-use. Human* serum with anti-HAV IgM + protein stabilizer + 1 g/l sodium azide.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib .		

*This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR®

The SPR is coated during production with anti-human μ chain polyclonal antibody purified by affinity chromatography. Each SPR is identified by the HAVM code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The reagent strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the HAVM strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	Sample diluent: TRIS buffer (0.05 mol/l) pH 7.4 + Tween + protein and chemical stabilizers + 1 g/l sodium azide (400 μ l).
3 - 4 - 5 - 8 - 9	Washing buffer: TRIS buffer (0.05 mol/l) pH 7.4 + protein and chemical stabilizers + 1 g/l sodium azide (600 μ l).
6	Inactivated hepatitis A antigen + protein and chemical stabilizers + 1 g/l sodium azide (300 μ l).
7	Anti-hepatitis A monoclonal antibody (mouse) conjugated with alkaline phosphatase + 1 g/l sodium azide (300 μ l).
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l sodium azide (300 μ l).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard statement**

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 μ l.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- Instrument of the VIDAS® family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.

- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS HAV IgM kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection

Serum or plasma (lithium heparinate or EDTA).
It is recommended that each laboratory checks the compatibility of collection tubes used.

None of the following factors have been found to significantly influence this assay:

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin: 0 to 270 µmol/l (monomer)),
- lipemia (after spiking samples with lipids: 0 to 2 mg/ml equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples (naturally icteric plasma) with bilirubin: 0 to 500 µmol/l).

However, it is recommended not to use samples that are clearly hemolyzed or lipemic and, if possible, to collect a new sample.

Do not inactivate samples.

Specimen stability

Samples can be stored at 2-8°C in stoppered tubes for up to 7 days; if longer storage is required, freeze the sera or plasma at -25 ± 6°C.
Freeze once only.

A study performed on samples frozen for 12 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master lot data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested **in duplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "HAVM" strip and one "HAVM" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "HAVM" code on the instrument. The standard must be identified by "S1", and tested **in duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
4. If necessary, clarify samples by centrifugation.
5. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).
6. **For this test, the standard, control, and sample test portion is 100 µl.**
7. Insert the "HAVM" SPRs and "HAVM" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
8. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
9. Restopper the vials and return them to 2-8°C after pipetting.
10. The assay will be completed within approximately 60 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
11. Dispose of the used SPRs and reagent strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The patient RFV is interpreted by the VIDAS system as follows:

$$i = \text{Test Value} = \text{Patient RFV} / \text{Standard RFV}$$

This Test Value and the result interpretation are both mentioned on the report.

The Test Value is interpreted as follows:

Test Value	Interpretation
$i < 0.4$	Negative
$i \geq .4$ and $i < 0.5$	Equivocal**
$i \geq 0.5$	Positive

** It is advisable to control equivocal results by performing a new test using a second sample.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS HAV IgM kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS HAVM gave the following results:

Precision

Within-run reproducibility:

3 samples were tested 15 times in a same run.

	Number	Mean RFV	CV (%)
Negative	15	74.5	4.05
Weak positive	15	994	1.79
Strong positive	15	2627	1.8

Between-run reproducibility:

3 samples were tested in triplicate in 3 different runs on 3 sites.

	Number	Mean Index	CV (%)
Negative	27	0.05	7.63
Weak positive	27	1.01	2.07
Strong positive	27	3.45	2.4

Specificity

Out of the 544 blood donors who were found to be negative with another EIA technique; 538 were found to be negative and 3 were found to be positive with VIDAS HAV IgM, giving a **relative specificity of 99.44%***.

*Equivocal results were not included in the specificity calculation.

Study of clinical trials

The sensitivity was tested on sera corresponding to samples from patients with clinically and biologically documented hepatitis A or from patients at risk with anti-HAV IgM, detectable using another EIA technique.

1) Acute hepatitis A or positive anti-HAV IgM antibody in patients presenting either an increase in transaminase levels or a risk factor (travel, contact with infection etc.):

Of the 205 sera tested:

- 201 were found to be positive with both VIDAS HAV IgM and the comparative EIA technique,
- 4 were found to be equivocal.

2) Monitoring of 8 clinically and biologically documented cases of acute hepatitis A:

Of the 55 sera tested:

- 23 were found to be negative with VIDAS HAV IgM. Discrepancies were found for six sera with the EIA technique which found them positive.
- 30 were found to be positive with both VIDAS HAV IgM and the comparative EIA technique,
- 2 were equivocal.

The 6 discrepant sera were from two patients who were being monitored for hepatitis A. They probably correspond to residual IgM which were later detected using the comparative EIA technique.

CROSS REACTIVITY AND RELEVANT INTERFERENTS

Tested sera	Number of positives/total
Anti-HBc + IgM	0 / 14
Anti-CMV + IgM	0 / 28
Anti-VCA + IgM	1 / 19 *
Automimmune hepatitis +	0 / 10
Cryoglobulinemia +	0 / 22
Rhumatoid factor +	0 / 20
Heterophilic + antibody	0 / 10
Anti-nuclear + antibody	0 / 6
Anti HCV + antibody	0 / 3

* The serum that was found to be positive with VIDAS HAV IgM was confirmed to be positive with the other EIA technique, used as reference.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. PAPAEOANGELOU G.: Epidemiology of hepatitis A in Mediterranean countries. Vaccine, 1992, 10, suppl. 1.: S63 - S66.
2. FAGAN E. A., WILLIAMS R: Fulminant viral hepatitis. Br. Med. Bul. 1990 ; 46: 462 - 480.
3. KURSTAK E.: Current status and issues - Hepatitis A virus infection: diagnostic tests. Springer - Verlag, 1993: 33 - 37.
4. LUNEL F.: les virus des hépatites - choix raisonné des outils diagnostics d'une hépatite: apport de la biologie moléculaire. Coll. Soc. Fr. Microbio. / Virol., 1991, X: 41 - 53.
5. GLIKSON M. et al. Relapsing hepatitis A, Medecine, 1992, 71 (1), 14 - 23.
6. JILG W., BITTNER R., BOCK H. L., CLEMENS R., SCHÄTZL H., SCHMIDT M., ANDRE F. E. and DEINHARDT F.: Vaccination against hepatitis A: comparison of different short-term immunization schedules. Vaccine, 1992, 10, Suppl. 1, S126 - S128.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/06	07206Q	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS INSTRUCTIONS FOR USE
2016/05	07206R	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.
Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS® HAV IgM (HAVM)

IVD

VIDAS HAV IgM yra automatizuotas kokybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, IgM prieš hepatito virusą (HAV) po surišimo, žmogaus serume ar plazmoje (heparinas ar EDTA), naudojant ELFA technologiją (Enzyme Linked Fluorescent Assay), nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Hepatitą A sukelia hepatito A virusas, priklausantis picornavirus šeimai. Jis perduodamas fekalinio oralinio kontakto metu ir dėlto laikoma bendrai asimptomatine liga, pasitaikančia dažniausiai vaikų tarpe. Paplitimo kritimas, stebėtas per kelis pastaruosius metus skatino simptominių atvejų vyresniems pacientams padaugėjimą. (1). Žaibinio hepatito, kuris dažnai yra mirtinas, pasitaikymas išlieka retas (0.1 iki 0.2% atvejų) (2).

Tiesioginė diagnozė yra sunki, nes viruso išsiskyrimas su išmatomis yra ankstyvas ir bendrai užsibaigia prieš klinikinių simptomų atsiradimą (3). Viremijos etapas yra trumpas ir viruso RNR aptikimas mažai reikšmingas (4). Tuo labiau, ankstyvas ir greitas IgG atsiradimas sunkina serokonversijos laiko, titruojant IgG, nustatymą. Tai paaiškina, kodėl vienintelis realus metodas yra anti-HAV IgM nustatymas, ypač po surišimo. IgM gali būti aptiktas kada atsiranda pirmieji simptomai ir bendrai išlieka nuo 2 iki 4 mėnesių. Retais atvejais, išliekantys IgM buvo aptikti nuo 6 iki 12 mėnesių nuo infekcijos pradžios (5).

Aktyvios prevencijos atvejais, anti-HAV IgM gali būti aptikti pacientų serume per dvi savaites nuo pirmos vakcinos injekcijos (6).

Anti-HAV IgM aptikimas padeda diagnozuoti ūmų hepatitą, bet nepakankamas patvirtinti imunitetą po vakcinos.

PRINCIPAS

Tyrimo principas grindžiamas 2 etapų imunofermentiniu tyrimu, su galutiniu fluorescencijos nustatymu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR®) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visi reakcijos etapai instrumento atliekami automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po mėginio praskiedimo, serumo IgM jungiasi su polikloninių antikūnų, pritvirtintų prie SPR antgalio vidinio paviršiaus, anti-μ grandine. Nesusijungę mėginio komponentai yra pašalinami plovimo etapo metu.

Anti-HAV IgM yra specifiskai aptinkami kaip imuniniai kompleksai, sudaryti iš inaktyvuotų viruso antigenų ir anti-HAV monokloninių antikūnų, prijungtų prie šarminės fosfatazės. Nesusijungę imuniniai kompleksai pašalinami plovimo etapo metu.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas mėginyje esančio anti-HAV IgM koncentracijai. Tyrimo pabaigoje rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento, atsižvelgiant į kalibracijos kreivę, saugojamą atmintyje ir tuomet yra atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ ATKŪRIMAS:

30 HAVM strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
30 HAVM SPRs 1 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta anti-žmogaus μ grandinės polikloniniais antikūnais (ožio).
HAVM teigiama kontrolė 1 x 1 ml (skysta)	C1	Paruošta naudojimui. Žmogaus* serumas su anti-HAV IgM + baltyminis stabilizatorius + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklovimo intervalas ("Control C1 (+) Test Value Range").
Neigiama kontrolė 1 x 1,9 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai.
HAVM standartas 1 x 1.2 ml (skystas)	S1	Paruoštas naudojimui. Žmogaus* serumas su anti-HAV IgM + baltyminis stabilizatorius + 1 g/l natrio azido.

Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos:

• MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu.

ar

• MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės

1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib.

*Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniui antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR®

SPR antgalis gamybos procese buvo padengtas su anti-žmogaus μ grandinės polikloniniais antikūnais, išgrynintais panaudojant afininę chromatografiją. Kiekvienas SPR antgalis identifiktuotas HAVM kodu. Iš pakuotės išimkite tik reikiamą SPR kiekį ir **atidarykite kruopščiai sandariai uždarykite**.

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

HAVM strypelio apibūdinimas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: TRIS buferis (0.05 mol/l) pH 7.4 + Tween + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 1 g/l natrio azido (400 μ l).
3 - 4 - 5 - 8 - 9	Plovimo buferis: TRIS buferis (0.05 mol/l) pH 7.4 + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 1 g/l natrio azido (600 μ l).
6	Inaktyvuotas hepatito A antigenas + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 1 g/l natrio azido (300 μ l).
7	Anti-hepatito A monokloninis antikūnas (pelės), sujungtas su šarmine fosfataze + 1 g/l natrio azido (300 μ l).
10	Kiuvetė su substratu: 4-Metil-umbeliferil fosfatas (0.6 mmol/l) + dietanolaminas (DEA*) (0.62 mol/l ar 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l natrio azido (300 μ l).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetė su vienkartinio antgaliu dozuoti 100 μ l.
- Vienkartinės pirštinės be talko.
- Kitas specifinės priemonės ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS® šeimos instrumentas.

ISPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - Paskutinis leidimas).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.

- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar vienkartinio naudojimo priemonės) iš skirtingų gaminių serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogus metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengti šių junginių susikaupimo.
- 10 šulinėlio substratas turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazės "H" ir atsargumo frazės "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius reikia kruopščiai nuvalyti, prieš tai juos nukenkmsminus skystu detergentu arba buitinėmis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žr. vartotojo vadove, kaip valyti išsipyliusius ant ar į instrumentą skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą reikia reguliariai valyti ir nukenkmsinti (žr. vartotojo vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS HAV IgM rinkinį 2-8°C temperatūroje.
- **Nesušaldykite reagentų.**
- **Laikykite visus nepanaudotus reagentus 2-8°C temperatūroje.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas

Serumas ar plazma (ličio heparinas ar EDTA). Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą. Nė vienas iš sekančių faktorių neturėjo žymios įtakos šiam tyrimui:

- hemolizė (po įdėjimo mėginių su hemoglobinu: 0 iki 270 $\mu\text{mol/l}$ (monomeras)),
- lipemija (po įdėjimo mėginių su lipidais: 0 iki 2 mg/ml trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po įdėjimo mėginių (natūrali sergančio gelta plazma) su bilirubinu: 0 iki 500 $\mu\text{mol/l}$).

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių kurie yra hemolizuoti ar lipemiški gelta ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius.

Mėginių neinaktyvuokite.

Mėginio stabilumas

Mėginius galima laikyti 2-8°C temperatūroje užkimštuose mėgintuvėliuose iki 7 dienų. Jeigu reikia laikyti ilgiau, serumą ar plazmą sušaldykite iki $-25 \pm 6^\circ\text{C}$ temperatūros. Užšaldykite tik vieną kartą.

Studijos, atliktos su 12 mėnesių šaldytais mėginiais, rezultatai parodė, jog rezultatų kokybė nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti viena kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žr. vartotojo vadovą). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV "Relative Fluorescence Value" ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną "HAVM" strypelį ir vieną "HAVM" SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ar standartui. **Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai kruopščiai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Ant instrumento tyrimas nurodytas "HAVM" kodu. Standartas turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C2".
4. Jei reikia, išvalykite mėginius centrifugavimo metu.
5. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (kad atskirtumėte serumą ar plazmą nuo gumulėlių).
6. **Šiam tyrimui dozuokite 100 μl standarto, kontrolės ar mėginio.**
7. Įstatykite "HAVM" SPR antgalius ir "HAVM" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
8. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta vartotojo vadove. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
9. Po išdalijimo pipete, buteliukus vėl užkimškite ir padėkite į 2-8°C temperatūrą.
10. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 60 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
11. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas. Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas su fermentu, esančiu vidinėje SPR antgalio pusėje, buvo inkubuotas. RFV (Relative Fluorescence Value) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Paciento RFV interpretuojama VIDAS sistemos sekančiai:

$$i = \text{Tyrimo Reikšmė} = \text{Paciento RFV} / \text{Standarto RFV}$$

Ši Tyrimo Reikšmė ir interpretacijos rezultatas kartu pažymimi pranešime.

Tyrimo Reikšmė interpretuojama sekančiai:

Tyrimo Reikšmė	Interpretacija
$i < 0.4$	Neigiama
$i \geq 0.4$ ir $i < 0.5$	Abejotina
$i \geq 0.5$	Teigiama

** Rekomenduojama kontroliuoti abejotinus rezultatus atliekant naujus tyrimus, naudojant pakartotinius mėginius.

Tyrimo rezultatų interpretacija turi būti atliekama atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokius kitus atliktus tyrimus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su kiekvienu VIDAS HAV IgM rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuoju pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinų vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami įvertinant paciento istoriją ir kitų atliktų tyrimų rezultatus.

ATLIKIMAS

Tyrimai, atlikti naudojantis VIDAS HAVM rodė sekančius rezultatus:

Tikslumas

Atkartojamumas tyrimo serijos ribose:

3 mėginiai buvo tiriami 15 kartų toje pačioje serijoje.

	Numeris	Vidurkis RFV	CV (%)
Neigiamas	15	74.5	4.05
Silpnai teigiamas	15	994	1.79
Stipriai teigiamas	15	2627	1.8

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų:

3 mėginiai buvo tiriami su trigubu pakartojimu 3 skirtingose tyrimų serijose 3 vietose.

	Numeris	Indekso vidurkis	CV (%)
Neigiamas	27	0.05	7.63
Silpnai teigiamas	27	1.01	2.07
Stipriai teigiamas	27	3.45	2.4

Specifiškumas

Iš 544 kraujo donorų, kurie rasti kaip neigiami su kitais imunofermentiniais tyrimais EIA; 538 rasti kaip neigiami ir 3 kaip teigiami su VIDAS HAV IgM, duodantys **santykinį specifiškumą 99.44%***.

*Abejotini rezultatai nebuvo įtraukti į specifiškumo skaičiavimą.

Klinikinių tyrimų studija

Jautrumas buvo tiriamas mėginių serumų iš pacientų su kliniškai ir biologiškai nustatyto hepatito A ar iš rizikos pacientų su anti-HAV IgM, aptiktu naudojant kitus EIA tyrimus.

1) Ūmus hepatitas A ar teigiami anti-HAV IgM antikūnai pacientuose pateikiami arba kaip transaminazės lygio padidėjimas ar kaip rizikos faktorius (kelionė, kontaktas su infekcija etc.):

Iš 205 tirtų serumų:

- 201 buvo rasti kaip teigiami su abiem VIDAS HAV IgM ir lyginamąja EIA technologija,
- 4 buvo abejotini.

2) Monitoruojant 8 kliniškai ir biologiškai nustatytus ūmaus hepatito A atvejus:

Iš 55 tirtų serumų:

- 23 buvo rasti kaip neigiami su VIDAS HAV IgM. Nesutapimai buvo rasti šešiams serumams, tirtiems su EIA technologija, kurie buvo teigiami.
- 30 buvo rasti teigiami su abiem VIDAS HAV IgM ir lyginamąja EIA technologija,
- 2 buvo abejotini.

6 nesutampantys serumai buvo dviejų pacientų, kurie buvo monitoruojami dėl hepatito A. Jie tikriausia turėjo liekamąjį IgM, kuris vėliau buvo nustatytas, naudojant lyginamąsias EIA technologijas.

KRYŽMINIS REAKTYVUMAS IR SUSIJĘ INTERFERENTAI

Tiriamas serumas	Number of positives/total
Anti-HBc + IgM	0 / 14
Anti-CMV + IgM	0 / 28
Anti-VCA + IgM	1 / 19 *
Autoimuninis hepatitas +	0 / 10
Krioglobulinemija +	0 / 22
Reumatoidinis faktorius +	0 / 20
Heterofilinis + antikūnas	0 / 10
Anti-nuklearinis + antikūnas	0 / 6
Anti HCV + antikūnas	0 / 3

* Teigiamas serumas, nustatytas su VIDAS HAV IgM buvo patvirtintas kaip teigiamas su kita EIA technologija, naudota kaip standartas.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimtios ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. PAPAEOANGELOU G.: Epidemiology of hepatitis A in Mediterranean countries. Vaccine, 1992, 10, suppl. 1.: S63 - S66.
2. FAGAN E. A., WILLIAMS R: Fulminant viral hepatitis. Br. Med. Bul. 1990 ; 46: 462 - 480.
3. KURSTAK E.: Current status and issues - Hepatitis A virus infection: diagnostic tests. Springer - Verlag, 1993: 33 - 37.
4. LUNEL F.: les virus des hépatites - choix raisonné des outils diagnostics d'une hépatite: apport de la biologie moléculaire. Coll. Soc. Fr. Microbio. / Virol., 1991, X: 41 - 53.
5. GLIKSON M. et al. Relapsing hepatitis A, Medecine, 1992, 71 (1), 14 - 23.
6. JILG W., BITTNER R., BOCK H. L., CLEMENS R., SCHÄTZL H., SCHMIDT M., ANDRE F. E. and DEINHARDT F.: Vaccination against hepatitis A: comparison of different short-term immunization schedules. Vaccine, 1992, 10, Suppl. 1, S126 - S128.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	In Vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui
Pastaba:	<i>Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.</i>

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/06	07206Q	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ ATKŪRIMAS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/05	07206R	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ ATKŪRIMAS

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausantys prekių ženklai.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS[®] Anti-HCV (HCV)

VIDAS Anti-HCV is an automated qualitative test for use on the instruments of the VIDAS family, for the detection of IgG antibodies to hepatitis C virus (anti-HCV) in human serum or plasma (heparin) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay). The detection of these specific antibodies, in conjunction with other clinical information, aids in the diagnosis of infection in persons with symptoms of hepatitis and in persons at risk for hepatitis C infection.

SUMMARY AND EXPLANATION

The Hepatitis C virus (HCV) discovered in 1989 using advanced molecular biology techniques, was rapidly found to account for the majority of those patients with non-A non-B hepatitis. HCV represents a major worldwide public health problem requiring global action for the diagnosis, treatment and prevention of this infection (1).

HCV is primarily parenterally transmitted through direct blood-to-blood contact between two people: use of unsterilized injection devices and transfusion of unscreened blood or blood products (2). The disease frequently progresses to chronic hepatitis C (80%), exposing patients to a greater risk of hepatic complications such as cirrhosis or hepatocellular carcinoma. (3).

The current standard of treatment for HCV is a combination of two drugs: pegylated interferon and ribavirin, but due to the high genetic variability of HCV (4), it is still only partially effective: viral eradication in less than 50% of patients infected with genotype 1 hepatitis C virus against approximately 80% of patients infected with genotype 2 or 3. New therapeutic options are under study to offer more effective and safer personalized treatments (5,6).

Diagnosis of patients infected with HCV can be performed using two categories of virological tests: indirect tests, and direct tests (7). Indirect serological tests are third-generation enzyme immunoassays that detect antibodies to HCV. The antigens used in the tests to detect antibodies are from the structural and non-structural regions of the HCV (8) (capsid, protein, cofactors, polymerase, etc.). The presence of anti-HCV antibodies indicates that an individual may have been infected with HCV in the past or may have an ongoing HCV infection. To confirm the presence of active HCV infection, a positive serological test can be completed using direct tests (e.g.: molecular assays that detect RNA genomes). The results will be used to guide patient management and determine the optimal duration of treatment.

The VIDAS Anti-HCV assay is a third-generation test using antigens corresponding to the HCV core, NS3 and NS4 proteins for the qualitative detection of anti-HCV antibodies.

PRINCIPLE

The assay principle combines a two-step enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR[®]) serves as the solid phase as well as the pipetting device. Reagents for the assay are ready-to-use and are pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

During the first step, the sample is diluted, and then cycled in and out of the SPR several times. The anti-HCV antibodies present in the sample will bind to the antigens representing the HCV core, NS3 and NS4 proteins coated on the interior of the SPR. Unbound sample components are washed away.

During the second step, mouse monoclonal anti-human IgG antibodies in Fab form, conjugated to recombinant alkaline phosphatase (yeast) are cycled in and out of the SPR several times and will bind to the human Ig bound to the molecules on the solid phase. Further wash steps remove unbound components.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antibody present in the sample. At the end of the assay, the results are automatically calculated by the instrument in relation to the Standard S1 stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS:

60 Strips HCV	STR	Ready-to-use.
60 SPRs HCV (2 x 30)	SPR®	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with antigens representing the HCV core, NS3 and NS4 proteins.
HCV Positive control 1 x 1.9 ml (liquid)	C 1	Pooled human serum or plasma* containing anti-HCV IgG in a phosphate buffer + BSA + preservatives Index: The confidence interval is indicated on the MLE card after the following mention: "Control C1 (+) Test Value Range".
HCV Negative control 1 x 1.9 ml (liquid)	C 2	Phosphate buffer + BSA + preservatives Index: The confidence interval is indicated on the MLE card after the following mention: "Control C2 (-) Test Value Range".
Standard 1 x 1.9 ml (liquid)	S 1	Pooled human serum or plasma* containing anti-HCV IgG in a phosphate buffer + BSA + preservatives The confidence interval in "Relative Fluorescence Value (RFV)" is indicated on the MLE card after the following mention: "Standard (S1) RFV Range".
1 MLE card (Master Lot Entry)		Specifications for the factory master data required to calibrate the test: to read the MLE data, please refer to the User's Manual
1 Package Insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs surface antigen, and antibodies to HIV1 and HIV2. The product has been inactivated. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with the antigens representing the HCV core, NS3 and NS4 proteins. Each SPR is identified by the code "HCV". Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening.**

The Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the HCV strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	Sample diluent: TRIS buffered saline + Tween 20 + BSA + preservatives (600 µl)
3 – 4 – 5 – 7 – 8	Wash buffer: TRIS buffered saline + Tween 20 + preservatives (600 µl)
6	Conjugate: mouse monoclonal anti-human IgG antibodies conjugated to recombinant ALP in Phosphate buffered saline + protein stabilizer + preservatives (400 µl)
9	Reactive diluent: Phosphate buffered saline + preservative (400 µl)
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l sodium azide (300 µl).

*** IRRITANT reagent:**

- **R 36:** Irritating to eyes.
- **S 26:** In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

For further information, refer to the Safety Data Sheet available on request.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 µl.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- Instrument of the VIDAS family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - Latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPR®s if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the box label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the risk phrase "R" and the precautions "S" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS Anti-HCV kit at 2-8°C.
- Do not freeze reagents.
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **To maintain stability of the remaining SPRs, carefully reseal the pouch after use with the desiccant inside and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS**Specimen type and collection**

Human serum or plasma

Types of tubes validated:

- Plain tube,
 - Tube with lithium heparin,
 - Tube with sodium heparin,
 - Tube with lithium heparin and separation gel,
 - Plastic tube with clot activator,
 - Plastic tube with clot activator and separation gel.
- The use of heat-inactivated sera has not been validate.

Note: Depending on the manufacturer, blood collection tubes may contain materials and additives that could generate different test results.

It is the responsibility of each laboratory to validate use of these tubes in accordance with the manufacturer's recommendations for use.

Specimen preparation

Plain tubes: wait for samples to coagulate and **centrifuge** according to the tube manufacturer's recommendations to eliminate fibrin.

Other tubes: follow the tube manufacturer's recommendations for use.

Frozen-stored samples: after thawing, these samples must be homogenized before analysis.

Sample-related interference

None of the following factors have been found to significantly influence this assay:

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin: 0 to 300 µmol/l (monomer),
- lipemia (after spiking samples with lipids: 0 to 30 mmol/l equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: 0 to 220 mg/ml or 376 µmol/l).

However, it is recommended not to use samples that are clearly hemolyzed, lipemic or icteric and, if possible, to collect a new sample.

Do not inactivate samples.**Specimen stability**

Serum and plasma samples separated from the clot, can be stored at 2-8 °C in stoppered tubes for 7 days; if longer storage is required, freeze the sera or plasma at -25 ± 6°C.

Do not exceed 3 freeze/thaw cycles.

A study performed on samples frozen for 12 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

VIDAS PTC protocol data entry

When using the assay for the first time, **and before reading the MLE data**, scan the bar code(s) (at the end of the package insert) using the instrument's external bar code reader. This reading will allow VIDAS PTC protocol data to be transferred to the instrument software for its update. These data should only be read the first time the assay is used.

Master lot data entry

Note: When using the assay for the first time, enter the VIDAS PTC protocol (bar codes at the end of the package insert) before reading the MLE data. If the MLE data have been read before the VIDAS PTC protocol, read the MLE data again.

Before each new lot of reagents is used, specifications (or factory master calibration data) must be entered into the instrument using the MLE data. If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results. The master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data manually or automatically depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed upon receipt of a new lot of reagents after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 28 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by "S1", must be tested **in duplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator. They can be used immediately.**
2. Use one "HCV" strip and one "HCV" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "HCV" code on the instrument. The standard must be identified by "S1", and tested in duplicate. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control is to be tested, it should be identified by "C2".
4. If necessary, clarify samples by centrifugation.
5. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).
6. **For this test, the standard, control, and sample test portion is 100 µl.**
7. Insert the "HCV" SPRs and the "HCV" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
8. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.

9. Restopper the vials and return them to 2-8°C after pipetting.
10. The assay will be completed within approximately 40 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
11. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The results are automatically calculated by the instrument.

The patient RFV is interpreted as follows:

Test value = (patient RFV / standard RFV).

This test value and the interpretation are also included on the result sheet. The interpretation depending on the test value is as follows:

Test value (TV)	Interpretation
<1.00	negative
≥1.00	positive

All positive patient results must be verified in duplicate. If at least one of the repeat values is positive, the patient result is considered as positive. In that case, additional tests should be performed (another immunoassay or HCV marker) on the same sample or on a second one.

Note: In all cases, refer to current national guidelines concerning HCV diagnosis.

Interpretation of VIDAS Anti-HCV test results should be made taking into consideration the patient history and the results of any other tests or hepatitis C markers.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS Anti-HCV kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

For the diagnosis of HCV infection, the serological results should be used and interpreted taking into account the patient history, the clinical record, and further tests.

A negative test result does not exclude the possibility of exposure to HCV or infection with HCV. Anti-HCV antibodies may be undetectable in some stages of the infection (acute phase of hepatitis or presence of a serological scar) and in some clinical conditions (immunosuppression) (7,9).

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies against reagent components.

This test has not been validated for use with any specimen matrices other than human serum or plasma.

RANGE OF EXPECTED VALUES(1)

Hepatitis C has a worldwide prevalence of 2-3% that varies according to country:

Region of the world	Anti-HCV prevalence (%)
Europe	2.3
Africa	3.2
Americas	1.5
Australia & Oceania	1.2
Asia	2.1
Middle East	4.7
Total	2.4

PERFORMANCE

The following study results demonstrate the conformity of VIDAS Anti-HCV to the Common Technical Specifications of 98/79/CE Directive:

1. Specificity for blood donor population:

5104 blood donor samples (including 2904 fresh samples with a negative status collected ≤ 24 hours previously) obtained from 2 blood transfusion centers, were tested using the VIDAS Anti-HCV assay.

VIDAS Anti-HCV	Status	
	Positive	Negative
Positive	0	20
Negative	0	5084

Diagnostic specificity of the VIDAS Anti-HCV assay on this population: 99.61%

(95% confidence interval: 99.40% - 99.76%)

2. Clinical specificity for hospitalized patients

200 samples with a negative status were tested using the VIDAS Anti-HCV assay.

Diagnostic specificity of the VIDAS Anti-HCV assay on this population: 99.50%.

(95% confidence interval: 97.25% - 99.99%)

3. Diagnostic sensitivity

439 samples with a positive status, including 102 fresh samples (collected ≤ 24 hours previously), were tested using the VIDAS Anti-HCV assay.

Genotypes 1 to 6 were tested:

Genotype	Number tested
1	21
2	21
3	23
4	22
(including non-a sub-types)	
5	6
6	2

Results on tested populations:

Population	Positive VIDAS Anti-HCV /total tested	Diagnostic sensitivity observed (95% confidence interval)
HCV/HIV-negative patient	254/254	100% [98.56% - 100%]
HCV/HIV-positive patient	60/61*	98.36% [91.20% - 99.96%]
Patient with unknown HCV/HIV status	124/124	100% [97.07% - 100%]
Total HCV population	438/439*	99.77% [98.74% - 99.99%]

* The patient who was not detected using VIDAS Anti-HCV either had a low antibody level or was not detected using equivalent methods.

4. Sensitivity for seroconversion panels

Testing of 30 seroconversion panels demonstrated the precocity of detection of the VIDAS Anti-HCV assay. The results are comparable to those obtained using the most sensitive methods.

5. Precision

The repeatability and reproducibility were determined at two sites and calculated according to the recommendations of the CLSI® documents EP5-A2 / EP12-A2.

Four human samples were tested in duplicate using two lots of reagents. Testing was performed twice a day for 10 days on three instruments at one experimental site (N=120). Each reagent lot used a single calibration curve throughout the study. Data from this study are summarized in the following table:

Sample ID / Target value	Sample 1		Sample 2		Sample 3		Sample 4	
	0.26		0.93		1.08		1.19	
	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
Repeatability	0.01	5.6	0.04	4.3	0.05	4.8	0.06	4.7
Reproducibility	0.07	26.9	0.05	5.9	0.07	6.3	0.07	5.8

6. Cross-reactivity

273 samples from patients with a physiological status that can potentially interfere with the detection of hepatitis C antibodies, were tested using VIDAS Anti-HCV. All of the samples were found to be negative with another EIA method (except one CMV IgG+ sample). No disease-related interference was observed for VIDAS Anti-HCV.

	VIDAS Anti-HCV
HSV +	0/10
VZV +	0/10
EBV +	0/10
HIV +	0/10
CMV IgG +	1/11*
LYME Ig+	0/10
HAV IgG +	0/10
HVB (HBcT +)	0/8
HVB (Ag HBs +)	0/10
Syphilis	0/10
Rubella IgG +	0/10
Toxoplasmosis IgG +	0/10
Rheumatoid factor	0/10
Anti-Nuclear Antibody	0/10
Anti-E. coli antibody	0/10
Anti-Pichia Antibody	0/10
Pregnant women**	0/114

* The reference EIA method also showed one false positive sample, but on a different sample.

** including 10 multipara.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. LAVANCHY D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus - Clin Microbiol Infect 2011; 17: 107-115.
2. ALTER MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection, World J Gastroenterol 2007; 13(17): 2436-2441.
3. GURTSEVITCH VE. Human Oncogenic Viruses: Hepatitis B and Hepatitis C Viruses and Their Role in Hepatocarcinogenesis, Biochemistry (Moscow), 2008, 73(5): 504-513.
4. SIMMONDS P. et al. Consensus Proposals for a Unified System of Nomenclature of Hepatitis C Virus Genotypes, HEPATOLOGY 2005;42: 962-973.
5. VERMEHREN J, SARRAZIN C. New HCV therapies on the horizon, Clin Microbiol Infect 2011; 17: 122-134.
6. WEBSTER D.P, KLENERMAN P., COLLIER J., JEFFERY K. JM. Development of novel treatments for hepatitis C, Lancet Infect Dis 2009; 9: 108-17.
7. CHEVALIEZ S. Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection, Clin Microbiol Infect 2011; 17: 116-121.
8. PENIN F, DUBUISSON, REY F-A, MORADPOUR D, ET PAWLOTSKY JM. Structural Biology of Hepatitis C Virus, HEPATOLOGY 2004; 39: 5-19.
9. THIO CL, NOLT KR, ASTEMBORSKI J, VLAHOV D, NELSON KE et THOMAS DL. Screening for Hepatitis C Virus in Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals, Journal of clinical microbiology, Feb. 2000, 38(2): 575-577.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limitation
	Use by
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

BIOMERIEUX, the blue logo, VIDAS and SPR are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its subsidiaries.

CLSI is a trademark belonging to Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



 **bioMérieux SA**
Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

RCS LYON 673 620 399
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS[®] Anti-HCV (HCV)

VIDAS Anti-HCV yra automatizuotas kokybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, hepatito C viruso (anti-HCV) IgG antikūnų nustatymui žmogaus serume ar plazmoje (heparinas), naudojant ELFA technologiją (Imunofermentinis fluorescencinis metodas). Šių specifinių antikūnų nustatymas kartu su kita klinicine informacija, yra pagalbinė priemonė diagnozuojant infekciją asmenims su hepatito simptomais ir asmenims, esantiems padidintoje rizikos grupėje dėl užsikrėtimo hepatitu C.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Hepatito C virusas (HCV) buvo atrastas 1989m. naudojant pažangias molekulinės biologijos technologijas ir buvo greitai nustatyta, jog juo serga dauguma pacientų, kuriems nebuvo nustatyti A ir B hepatitai. HCV yra didelė pasaulinio masto visuomenės sveikatos problema, kuri reikalauja globalinių veiksmų dėl šios infekcijos diagnostikos, gydymo ir prevencijos (1).

HCV pirmiausiai yra perduodamas dviejų žmonių tiesioginio kraujo kontakto metu: nesterilių injekcijos priemonių naudojimas ar nepatikrinto kraujo bei jo produktų perpylimas (2). Liga dažnai progresuoja į chronišką hepatitą C (80%), taip pacientui sukeliant didesnę komplikacijų, tokių kaip cirozė ar hepatoceliulinė karcinoma, pavojų (3).

Dabartinis HCV gydymo standartas yra dviejų vaistų kombinacija: pegiliuotas interferonas ir ribavirinas, tačiau dėl aukšto HCV genetinio kintamumo (4), vaistai yra tik dalinai efektyvūs: viruso išnaikinimas yra mažesnis nei 50% pacientams, infekuotiems hepatito C viruso 1 genotipu, ir 80% pacientams, infekuotiems 2 ar 3 genotipu. Naujų efektyvesnių ir saugiai personalizuojamų gydymo būdų yra vis dar ieškoma (5,6).

Pacientų, infekuotų HCV diagnozė gali būti atliekama naudojant dvi virologinių tyrimų kategorijas: netiesioginius tyrimus ir tiesioginius tyrimus (7). Netiesioginiai serologiniai tyrimai yra trečios kartos fermentiniai tyrimai, kurie aptinka antikūnus prieš HCV. Tyrime naudojami antigenai yra iš struktūrinių arba nestruktūrinių HCV regionų (8) (kapsidė, baltymas, kofaktoriai, polimerazė, ir t.t.). Anti-HCV antikūnų buvimas indikuoja apie tai, jog pacientas gali būti infekuotas HCV praeityje arba turi aktyvią infekcijos fazę. Norint patvirtinti aktyvios HCV infekcijos buvimą, galima atlikti teigiamą serologinį tyrimą naudojant tiesioginius tyrimus (pvz., molekuliniai tyrimai, kurių metu yra aptinkami RNR genomai). Rezultatai yra naudojami parenkant pacientui gydymą ir nustatant optimalią gydymo trukmę.

VIDAS Anti-HCV tyrimas yra trečios kartos tyrimas, kuriame yra naudojami antigenai, atitinkantys HCV branduolį, NS3 ir NS4 baltymus, kurių dėka yra atliekamas kokybinis anti-HCV antikūnų aptikimas.

PRINCIPAS

Tyrimo principas grindžiamas dviejų etapų imunofermentiniu sumuštinio metodu su galutiniu fluorescenciniu nustatymu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR[®]) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Pirmojo etapo metu, mėginys yra praskiedžiamas ir keletą kartų keliauja į SPR antgalį ir iš jo. Anti-HCV antikūnai, esantys mėginyje, susiriša su antigenais su HCV branduoliu, NS3 ir NS4 baltymais, padengtais vidinėje SPR antgalio pusėje. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

Antrojo etapo metu, pelės monokloniniai anti-žmogaus IgG antikūnai Fab formoje, konjuguoti su rekombinantine šarmine fosfataze (mielės), keletą kartų cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo ir tada susiriša su žmogaus Ig, surištu su molekulėmis ant kietos fazės. Kitų plovimo etapų metu yra pašalinami nesusirišę komponentai.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šio substrato hidrolizę į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas mėginyje esančių antikūnų koncentracijai. Tyrimo pabaigoje rezultatai instrumento yra analizuojami automatiškai atsižvelgiant į atmintyje saugomą standartą S1. tada rezultatai yra atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS:

60 HCV strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 SPR HCV antgalių (2 x 30)	SPR®	Paruošti naudojimui. Vidinė SPR pusė yra padengta antigenais, atitinkančiais HCV branduolį, NS3 ir NS4 baltymus.
HCV teigiama kontrolė 1 x 1.9 ml (skysta)	C 1	Žmogaus serumo ar plazmos mišinys* su anti-HCV IgG fosfato buferyje + BSA + konservantai Indeksas: pasiklovimo intervalas yra nurodytas ant MLE kortelės po pranešimo: "Control C1 (+) Test Value Range".
HCV neigiama kontrolė 1 x 1.9 ml (skysta)	C 2	Fosfato buferis + BSA + konservantai Indeksas: pasiklovimo intervalas yra nurodytas ant MLE kortelės po pranešimo: "Control C2 (-) Test Value Range".
Standartas 1 x 1.9 ml (skystas)	S 1	Žmogaus serumo ar plazmos mišinys* su anti-HCV IgG fosfato buferyje + BSA + konservantai Pasiklovimo intervalas RFV ("Relative Fluorescence Value") vienetais yra nurodytas ant MLE kortelės po pranešimo: "Standard (S1) RFV Range".
1 MLE kortelė (Master Lot Entry)		Specifikacijos gamykliniams duomenims, kurie reikalingi tyrimo kalibravimui: dėl MLE duomenų nuskaitymo žiūrėkite naudojimo instrukciją
1 Pakuotės aprašymas, pateikiamas rinkinyje arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniam antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1 ir ŽIV-2. Produktas yra inaktyvuotas. Kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR antgalis

SPR antgalio gamybos proceso metu, jo vidinis paviršius buvo padengtas antigenais, reprezentuojančiais HCV branduolį, NS3 ir NS4 baltymus. Kiekvienas SPR yra identifiкуotas "HCV" kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR skaičių ir, **po atidarymo, sandariai jį uždarykite.**

Strypelis

Strypelyje yra 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Strypelio centrinėje sekcijoje esančiuose šulinėliuose yra tyrimui reikalingi įvairūs reagentai.

HCV strypelio aprašymas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: TRIS buferizuota druska + Tween 20 + BSA + konservantai (600 µl)
3 – 4 – 5 – 7 – 8	Praplovimo buferis: TRIS buferizuota druska + Tween 20 + konservantai (600 µl)
6	Konjugatas: pelės monokloniniai anti-žmogaus IgG antikūnai, konjuguoti su rekombinantiniu ALP fosfato buferizuotoje druskoje + baltymų stabilizatorius + konservantai (400 µl)
9	Reaktyvus skiediklis: fosfato buferizuota druska + konservantai (400 µl)
10	Nuskaitymo kiuvetė su substratu: 4-Metil-umbeliferil fosfatas (0.6 mmol/l) + dietanolaminas (DEA*) (0.62 mol/l ar 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l natrio azidas (300 µl).

*** DIRGINANTIS reagentas:**

- **R 36:** dirginantis akis.
 - **S 26:** įvykus kontaktui su akimis, tuojau pat plaukite dideliu kiekiu vandens ir kreipkitės medicininės pagalbos.
- Dėl papildomos informacijos, žiūrėkite Saugos Duomenų Lapus, pateikiamus pagal pareikalavimą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS IR VIENKARTINĖS PRIEMONĖS

- Dozatorius su vienkartiniais antgaliais kalibruotas dozuoti po 100 µl.
- Vienkartinės pirštinės be pudros.
- Dėl kitų specifinių medžiagų ir vienkartinių priemonių prašome žiūrėti instrumento naudojimo instrukciją.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite *Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas*).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR® antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar vienkartinių priemonių) iš skirtingų gaminių serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengti šių junginių susikaupimo.
- Substratas, esantis 10 šulinėlyje, turi dirginančio agento (6.6% dietanolaminas). Žiūrėkite į rizikos grupės "R" frazę ir "S" atsargumo priemonės aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukensminus skystu detergentu arba buitinyje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žiūrėkite Naudotojo Instrukciją dėl išsipyliusių skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentas turi būti reguliariai valomas ir nukensminamas (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją).

LAIKYMO SĄLYGOS

- VIDAS Anti-HCV rinkinį laikykite prie 2-8°C.
- Neužšaldykite reagentų.
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugerėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI**Mėginio tipas ir surinkimas**

Žmogaus serumas ar plazma

Patvirtintų mėgintuvėlių tipai:

- Tuščias mėgintuvėlis,
- Mėgintuvėlis su ličio heparinu,
- Mėgintuvėlis su natrio heparinu,
- Mėgintuvėlis su ličio heparinu ir skiriamuoju geliu,
- Plastikinis mėgintuvėlis su krešėjimo aktyvatoriumi,
- Plastikinis mėgintuvėlis su krešėjimo aktyvatoriumi ir skiriamuoju geliu.

Karčiu inaktyvuoto serumo naudojimas nėra patvirtintas.

Pastaba: priklausomai nuo gamintojo, kraujo surinkimo mėgintuvėliuose gali būti medžiagų ir priedų, generuojančių skirtingus tyrimo rezultatus.

Kiekviena laboratorija yra atsakinga už pasirinktų mėgintuvėlių pasitvirtinimą laikantis gamintojo pateiktomis naudojimo rekomendacijomis.

Mėginio paruošimas

Tušti mėgintuvėliai: palaukite, kol mėginys koaguliuos ir **centrifuguokite** pagal mėgintuvėlių gamintojo rekomendacijas fibrino eliminavimui.

Kiti mėgintuvėliai: laikykitės mėgintuvėlių gamintojo pateiktomis naudojimo rekomendacijomis.

Užšaldyti mėginiai: po atšildymo prieš tyrimą šie mėginiai turi būti homogenizuojami.

Mėginio interferencija

Nė vienas šių faktorių neturėjo žymios įtakos šiam tyrimui:

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo: nuo 0 iki 300 µmol/l (monomeras),
- lipemija (po lipidų įdėjimo: nuo 0 iki 30 mmol/l ekvivalento trigliceridais),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo: nuo 0 iki 220 mg/ml ar 376 µmol/l).

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių kurie yra aiškiai hemolizuoti, lipemiški ar isteriški ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius.

Mėginių neinaktyvuokite.**Mėginių stabilumas**

Serumo ir plazmos mėginiai, atskirti nuo krešulių, gali būti laikomi užkimštuose mėgintuvėliuose iki 7 prie 2-8 °C; jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, serumą ar plazmą užšaldykite prie -25 ± 6°C.

Galimi 3 užšaldymo/atšildymo ciklai.

Tyrimai, atlikti su 12 mėnesių užšaldytais mėginiais parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl išsamių instrukcijų, žiūrėkite naudojimo instrukciją

VIDAS PTC protokolo duomenų įvedimas

Tyrimą naudojant pirmą kartą ir prieš nuskaitymą MLE duomenis, nuskenuokite brūkšninį kodą (-us) (pakuotės aprašymo pabaigoje) naudodamiesi instrumento išoriniu brūkšninių kodų skaitytuvu. Šis nuskaitymas perkels VIDAS PTC protokolo duomenis į instrumento programinę įrangą atnaujinimui. Šie duomenis turi būti nuskaitytos tik prieš pirmą kartą naudojant tyrimą.

Kalibravimo kreivė

Pastaba: tyrimą naudojant pirmą kartą, prieš nuskaitymą MLE duomenis įveskite VIDAS PTC protokolą (brūkšniniai kodai, esantys pakuotės aprašymo pabaigoje). Jei MLE duomenis buvo nuskaityti prieš VIDAS PTC protokolą, MLE duomenis nuskaitykite dar kartą.

Prieš naudojant naujos serijos reagentus, specifikacijos (gamykliniai kalibravimo kreivės duomenys) turi būti įvestos į instrumentą naudojantis MLE duomenimis. Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimą, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų. Serijos duomenų įvedimas turi būti atliekamas vieną kartą kiekvienai serijai.

Duomenis iš MLE kortelės galima įvesti automatiškai ar rankiniu būdu, priklausomai nuo instrumento (žr. naudojimo instrukciją).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis rinkinyje pateikiamu standartu, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 28 dienos. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui dvigubu pakartojimu (žr. naudojimo instrukciją). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus. Jie gali būti naudojami iškart.
2. Naudokite vieną "HCV" strypelį ir vieną "HCV" SPR antgalį kiekvienam tiriamam mėginiui, kontrolei ar standartui. **Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Instrumente tyrimas yra identifikuojamas "HCV" kodu. Standartas turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas dvigubu pakartojimu. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C2".
4. jei reikia, mėginius centrifuguokite.
5. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (serumui ir plazmai – atskirti nuo dalelių).

6. Šiam tyrimui standarto, kontrolės ir mėginio tiriamoji dalis yra 100 µl.

7. Įstatykite "HCV" SPR antgalius ir "HCV" strypelius į instrumentą. patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir reagentų strypelio.
8. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta naudojimo instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumente yra atliekami automatiškai.
9. Po dozavimo, užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į 2-8°C temperatūrą.
10. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 40 minučių. Pasibaigus tyrimui, iš instrumento išimkite SPR antgalius ir strypelius.
11. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas. Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas su fermentu, likusiu vidinėje SPR pusėje. RFV (santykinė fluorescencijos vertė) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Paciento RFV sistemoje yra interpretuojama šitaip:

Tyrimo vertė = (paciento RFV / standartinė RFV).

Tyrimo vertė ir interpretacija taip pat yra atspausdinami rezultatų lape. Priklausomai nuo tyrimo verčių rezultatų, interpretacija yra tokia:

Tyrimo vertė (TV)	Interpretacija
<1.00	neigiamas
≥1.00	teigiamas

Visi teigiami pacientų rezultatai turi būti patvirtinami dvigubu pakartojimu. Jei bent viena iš pakartojimo verčių yra teigiama, paciento rezultatas yra laikomas teigiamu. Šiuo atveju, turi būti atliekami papildomi tyrimai (kitas imunofermentinis tyrimas ar HCV žymuo) su tuo pačiu ar antru paciento mėginiu.

Pastaba: visais atvejais, žiūrėkite dabartines valstybines direktyvas dėl HCV diagnozės.

VIDAS Anti-HCV tyrimų rezultatų interpretavimas turi būti atliekamas atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokius kitus atliktus tyrimus ar hepatito C žymenis.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kiekviename VIDAS Anti-HCV rinkinyje yra viena teigiama ir viena neigiama kontrolės.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinų verčių.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti kokybės kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

Atliekant HCV infekcijos diagnozę, turi būti naudojami serologinių tyrimų rezultatai; interpretuojama turi būti atsižvelgiant į paciento istoriją, klinikinius įrašus ir kitus tyrimus.

Neigiamas rezultatas neatmeta HCV ar infekcijos su HCV buvimo. Anti-HCV antikūnai gali būti neaptinkami kai kuriose infekcijos stadijose (ūmi hepatito fazė arba serologinis randas) ir esant kai kurioms klinikinėms būklėms (nusilpusi imuninė sistema) (7,9).

Interferencija gali būti pastebima su tam tikru serumu, turinčiu antikūnų prieš reagento komponentus.

Šis tyrimas nėra patvirtintas naudojimui su kitomis nei žmogaus serumo ar plazmos mėginių matricomis.

TIKĖTINŲ VERČIŲ RIBOS (1)

Hepatitis C yra paplitęs pasauliniu mastu 2-3%, priklausomai nuo šalies:

Pasaulio regionas	Anti-HCV paplitimas (%)
Europa	2.3
Afrika	3.2
Amerika	1.5
Australija ir Okeanija	1.2
Azija	2.1
Vidurio Rytai	4.7
Iš viso	2.4

ATLIKIMAS

Atliktos studijos rodo VIDAS Anti-HCV atitikimą su 98/79/CE Direktyvos Bendrosiomis techninėmis specifikacijomis:

1. Specifiškumas kraujo donorų populiacijoje:

5104 kraujo donorų mėginiai (įskaitant 2904 šviežius mėginius su neigiamu statusu, surinktus prieš ≤ 24 valandas), gauti iš 2 kraujo perpylimo centrų, buvo tiriami naudojant VIDAS Anti-HCV tyrimą.

VIDAS Anti-HCV	Statusas	
	Teigiamas	Neigiamas
Teigiamas	0	20
Neigiamas	0	5084

VIDAS Anti-HCV tyrimo diagnostinis specifiškumas su šia populiacija: 99.61%
(95% pasikiojimo intervalas: 99.40% - 99.76%)

2. Klinikinis specifiškumas hospitalizuotiems pacientams

200 neigiamo statuso mėginių buvo tiriama naudojant VIDAS Anti-HCV tyrimą.

VIDAS Anti-HCV tyrimo diagnostinis specifiškumas su šia populiacija: 99.50%.

(95% pasikiojimo intervalas: 97.25% - 99.99%)

3. Diagnostinis jautrumas

439 teigiamo statuso mėginių, įskaitant 102 šviežius mėginius (surinkti prieš ≤ 24), buvo tiriami naudojant VIDAS Anti-HCV tyrimą.

Tirti 1-6 genotipai:

Genotipas	Ištirtas skaičius
1	21
2	21
3	23
4 (įskaitant nesubtipinius)	22
5	6
6	2

Ištirtų populiacijų rezultatas:

Populiacija	Teigiamas VIDAS Anti-HCV /iš viso tirta	Stebėtas diagnostinis jautrumas (95% pasikiojimo intervalas)
HCV/ŽIV-neigiamas pacientas	254/254	100% [98.56% - 100%]
HCV/ŽIV-teigiamas pacientas	60/61*	98.36% [91.20% - 99.96%]
Pacientas su nežinomu HCV/ŽIV statusu	124/124	100% [97.07% - 100%]
Bendra HCV populiacija	438/439*	99.77% [98.74% - 99.99%]

* Pacientui nebuvo atliktas aptikimas naudojant VIDAS Anti-HCV dėl žemo antikūnų lygio arba aptikimas buvo negalimas naudojant ekvivalentiškus metodus.

4. Serokonversiškų panielių jautrumas

30 serokonversiškų panielių tyrimas pademonstravo VIDAS Anti-HCV tyrimo ankstyvą aptikimą. Rezultatai yra lyginami su rezultatais, gautais naudojant jautriausius metodus.

5. Preciziškumas

Atkartojamumas ir atkuriamumas buvo nustatomi dviejose vietose ir buvo apskaičiuoti pagal CLSI® dokumentų EP5-A2 / EP12-A2 rekomendacijas.

Keturi žmogaus mėginiai buvo tiriami dvigubu pakartojimu naudojant dvi skirtingas reagentų serijas. Tyrimas buvo atliekamas dukart dienoje 10 dienų su trimis skirtingais instrumentais vienoje eksperimentinėje vietoje (N=120). Kiekvienai naudotai reagentų serijai buvo naudojama viena kalibracijos kreivė visos studijos metu. Šios studijos tyrimų rezultatai yra pateikiami šioje lentelėje:

Mėginio ID / Taikinio vertė	Mėginys 1		Mėginys 2		Mėginys 3		Mėginys 4	
	0.26		0.93		1.08		1.19	
	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)
Atkartojamumas	0.01	5.6	0.04	4.3	0.05	4.8	0.06	4.7
Atkuriamumas	0.07	26.9	0.05	5.9	0.07	6.3	0.07	5.8

6. Kryžminis reaktyvumas

273 mėginiai, surinkti iš pacientų su fiziologiniu statusu, kuris potencialiai gali interferuoti su hepatito C antikūnų aptikimu, buvo tiriami naudojant VIDAS Anti-HCV. Nustatyta, kad visi mėginiai buvo neigiami su kitu EIA metodu (išskyrus vieną CMV IgG+ mėginį). VIDAS Anti-HCV tyrime nepastebėta jokių interferencijų, susijusių su ligomis.

	VIDAS Anti-HCV
HSV +	0/10
VZV +	0/10
EBV +	0/10
HIV +	0/10
CMV IgG +	1/11*
LYME Ig+	0/10
HAV IgG +	0/10
HVB (HBcT +)	0/8
HVB (Ag HBs +)	0/10
Sifilis	0/10
Raudonukė IgG +	0/10
Toksoplazmozė IgG +	0/10
Reumatoidinis faktorius	0/10
Anti-nuklearinis antikūnas	0/10
Anti-E. coli antikūnas	0/10
Anti-Pichia antikūnas	0/10
Nėščia moteris**	0/114

* Referentinis EIA metodas taip pat parodė vieną klaidingai teigiamą rezultatą, tačiau su kitu mėginiu.

** įskaitant 10 daugiakarčių.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. LAVANCHY D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus - Clin Microbiol Infect 2011; 17: 107-115.
2. ALTER M.J. Epidemiology of hepatitis C virus infection, World J Gastroenterol 2007; 13(17): 2436-2441.
3. GURTSEVITCH VE. Human Oncogenic Viruses: Hepatitis B and Hepatitis C Viruses and Their Role in Hepatocarcinogenesis, Biochemistry (Moscow), 2008, 73(5): 504-513.
4. SIMMONDS P. et al. Consensus Proposals for a Unified System of Nomenclature of Hepatitis C Virus Genotypes, HEPATOLOGY 2005;42: 962-973.
5. VERMEHREN J, SARRAZIN C. New HCV therapies on the horizon, Clin Microbiol Infect 2011; 17: 122-134.
6. WEBSTER D.P, KLENERMAN P., COLLIER J., JEFFERY K. JM. Development of novel treatments for hepatitis C, Lancet Infect Dis 2009; 9: 108-17.
7. CHEVALIEZ S. Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection, Clin Microbiol Infect 2011; 17: 116-121.
8. PENIN F, DUBUISSON, REY F-A, MORADPOUR D, ET PAWLITSKY JM. Structural Biology of Hepatitis C Virus, HEPATOLOGY 2004; 39: 5-19.
9. THIO CL, NOLT KR, ASTEMBORSKI J, VLAHOV D, NELSON KE et THOMAS DL. Screening for Hepatitis C Virus in Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals, Journal of clinical microbiology, Feb. 2000, 38(2): 575-577.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinyje skaitas <n> tyrimų

BIOMERIEUX, mėlynasis logotipas, VIDAS ir SPR yra naudojami, laukiantys registravimo ir/ar registruoti prekybiniai ženklai, priklausantys bioMérieux SA ar vienam iš filialų.

CLSI yra prekybinis ženklas, priklausantis Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Bet kuris kitas pavadinimas ar prekybinis ženklas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS® TOXO IgM (TXM)

VIDAS TOXO IgM is an automated qualitative test for use on the VIDAS family instruments, for the detection of anti-toxoplasma IgM in serum using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Toxoplasma gondii, an obligate intracellular protozoan parasite, is a significant pathogen in humans. The parasite, whose primary host is the Felidae, is scattered in nature and infects numerous other mammals (1).

Toxoplasmosis is usually benign or asymptomatic in immunocompetent subjects, but can have severe consequences if it occurs in immunodeficient subjects or fetuses. Congenital toxoplasmosis connected with maternal contamination prior to conception is exceptional and most often occurs in immunocompromised women (11). Women who are seronegative are at risk of becoming infected during gestation. The possible ensuing fetal transmission is due to the transplacental migration of toxoplasma during the acute phase of the infection. The frequency and severity of the fetal infection will depend on a number of factors including the virulence of the infecting strain, the size of the original inoculum, the immune response of the patient and when, during gestation, the mother became infected (2-7).

The diagnosis of *T. gondii* infection is most commonly made by biological examination: specific immunoglobulin detection (IgM and IgG) (1, 4, 6).

The diagnosis of an acute acquired infection during pregnancy is established by demonstration of a seroconversion, or by a significant rise in antibody titer in two sequential sera assayed concomitantly (7-10).

VIDAS TOXO IgM is intended for use as an aid in the determination of the immune status of patients.

PRINCIPLE

The assay principle combines an enzyme immunoassay method by immunocapture with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR®) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After a sample dilution step, the IgM are captured by the polyclonal Ab coating the interior of the SPR. The anti-toxoplasma IgM are specifically detected by inactivated toxoplasma antigen (RH Sabin strain), which is itself revealed by an alkaline phosphatase-labeled murine monoclonal anti-toxoplasma antibody (anti-P30).

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antibodies present in the sample. At the end of the assay, an index is automatically calculated by the instrument in relation to the S1 standard stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS):

60 TXM strips	STR	Ready-to-use.
60 TXM SPRs 2 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with anti-human μ chain antibodies (goat).
Positive control TXM 1 x 2 ml (liquid)	C1	Human serum* containing anti-Toxoplasma IgM + protein stabilizer + 1 g/l sodium azide. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1 (+) Test Value Range").
Negative control TXM 1 x 2 ml (liquid)	C2	Human serum* negative for anti-Toxoplasma IgM + protein stabilizer + 1 g/l sodium azide.
Standard TXM 1 x 1 ml (liquid)	S1	Human serum* containing anti-Toxoplasma IgM + protein stabilizer + 1 g/l sodium azide.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test:		
- MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or - MLE bar codes printed on the box label.		
1 Package Insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib .		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR® is coated during production with anti-human μ chain antibodies (goat). Each SPR is identified by the TXM code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the TXM strip

1	Sample well.
2	Serum diluent: TRIS buffer (50 mmol/l) pH 7.4 + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (300 μ l).
3	Pre-wash buffer: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (600 μ l).
4 - 5 - 7 - 8	Wash buffer: TRIS (50 mmol/l) pH 7.4 + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (600 μ l).
6	Conjugate: alkaline phosphatase-labeled immune complex (toxoplasma antigen RH Sabin strain grown in mice (12) - mouse monoclonal anti-P30 antibodies) + 0.9 g/l sodium azide + 0.02% gentamicin (400 μ l).
9	Empty well
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl-phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/l sodium azide (300 μ l).

* Signal Word: **DANGER**



Hazard statement

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 100 μ l.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- Instrument of the VIDAS family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory Biosafety Manual - WHO - Geneva - latest Edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents.

It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).

- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.

- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS TXM kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR® pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection:

Serum

It is recommended that each laboratory checks the compatibility of collection tubes used.

The use of cord blood or neonatal sera has not been validated. For these specimens, we recommend the use of the Toxo-ISAGA technique reference 75 361.

Since the use of hemolyzed, icteric or lipemic samples has not been validated; it is recommended to collect a new sample.

Heat inactivated sera (56°C for 30 minutes) may be tested with VIDAS TOXO IgM.

Specimen stability

Samples can be stored at 2-8°C in stoppered tubes for up to 7 days; if longer storage is required, freeze the sera at -25 ± 6 °C.

Avoid successive freezing and thawing.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master lot data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested in **duplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
 2. Use one "TXM" strip and one "TXM" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
 3. The test is identified by the "TXM" code on the instrument. The standard must be identified by "S1", and tested in **duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
 4. If necessary, clarify samples by centrifugation.
 5. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum separated from the pellet).
6. **For this test, the standard, control, and sample test portion is 100 µl.**
7. Insert the "TXM" SPRs and "TXM" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
 8. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
 9. Restopper the vials and return them to 2-8°C after pipetting.
 10. The assay will be completed within approximately **40 minutes**. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
 11. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The instrument calculates a test value for each sample (index), which is the ratio between its RFV and that of the memorized standard.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed or other IgM assay methods.

As no international standard is available for the determination of anti-toxoplasma IgM, the VIDAS TOXO IgM reagent is calibrated against collection sera.

Thresholds and interpretation of results

Index	Interpretation
$i < 0.55$	Negative
$0.55 \leq i < 0.65$	Equivocal
$i \geq 0.65$	Positive

Equivocal samples (indices between 0.55 and 0.65) should be retested. If the interpretation remains equivocal, a new sample must be collected.

QUALITY CONTROL

A positive and a negative control are included in each VIDAS TOXO IgM kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

In children under 6 months old, production of IgM is sometimes impossible to detect, in which case a significant increase in specific IgG titer must be noted.

In AIDS infected patients, the presence of IgG associated with results from radiological examinations are useful in diagnosis, since the detection of an increase in IgG or the presence of IgM is unfortunately not very reliable. In nearly 100% of AIDS infected patients who develop toxoplasmosis, IgG are detected in the serum, whereas IgM are seldom detected.

Since the persistence of anti-toxoplasma IgM for several months or several years after seroconversion is a regularly described phenomenon, it is not possible to confirm recent infection, based solely on the presence of anti-toxoplasma IgM, without taking into account the serological history of the patient.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS TOXO IgM gave the following results:

PrecisionWithin-run reproducibility:

3 samples were tested 20 times in 3 different runs on the same VIDAS instrument.

Sera	Mean index	Standard deviation	Intra-assay CV %
S1	0.96	0.04	3.8
C1	1.39	0.03	2.0
C2	0.09	0.01	11.5

Between-run reproducibility

3 samples were tested singly in 7 different runs on the same VIDAS instrument.

Sera	Mean index	Standard deviation	Inter-assay CV %
S4	2.09	0.10	4.8
S5	0.76	0.04	5.3
S6	0.11	0.01	8.2

Relative specificity

The relative specificity of VIDAS TOXO IgM was calculated in comparison with the Toxo-ISAGA IgM technique Ref. 75361 using unselected fresh sera samples collected from an immunized and non-immunized population, sera collected prior to contamination from pregnant women were in contact with toxoplasmosis, cord blood of neonates not contaminated with toxoplasmosis and sera from children suffering from congenital toxoplasmosis but with no anti-toxoplasma IgM.

Out of the 1,483 sera found to be negative with the Toxo-ISAGA IgM kit, 7 were equivocal and 1,465 were negative with the VIDAS TOXO IgM kit, resulting in a relative specificity of **99.25%*** [1,465/1,476] (95% confidence interval: 98.66-99.59%).

Out of the 11 samples found to be positive with the VIDAS TOXO IgM kit and negative with the Toxo-ISAGA IgM kit, 4 were positive with another anti-toxoplasma IgM detection technique and 2 corresponded to follow-up sera collected more than 8 weeks after infection (residual IgM).

*The equivocal results were not used to calculate the performance.

Relative sensitivity

The relative sensitivity of VIDAS TOXO IgM was calculated in comparison with the Toxo-ISAGA IgM technique Ref. 75361 using sera from pregnant women who were in contact with toxoplasmosis during their pregnancy and sera from neonates suffering from congenital toxoplasmosis.

A total of 77 biologically and clinically documented cases of seroconversion and 24 cases of congenital infections were studied.

Acquired toxoplasmosis:

Out of the 150 seroconversion sera found to be positive with Toxo-ISAGA IgM, 144 were positive with VIDAS TOXO IgM. No equivocal samples were found.

The relative sensitivity of sera from pregnant women who were in contact with toxoplasmosis during their pregnancy is **96.00%** (95% confidence interval: 91.43-98.18%).

Out of the 6 discrepant sera:

- Four corresponded to follow-up sera collected more than 8 weeks after the infection (residual IgM). Two of these sera were also found to be negative with two other anti-toxoplasma IgM detection techniques.

- Two corresponded to specimens collected shortly after contamination: absence or low levels of anti-toxoplasma IgG (negative or weakly positive Lyse Test) and low levels of IgM (weakly positive Toxo-ISAGA IgM result). In both these cases, seroconversion was detected with the specimens collected later.

Congenital toxoplasmosis:

Out of the 30 congenital toxoplasmosis sera found to be positive with the Toxo-ISAGA IgM technique, 27 were positive with VIDAS TOXO IgM. No equivocal samples were found.

The relative sensitivity in comparison with the Toxo-ISAGA IgM technique using sera from neonates suffering from congenital toxoplasmosis is **90.00%** (95% confidence interval: 73.47-97.89%). The positive predictive value for this population is 100% (95% confidence interval: 87.23-100%).

Out of the 3 discrepant sera, one was collected at birth from cord blood. The other two were collected at one and three months respectively. One serum showed low levels of toxoplasma IgM (weakly positive Toxo-ISAGA IgM result).

In view of the results obtained for cases of congenital toxoplasmosis, it is recommended that all sera from neonates with congenital toxoplasmosis found to be negative with VIDAS TOXO IgM, be confirmed using the Toxo-ISAGA IgM technique.

CROSS REACTIVITY AND RELEVANT INTERFERENTS

During the evaluations, 24 samples containing rheumatoid factor negative for anti-toxoplasma IgM and 10 samples containing anti-EBV IgM negative for anti-toxoplasma IgM were tested. All of these samples were found to be negative with VIDAS TOXO IgM.

PREVALENCE

T. gondii is a strict pathogen whose prevalence differs greatly from one country to another, or even from one region to another.

Contamination by *T. gondii* can vary depending on cultural customs and eating habits, resulting in a prevalence ranging from less than 10% in certain regions of Northern Europe to more than 90% in Africa.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. AMBROISE-THOMAS P., et al. Le toxoplasme et sa pathologie. Médecine et Maladies infectieuses, 1993, 23 spécial, 121-128.
2. HOHLFELD P., DALFOS F., COSTA J.M., THULLIEZ Ph., FORESTIER F., SOLE Y., VIDAUD M. Nouvelle approche du diagnostic prénatal de la toxoplasmose congénitale. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 1993, 6, 341-346.
3. REMINGTON J.S./KLEIN J.P. Toxoplasmosis in: REMINGTON J.S AND DESMONT S.G EDS - Infectious diseases of the fetus and newborn infant 1990 p 89-195 W.B. SAUNDERS, PHILADELPHIA.
4. CANDOLFI E., KIEN T. Les nouvelles données de l'interprétation de la sérologie de la toxoplasmose par l'évaluation comparée d'anciennes et de nouvelles techniques sérologiques. Spectra Biologie, 1990, 90, 55-62.
5. SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J.Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of Toxoplasma infection using a purified parasite protein (P30). Clin. exp. Immunol.; 1985, 62, 262-269.

6. THULLIEZ P. et al., Evaluation de trois réactifs de détection par immunocapture des IgM spécifiques de la toxoplasmose. - Revue française des laboratoires, Février 1988, n°169 p 25-31.
7. AMBROISE-THOMAS P., FRANCESIO J., SIMON S. et al. - Les facteurs rhumatoïdes. Cause de non spécificité de l'immunofluorescence anti-IgM dans la toxoplasmose - Ann. Biol. Clin., 1980, 38, 315-319.
8. POULETTY P., PINON J.M., GARCIA-GONZALEZ M., et al. - An Anti-Human Immunoglobulin M Monoclonal Antibody for detection of Antibodies to Toxoplasma gondii. - Eur. J. Clin. Microbiol., 1984, 3, n° 6, 510-515.
9. POULETTY P., KADOUCHE J., GARCIA-GONZALEZ M. et al. - An Anti-Human Chain Monoclonal Antibody: Use for detection of IgM Antibodies to Toxoplasma gondii by reverse Immunosorbent assay - J. Immunol. Methods., 1985, 76, n° 2, 289-298.
10. FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. - Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale. - NPN Médecine, 1990, 165, 259-265.
11. DESMONTS G. - Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. - Press. Méd. 1990: volume 31 n°9 p1445-9.
12. COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp, 1969, 44, p.217-224.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A

Correction

Technical change

Administrative

Not applicable (First publication)

Correction of documentation anomalies

Addition, revision and/or removal of information related to the product

Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note:*Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	05933R	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS INSTRUCTIONS FOR USE

BIOMERIEUX, the blue logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS® Anti-HBc Total II (HBCT)

VIDAS Anti-HBc Total II (HBCT) is an automated qualitative test for use on the VIDAS family instruments, for the detection of total antibodies against the hepatitis B core antigen (anti-HBc) in human serum or plasma, using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

The hepatitis B virus is responsible for acute and chronic hepatitis infections. Acute hepatitis can be asymptomatic or present symptoms of varying severity which may progress to fulminant hepatitis in 0.1 to 0.5% of cases. Chronicity occurs in 5 to 10% of cases in adults, but up to 90% of cases in infants following perinatal transmission. Currently, approximately 300 million people worldwide are chronic carriers of the virus (1). Chronic hepatitis may be asymptomatic and lead to liver lesions of varying severity, possibly evolving to cirrhosis, with an evolution in 5% of cases to hepatocellular carcinoma (2). The hepatitis B virus can be transmitted by parenteral or perinatal pathways or through sexual contact. Persons most at risk are health workers, drug addicts, those with multiple sexual partners, multiple transfusion or hemodialysis patients, close friends and family of an infected subject, and newborns of an infected mother (2).

CLINICAL SIGNIFICANCE

Total antibodies against the hepatitis B core antigen (anti-HBc IgM and IgG) can be detected in the serum of patients with acute or chronic hepatitis B or in recovered patients. Anti-HBc total antibodies therefore act as an epidemiological indicator of current or former HBV infections.

In cases of acute hepatitis, anti-HBc antibodies (IgM and IgG) are generally detected 2 to 4 weeks after HBs and HBe antigens appear (3). Whereas anti-HBc IgM are transitory and progressively decrease whether infection develops towards recovery or chronicity, high anti-HBc IgG titers can be detected during the infection and after recovery (2). Anti-HBc IgG can persist for several years, and even throughout the patient's lifetime.

In cases of chronic hepatitis, only titration of anti-HBc IgM antibodies can indicate an active phase of the disease (4). Anti-HBc antibodies do not provide protection. Only the presence of anti-HBs antibodies can confirm immunity.

PRINCIPLE

The VIDAS Anti-HBc Total II assay is an enzyme-linked fluorescent immunoassay (ELFA) based on an inhibition principle.

The Solid Phase Receptacle (SPR®) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed Reagent Strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After dilution, the sample is incubated in the SPR. The anti-HBc antibodies (IgM and IgG) present in the sample bind with the recombinant HBc antigen coating the interior of the SPR. Unbound sample components are eliminated during the washing steps.

The solid phase is then incubated with the conjugate: alkaline phosphatase-labeled monoclonal anti-HBc antibody. This conjugate binds to the solid phase HBc antigen sites that have not bound to serum antibodies. Unbound conjugate is removed by washing.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm.

The intensity of the fluorescence is inversely proportional to the quantity of anti-HBc antibodies present in the sample. Results are analyzed automatically by the instrument and are expressed as an index calculated using a standard.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS:

60 HBCT Reagent Strips	STR	Ready-to-use.
60 HBCT SPRs 2 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of the SPR coated with recombinant HBc antigen.
HBCT Positive control 1 x 1.5 ml (liquid)	C1	Ready-to-use. Human* serum containing anti-HBc antibodies + 0.2 g/l gentamicin sulfate + 1 g/l sodium azide. Index strictly inferior to 1.
Negative control 1 x 1.9 ml (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin+ preservatives. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C2 (-) Test Value Range).
HBCT Standard 2 x 2 ml (lyophilized)	S1	Human* serum containing anti-HBc antibodies + 0.2 g/l gentamicin sulfate. The standard must be reconstituted with 2 ml of distilled sterile water (measured exactly). Allow to dissolve for at least 20 min and then mix using a vortex. After reconstitution, the standard can be kept for up to 1 month at 2-8°C. Aliquoted and frozen at -25 ± 6°C, it can be stored for up to 6 months. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Specifications for the factory master data required to calibrate the test:

- MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit,

or

- MLE bar code printed on the box label.

1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib.

* This product has been tested and shown to be negative for HBs surface antigen, and antibodies to HIV1, HIV 2 and HCV. However, since no known test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with recombinant HBc antigen. Each SPR is identified by the "HBCT" code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the HBCT strip

Wells	Reagents
1	Sample well
2	Sample diluent: TRIS buffered saline (50 mmol/l) pH = 7.4 with protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (300 µl).
3	Wash buffer: TRIS buffered saline (50 mmol/l) pH = 7.4 with protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (600 µl).
4 - 6 - 7 - 8 - 9	Wash buffer: TRIS buffered saline (50 mmol/l) pH = 7.4 with protein and chemical stabilizers + 1 g/l sodium azide (600 µl).
5	Conjugate: alkaline phosphatase-labeled anti-HBc monoclonal antibody (mouse) + 0.9 g/l sodium azide (400 µl).
10	Optical Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate + diethanolamine DEA* (0.62 mol/l or 6.6%) pH 9.2 + 1 g/l sodium azide (300 µl).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard statement**

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 2 ml and 150 µl.
- Powderless, disposable latex gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- VIDAS family instrument

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For in vitro diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**

- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use powderless gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.

- The optical cuvette with substrate (well 10) contains an irritant agent (diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the VIDAS User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS Anti-HBC Total II kit at 2-8°C.
- **Do not freeze SPRs and strips.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label. Refer to the kit composition table for special storage conditions.

SPECIMENS

Specimen type and collection

Use non-contaminated sera (plain tube, separator gel) or plasma (validated anticoagulants: EDTA, lithium heparin, citrate).

None of the following factors have been found to significantly influence this assay:

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin: 0 to 340 µmol/l (monomer)),
- lipemia (after spiking samples with lipids: 0 to 5 mg/ml equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: 0 to 450 µmol/l).

Do not deplete samples.

Specimen stability

Samples containing impurities must be clarified by centrifugation prior to testing. Samples can be stored at 2-8°C in stoppered tubes for a maximum of 7 days; if longer storage is required, freeze the sera or plasma at -25 ± 6°C (**freeze once only**). A study performed on frozen samples over a period of 2 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master lot data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed upon receipt of a new lot of reagents after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested **in triplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "HBCT" strip and one "HBCT" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "HBCT" code on the instrument. The standard must be identified by "S1", and tested **in triplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by C2.
4. Mix the standard, control(s) and sample(s) using a Vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).
5. **For this test, the standard, control, and sample test portion is 150 µl.**
6. Insert the "HBCT" SPRs and "HBCT" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the three letter assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
8. Reclose the vials and return them to the required temperature after pipetting.
9. The assay will be completed within approximately 90 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The results are automatically calculated by the instrument and test values are expressed as an index calculated using a standard.

The patient RFV is interpreted by the VIDAS system as follows:

$$i = \text{test value} = \text{patient RFV} / \text{S1 standard RFV}$$

A report is printed which records the test value and the interpretation. The following table shows the thresholds and the interpreted results:

Index	Interpretation
$i < 1$	Presence of anti-HBc antibodies
$1 \leq i < 1.4$	Equivocal result
$i \geq 1.4$	Absence of anti-HBc antibodies

All equivocal results must be confirmed using a second sample.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS HBCT kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

2. Sensitivity:

a) Results obtained using the SNTS 1996 panel in 2 blood transfusion centers:

Characteristics	Panel sections	VIDAS results	Samples
Positive anti-HBc antibodies: concordant screening for the 8 EIA kits studied	7	7 pos.	14, 15, 16, 17, 18, 19 and 20
Anti-HBc antibodies: positive anti-HBc plasma dilutions, anti-HBs and/or anti-HBe positive	5	2 pos. (1 and 2), 2 equiv. (3 and 4) 1 neg. (5)	1, 2 to 5 (sample 1 - increasing dilutions)
	4	2 pos. (21 and 22), 1 equiv. (23) 1 neg. (24)	21 to 24 (same sample - increasing dilutions)
	4	2 pos. (25 and 26), 1 equiv. (27) 1 neg. (28)	25 to 28 (same sample - increasing dilutions)
	4	3 pos. (29, 30, 31), 1 neg. (32)	29 to 32 (same sample - increasing dilutions)
Anti-HBc antibodies: discrepant screening for the 8 EIA kits studied	4	1 pos. (8) 1 pos./equiv. (9) 2 neg. (10,12)	8, 9, 10, 12
Absence of anti-HBc antibodies	1	1 neg.	6

LIMITATIONS OF THE METHOD

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS Anti-HBc Total II gave the following results:

1. Specificity for blood donor population

The results obtained from 4 blood transfusion centers, where 5064 blood donor samples were tested, are as follows:

VIDAS Anti-HBc Total II	Final interpretation: other EIA techniques / other markers	
	Positive	Negative
Positive	47	3
Equivocal	0	8
Negative	0	5006

The eight samples giving an equivocal result were not included in the performance calculation.

Relative specificity with VIDAS Anti-HBc Total II for this population: 99.94%

(95% confidence interval 95%: 99.82%- 99.98%.)

b) Clinical study: 3 studies were performed:

Study 1: 228 documented positive anti-HBc samples were tested in comparison with another reference technique. Discrepant results between the 2 techniques were confirmed using a 3rd reference technique.

Clinical category	Positive VIDAS Anti-HBc Total II
Acute hepatitis B virus N = 8	8 (100%)
Chronic HBV carriers with replication marker (positive HBe Ag and/or positive viral DNA) N = 49	49 (100%)
Treated chronic HBV carriers (anti-viral treatment or anti-HBs immunoglobulins) N = 47	47 (100%)
Chronic HBV carriers without standard replication marker (negative HBe Ag, viral DNA by negative hybridization) N = 42	42 (100%)
Subjects who have acquired natural immunity against HBV N = 56	54* (100%)
"Isolated anti-HBc" (negative Ag HBs and anti-HBs) N = 26	25 (96%)

* Two uninterpretable samples after confirmation (equivocal with VIDAS Anti-HBc Total II, negative and positive with other tests) were excluded from the performance calculation.

Relative sensitivity with VIDAS Anti-HBc Total II: 99.56% (95% confidence interval: 97.46% - 99.9%).

Study 2: study performed using 130 documented positive anti-HBc samples.

Sample category	VIDAS Anti-HBc Total II		
	Positive	Equivocal	Negative
Positive	129	1*	0

* Sample excluded from sensitivity calculation.

Clinical sensitivity = **100%**

(95% confidence interval: 96.99% - 100%)

Study 3: study performed using 87 documented positive anti-HBc samples.

Sample category	VIDAS Anti-HBc Total II		
	Positive	Equivocal	Negative
Positive	85*	0	0

* Two uninterpretable samples after confirmation were excluded from the performance calculation.

Clinical sensitivity = **100%**

(95% confidence interval 95%: 95.75% - 100%)

c) Diagnostic sensitivity

33 fresh samples with a positive status (collection < 24 hours) were tested, 31 were found to be positive, 1 was found to be equivocal and 1 was found to be negative with VIDAS anti-HBc Total II. 31 fresh negative samples (collection < 24 hours) were tested and found to be negative with VIDAS anti-HBc Total II.

3. Precision

Precision was evaluated using a positive sample, an equivocal sample and a negative sample. Each sample was tested in duplicate in two different runs per day for twenty days on three sites.

Within-run reproducibility (intra-assay precision) and between-run reproducibility (total precision) were calculated according to the recommendations of the NCCLS Document EP5-T2, Volume 12-4.

The combined results for the three sites are given below:

a) Within-run reproducibility:

Sample	N	Mean index	CV (%)
Negative	240	2.569	4.36
Equivocal	240	1.180	5.65
Positive	240	0.082	7.53

b) Between-run reproducibility:

Regarded as total precision taking into account all sources of variation.

Sample	N	Mean index	CV (%)
Negative	240	2.569	7.42
Equivocal	240	1.180	8.10
Positive	240	0.082	9.25

4. Cross-reactivity

	VIDAS Anti-HBc Total II (positive)
VHC + (Anti-HBc -)	0 / 10
EBV + (Anti-HBc -)	0 / 10
HIV + (Anti-HBc -)	0 / 10
FR + (Anti-HBc -)	0 / 21
ANA + (Anti-HBc -)	0 / 20
Rubella IgG + (Anti-HBc -)	0 / 11
CMV IgG + (Anti-HBc -)	0 / 11
CMV IgM + (Anti-HBc -)	0 / 10
Pregnant women (Anti-HBc -)	0 / 24
Vaccinated: Anti-HBs + (Anti-HBc -)	1 / 20
HSV + (Anti-HBc -)	0 / 6
Patients who have received VIII (Anti-HBc -)	0 / 15

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. MILICH D.R., Immune response to the hepatitis B virus: infection, animal models, vaccination, VIRAL HEPATITIS, 1997, 3, 63 -103.
2. HOLLINGER F.B., Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2739-2807.
3. KURSTAK E., Viral Hepatitis, Current Status and Issues, Springer-Verlag Wien New York, 1993, 11, 93-104.
4. BRUNETTO, M.R., CERENZIA M.T., OLIVERI F., PIAONTI P., RANDONE A., CALVO P., MANZINI P., ROCCA G., GALLI C. and BONINO F., Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-HBc, Journal of Hepatology, 1993, 19, 431-436.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	09577G	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	09577H	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS INSTRUCTIONS FOR USE
2016/05	09577I	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.
Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS[®] Anti-HBc Total II (HBCT)

IVD

VIDAS Anti-HBc Total II (HBCT) yra automatizuotas kokybinis imunofermentinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, antikūnų prieš hepatito B šerdinį antigeną (anti-HBc) žmogaus serume ar plazmoje, panaudojant ELFA technologiją (Imunofermentinis fluorescencinis metodas), nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Hepatitis B yra atsakingas už ūmią ir chronišką hepatito infekciją. Ūmus hepatitis gali būti asimptotinis ar turėti kintamus sunkius simptomus ir 0.1 - 0.5% atvejų progresuoti į aktyvų hepatitą. Chroniškumas pasireiškia nuo 5 iki 10% atvejų suaugusiems, tačiau iki 90% atvejų kūdikiams po perinatalinio perdavimo. Šiuo metu apie 300 milijonų žmonių visame pasaulyje yra chroniški viruso nešiotojai (1). Chroniškas hepatitis gali būti asimptotinis ar inicijuoti įvairaus sunkumo kepenų pažeidimus, galinčius pasibaigti ciroze, iš kurių 5% atvejų išsivysto hepatocelulinė karcinoma (2). Hepatito B virusas gali būti perduodamas parenteraliniais ar perinataliniais būdais ar lytinio kontakto metu. Didžiausios rizikos asmenys yra sveikatos sistemos darbuotojai, narkomanai, asmenys danai keičiantys seksualinius partnerius, asmenys, kuriems perpilamas kraujas ar yra hemodializės pacientai, artimi draugai ar infekuoto asmens šeimos nariai bei infekuotos motinos naujagimiai (2).

KLINIKINĖ REIKŠMĖ

Bendri antikūnai prieš hepatito B šerdinį antigeną (anti-HBc IgM ir IgG) gali būti aptinkami pacientų su ūmiu ar chronišku hepatitu bei išgydytų asmenų serume. Anti-HBc bendri antikūnai veikia kaip epidemiologinis indikatorius esamai ar buvusiai HBV infekcijai.

Ūmaus hepatito atveju, anti-HBc antikūnai (IgM ir IgG) dažniausiai yra aptinkami nuo 2 iki 4 savaičių po HBs ir HBe antigenų pasirodymo (3). Tuo tarpu kai anti-HBc IgM yra laikini ir kai infekcija vystosi toliau į chronišką ar vyksta sveikimas jų kiekis mažėja, aukštas anti-HBc IgG titras gali būti aptinkamas infekcijos metu ar po išgyjimo (2). Anti-HBc IgG gali išlikti keletą metų ar netgi visą paciento gyvenimą.

Chroniško hepatito atveju tik anti-HBc IgM antikūnų titravimas gali nurodyti aktyvią ligos fazę (4).

Anti-HBc antikūnai nesuteikia apsaugos. Tik anti-HBs antikūnų buvimas gali patvirtinti imunitetą.

PRINCIPAS

VIDAS Anti-HBc Total II tyrimas yra Imunofermentinis fluorescencinis (ELFA) metodas, pagrįstas inhibicijos principu.

Kietos fazės antgalis (SPR[®]) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po mėginio skiedimo etapo mėginys yra inkubuojamas SPR antgalyje. Mėginyje esantys anti-HBc (IgM ir IgG) antikūnai susiriša su rekombinantiniu HBc antigenu, padengtu vidinėje SPR antgalio pusėje. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

Tuomet kieta fazė yra inkubuojama su konjugatu: šarmine fosfataze žymėti monokloniniai anti-HBc antikūnai. Konjugatas susiriša su kietos fazės HBc antigeno sąryšos vietomis, kurios nesureagavo su serumo antikūnais. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos.

Fluorescencijos intensyvumas yra atvirkščiai proporcingas anti-HBc antikūnų kiekiui mėginyje. Rezultatai instrumento yra analizuojami automatiškai ir išreiškiami kaip indeksas, apskaičiuotas naudojantis standartu.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS:

60 HBCT reagentų strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 HBCT SPR antgalių 2 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta rekombinantiniu HBc antigenu.
HBCT teigiama kontrolė 1 x 1.5 ml (skysta)	C1	Paruošta naudojimui. Žmogaus* serumas turintis anti-HBc antikūnų + 0.2 g/l gentamicino sulfato + 1 g/l natrio azido. Indeksas griežtai nustatytas ties 1.
Neigiama kontrolė 1 x 1.9 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklivimo intervalas ("Control C2 (-) Test Value Range").
HBCT standartas 2 x 2 ml (liofilizuotas)	S1	Žmogaus * serumas turintis anti-HBc antikūnų + 0.2 g/l gentamicino sulfato. Standartas turi būti skiedžiamas 2 ml distiliuoto vandens (matuoti tiksliai). Leisti ištirpti mažiausiai 20 minučių ir tuomet sumaišyti kratikliu. Po praskiedimo standartas gali būti saugojamas iki 1 mėnesio prie 2-8°C. Išpilstytas ir sušaldytas prie -25 ± 6°C, jis gali būti saugojamas iki 6 mėnesių. Venkite pakartotino užšaldymo ir atšildymo ciklų.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniui antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas rekombinantiniu HBc antigenu. Kiekvienas SPR yra identifiкуotas "HBCT" kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR skaičių ir **kruopščiai ją uždarykite po atidarymo.**

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

HBCT strypelio apibūdinimas:

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Serumo skiediklis: TRIS buferis (50 mmol/l) pH = 7.4 su baltymiais ir cheminiais stabilizatoriais + 0.9 g/l natrio azido (300 µl).
3	Plovimo buferis: TRIS buferio tirpalas (50 mmol/l) pH = 7.4 su baltymiais ir cheminiais stabilizatoriais + 0.9 g/l natrio azido (600 µl).
4 - 6 - 7 - 8 - 9	Plovimo buferis: TRIS buferio tirpalas (50 mmol/l) pH = 7.4 su baltymiais ir cheminiais stabilizatoriais + 1 g/l natrio azido (600 µl).
5	Konjugatas: šarmine fosfataze žymėti anti-HBc monokloniniai antikūnai (pelės) + 0.9 g/l natrio azido (400 µl).
10	Optinė kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfato + dietanolamino DEA* (0.62 mol/l or 6.6 %) pH 9.2 + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS IR VIENKARTINĖS PRIEMONĖS

- Pipetė su vienkartiniais antgaliais kalibruota dozuoti po 2 ml ir **150 µl**.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifinės priemonės ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite *Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas*).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar SPR antgalių) iš skirtingų gaminio serijų.
- Naudokite pirštines be talko, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogus metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengti šių junginių susikaupimo.
- Optinė kiuvetė su substratu 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazės "H" ir atsargumo frazės "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žiūrėkite Naudotojo Instrukciją dėl išsipyliusių skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentai turi būti reguliariai valomi ir nukenksminami (žiūrėkite VIDAS Naudotojo Instrukciją).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS Anti-HBc Total II rinkinį prie 2-8°C.
- Nesušaldykite reagentų.
- Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas

Naudokite neužterštus serumus (paprasti mėgintuvėliai, atskiriamasis gelis) ar plazmą (patvirtinti antikoagulantai : EDTA, ličio heparinas, citratas).

Nė vienas iš sekančių faktorių neturėjo įtakos šiam tyrimui:

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo: nuo 0 iki 340 µmol/l (monomeras)),
- lipemija (po lipidų įdėjimo: nuo 0 iki 5 mg/ml trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo: nuo 0 iki 450 µmol/l).

Nebandykite iš mėginio pašalinti komplementų.

Mėginio stabilumas

Mėginiai turintys priemaišų turi būti išvalomi centrifugavimu prieš atliekant tyrimą. Mėginiai gali būti laikomi prie 2-8° C užkimštuose mėgintuvėliuose temperatūros ilgiausiai iki 7 dienų; jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, serumą ar plazmą užšaldykite prie -25 ± 6°C (**užšaldykite tik vieną kartą**). Tyrimai, atlikti su 2 mėnesius užšaldytais mėginiais parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **trigubu pakartojimu** (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną „HBCT“ reagentų strypelį ir vieną „HBCT“ SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. **Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Tyrimas instrumente yra identifikuojamas "HBCT" kodu. Standartas turi būti identifiкуotas kaip "S1", ir tiriamas **trigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C2".
4. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (serumas atskirtas nuo ląstelių).
5. Šiam tyrimui, standarto, kontrolės ir mėginio tiriamoji dalis yra 150 µl.
6. Įstatykite "HBCT" SPR antgalius ir "HBCT" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
7. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta Naudojimo Instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
8. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į reikiamą temperatūrą.
9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 90 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas.

Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento ir tyrimo vertė pateikiama kaip indeksas, apskaičiuotas naudojantis standartu.

Paciento RFV yra interpretuojama VIDAS sistemos sekančiai:

$$i = \text{tyrimo vertė} = \text{paciento RFV} / \text{S1 standarto RFV}$$

Atspausdinamas atsakymas, kuriame yra pateikta tyrimo vertė ir interpretacija. Sekanti lentelė parodo slenkstį ir rezultatų interpretaciją:

Indeksas	Interpretacija
$i < 1$	anti-HBc antikūnai yra
$1 \leq i < 1.4$	Abejotini rezultatai
$i \geq 1.4$	anti-HBc antikūnų nėra

Visi abejotini rezultatai turi būti patvirtinti naudojantis antru mėginiu.

Tyrimo rezultatų interpretacija turi būti atliekama atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokius kitus atliktus tyrimus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su kiekvienu VIDAS HBCT rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuoju pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinos vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami įvertinant paciento istoriją ir kitų atliktų tyrimų rezultatus.

ATLIKIMAS

Tyrimai, atlikti naudojantis VIDAS Anti-HBc Total II rodė sekančius rezultatus

1. Kraujo donorų populiacijos specifiškumas

Rezultatai gauti 4 kraujo perpilimo centruose, kur buvo tirti 5064 kraujo donorų mėginiai, buvo sekančios:

Galutinė interpretacija: kiti EIA metodai / kiti žymenys		
VIDAS Anti-HBc Total II	Teigiami	Neigiami
Teigiami	47	3
Abejotini	0	8
Neigiami	0	5006

Aštuoni mėginiai, rodę abejotinus rezultatus nebuvo įtraukti į atliktus skaičiavimus.

Santykinis specifiškumas su VIDAS Anti-HBc Total II šiai populiacijai: 99.94%

(95% pasiklovimo intervalas 95%: 99.82%- 99.98%.)

2. Jautrumas:

a) Rezultatai gauti naudojantis SNTS 1996 paneliu 2 kraujo perpylimo centruose:

Charakteristikos	Panelio skyriai	VIDAS rezultatai	Mėginiai
Teigiami anti-HBc antikūnai: tirtas 8 EIA rinkinių atitikimas	7	7 teig.	14, 15, 16, 17, 18, 19 ir 20
Anti-HBc antikūnai: teigiami anti-HBc plazmos skiedimai, anti-HBs ir/ar anti-HBe teigiami	5	2 teig. (1 ir 2), 2 abejot. (3 ir 4) 1 neig. (5)	1, 2 iki 5 (mėginys 1 - didėjantis skiedimas)
	4	2 teig. (21 ir 22), 1 abejot. (23) 1 neig. (24)	21 to 24 (tas pats mėginys - didėjantis skiedimas)
	4	2 teig. (25 ir 26), 1 abejot. (27) 1 neig. (28)	25 to 28 (tas pats mėginys - didėjantis skiedimas)
	4	3 teig. (29, 30, 31), 1 neig. (32)	29 to 32 (tas pats mėginys - didėjantis skiedimas)
Anti-HBc antikūnai: tirtas 8 EIA rinkinių atitikimas	4	1 teig. (8) 1 teig./ abejot. (9) 2 neig. (10,12)	8, 9, 10, 12
Anti-HBc antikūnų nebuvimas	1	1 neig.	6

b) Klinikiniai tyrimai: buvo atliktos 3 studijos:

1 studija: buvo tirti 228 dokumentuoti anti-HBc teigiami mėginiai lyginant su kitais referentiniais metodais. Tarp 2 metodų neatitinkantys rezultatai buvo tiriami naudojant trečią referentinį metodą.

Klinikinė kategorija	VIDAS Anti-HBc Total II teigiami
Ūmus hepatito B virusas N = 8	8 (100 %)
Chroniški HBV nešiotojai su pasikartojančiais žymenimis (HBe Ag teigiami ir/ar teigiami virusinei DNR) N = 49	49 (100 %)
Gdyti chroniško HBV nešiotojai (anti-virusinis gydymas ar anti-HBs imunoglobulinai) N = 47	47 (100 %)
Chroniški HBV nešiotojai be standartinių pasikartojančių žymenų (HBe Ag neigiami, virusinės DNR neigiama hibridizacija) N = 42	42 (100 %)
Asmenys, kurie įgijo natūralų imunitetą prieš HBV N = 56	54* (100 %)
"Izoliuoti anti-HBc" (Ag HBs ir anti-HBs neigiami) N = 26	25 (96 %)

* Du neinterpretuojami mėginiai (abejotinas su VIDAS Anti-HBc Total II, neigiami ar teigiami su kitais tyrimais) buvo atmesti atliekant skaičiavimus.

santykis jautrumas su VIDAS Anti-HBc Total II : 99.56 %
(95 % pasikliovimo intervalas 95%: 97.46 % - 99.9 %).

2 studija: tyrimas atliktas naudojant 130 dokumentuotus anti-HBc teigiamus mėginius.

VIDAS Anti-HBc Total II			
Mėginio kategorija	Teigiami	Abejotini	Neigiami
Teigiami	129	1*	0

* Mėginys atmestas atliekant jautrumo skaičiavimus.

Klinikinis jautrumas = **100 %**.

(95 % pasikliovimo intervalas 95%: 96.99 % - 100 %.)

3 studija: tyrimas atliktas naudojant 87 dokumentuotus anti-HBc teigiamus mėginius.

VIDAS Anti-HBc Total II			
Mėginio kategorija	Teigiami	Abejotini	Neigiami
Teigiami	85*	0	0

* Du neinterpretuojami mėginiai po patvirtinimo buvo atmesti atliekant skaičiavimus.

Klinikinis jautrumas = **100 %**.

(95 % pasikliovimo intervalas 95%: 95.75 % - 100 %.)

c) Diagnostinis jautrumas

Buvo tiriami 33 švieži mėginiai su teigiamu statusu (surinkta per < 24 valandas), 31 buvo nustatyti kaip teigiami, 1 – kaip abejotinas ir 1 buvo nustatytas kaip neigiamas su VIDAS anti-HBc Total II. 31 šviežias neigiamas mėginys (surinkta per < 24 valandas) buvo ištirti ir nustatyti kaip neigiami su VIDAS anti-HBc Total II.

3. Tikslumas

Tikslumas buvo įvertinamas naudojant teigiamus mėginius, abejotinus mėginius ir neigiamus mėginius. Kiekvienas mėginys buvo tiriamas kartojant juos du kartus bei atliekant du tyrimus per dieną trijose vietose.

Atkartojamumas tyrimo ribose (tikslumas tyrimo serijos ribose) ir atkartojamumas tarp atskirų tyrimų (bendras tikslumas) buvo skaičiuojami pagal NCCLS dokumento EP5-T2, leidimo 12-4 rekomendacijas.

Apibendrinti trijų vietų rezultatai pateikiami žemiau:

a) Atkartojamumas tyrimo serijos ribose:

Mėginys	N	Vidutinis indeksas	CV (%)
Neigiama	240	2.569	4.36
Abejotina	240	1.180	5.65
Teigiama	240	0.082	7.53

b) atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų :

Nustatytas bendras tikslumas atsižvelgiant į visus galimus nukrypimus.

Mėginys	N	Vidutinis indeksas	CV (%)
Neigiama	240	2.569	7.42
Abejotina	240	1.180	8.10
Teigiama	240	0.082	9.25

4. Kryžminis reaktyvumas

	VIDAS Anti-HBc Total II (teigiama)
VHC + (Anti-HBc -)	0 / 10
EBV + (Anti-HBc -)	0 / 10
ŽIV + (Anti-HBc -)	0 / 10
FR + (Anti-HBc -)	0 / 21
ANA + (Anti-HBc -)	0 / 20
Raudoniukės IgG + (Anti-HBc -)	0 / 11
CMV IgG + (Anti-HBc -)	0 / 11
CMV IgM + (Anti-HBc -)	0 / 10
Nėščia moteris (Anti-HBc -)	0 / 24
Vakcinavimas: Anti-HBs + (Anti-HBc -)	1 / 20
HSV + (Anti-HBc -)	0 / 6
Pacientai, kurie gavo VIII (Anti-HBc -)	0 / 15

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdamas infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras.

Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimtės ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

- MILICH D.R., Immune response to the hepatitis B virus : infection, animal models, vaccination, VIRAL HEPATITIS, 1997, 3, 63-103.
- HOLLINGER F.B., Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2739-2807.
- KURSTAK E., Viral Hepatitis, Current Status and Issues, Springer-Verlag Wien New York, 1993, 11, 93-104.
- BRUNETTO, M.R., CERENZIA M.T., OLIVERI F., PIANTONI P., RANDONE A., CALVO P., MANZINI P., ROCCA G., GALLI C. and BONINO F., Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-HBc, Journal of Hepatology, 1993, 19, 431-436.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	In Vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinyje skaitas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui
Pastaba:	<i>Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formataavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.</i>

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	09577G	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	09577H	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/05	09577I	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausantis prekių ženklai.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS® HBs Ag Ultra (HBS)

VIDAS HBs Ag Ultra (HBS) is an automated qualitative test for use on the VIDAS family instruments for the detection of hepatitis B surface antigen (HBs Ag) in human serum or plasma, using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

The hepatitis B virus is responsible for acute and chronic hepatitis infections. Acute hepatitis can be asymptomatic or present symptoms of varying severity which may progress to fulminant hepatitis in 0.1 to 0.5% of cases. Chronicity occurs in 5 to 10% of cases in adults, but up to 90% of cases in infants following perinatal transmission. Currently, approximately 350 million people worldwide are chronic carriers of the virus (1). Chronic hepatitis may be asymptomatic and lead to liver lesions of varying severity, possibly evolving to cirrhosis, with an evolution in 5% of cases to hepatocellular carcinoma (2). The hepatitis B virus can be transmitted by parenteral or perinatal pathways or through sexual contact. Persons most at risk are health workers, drug addicts, those with multiple sexual partners, multiple transfusion or hemodialysis patients, as well as close friends and family of an infected subject, and newborns of an infected mother (2).

The discovery of the Australia antigen in 1965 – later known as HBs antigen - combined with viral hepatitis (3, 4) was a major breakthrough in the diagnosis of hepatitis B.

HBs antigen appears several days to several weeks after contact with the virus and can persist for several months. Persistence of HBs antigen for more than 6 months serologically defines chronic HBV infection. Disappearance of the HBs antigen is normally followed by the appearance of anti-HBs antibodies, which is a sign of recovery. The anti-HBs antibody assay is performed to confirm efficacy of the HBV vaccine. Anti-HBc antibodies are normally detected at the onset of the disease (2). Anti-HBc IgM titers are elevated (> 100 UPEI/ml) during acute hepatitis, then their titer decreases or disappears. However, during chronic hepatitis, the appearance of low IgM titers, reflecting hepatic cytolysis, confirms the active phase of the disease (5). Total anti-HBc antibodies, mainly IgG, are detected during acute and chronic hepatitis and persist after recovery.

HBe antigen is a circulating protein with a sequence very similar to that of HBc antigen, but with distinct antigenicity. During acute or chronic hepatitis, the presence of HBe antigen is generally associated with intense viral replication. Its disappearance coincides with the appearance of anti-HBe antibodies. Anti-HBe seroconversion is generally an indicator of a favorable prognosis of recovery (6). Nevertheless, the possible selection of a mutant strain incapable of synthesizing Hbe antigen may also lead to anti-HBe seroconversion, thereby limiting the prognostic value of HBe and anti-HBe markers (7). In this case, only the viral DNA assay is capable of directly detecting viral replication.

PRINCIPLE

The VIDAS HBs Ag test is an enzyme-linked fluorescent immunoassay (ELFA) that is performed in the automated VIDAS system (see User's Manual). This assay can be performed according to 2 protocols: HBL long protocol (90 minutes), HBS short protocol (60 minutes).

The Solid Phase Receptacle (SPR®) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready to use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After a preliminary washing step, the antigen present in the sample will bind simultaneously to the monoclonal antibody (8) coating the interior of the SPR and to the antibody conjugated with biotin. Unbound sample components are washed away. The antigen bound to the solid phase and to the biotinylated antibody is in contact with streptavidine conjugated with alkaline phosphatase, which will bind with biotin. Another wash step follows and removes unbound components.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of antigen present in the sample.

At the end of the assay, results are analyzed automatically by the instrument and are expressed as an index calculated using a standard.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS:

60 HBS strips	STR	Ready-to-use.
60 HBS SPRs 2 x 30	SPR [®]	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with two monoclonal anti-HBs Ag antibodies (mouse) (5).
HBS standard 3 x 1 ml (lyophilized)	S1	Serum base* supplemented with inactivated human plasma HBs antigen + preservatives. The standard must be reconstituted with 1 ml of sterile distilled water (measured exactly). Allow to dissolve for at least 20 mins, then mix using a vortex. After reconstitution, the standard must be stored in aliquots at $-25 \pm 6^{\circ}\text{C}$ for up to 6 months, by freezing within an hour of reconstitution. Avoid successive freezing and thawing.
HBS positive control 1 x 1.5 ml (liquid)	C1	Ready-to-use. Serum base* supplemented with inactivated human plasma HBs antigen + 1 g/l sodium azide. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1(+) Test Value Range)
Negative control 1 x 1.9 ml (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin+ preservatives.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with monoclonal anti-HBs Ag antibody (mouse). Each SPR is identified by the HBS code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The Reagent Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the HBS strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	Conjugate: buffer containing goat serum + biotin-labeled polyclonal anti-HBs Ag antibodies (goat) + 1 g/l sodium azide (300 µl).
3 - 4 - 7 - 8 - 9	Wash buffer: buffer containing diethanolamine (DEA*: 0.85 mol/l or 9.1%) + Tween 20 + 1 g/l sodium azide (600 µl).
5	Tracer: alkaline phosphatase-labeled streptavidine + 0.9 g/l sodium azide (400 µl).
6	Prewash solution: TRIS buffer (50 mmol/l) (pH = 7.4) + protein and chemical stabilizers + 1 g/l sodium azide (600 µl).
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + DEA** (0.62 mol/l or 6.6%) pH 9.2 + 1 g/l sodium azide (300 µl).

* Signal Word: **DANGER**



Hazard statement

H318 : Causes serious eye damage.

H373 : May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure.

H315 : Causes skin irritation.

H302 : Harmful if swallowed.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P309 + P311 : IF exposed or if you feel unwell: Call a POISON CENTER or doctor/physician.

** Signal Word: **DANGER**



Hazard statement

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 1 ml and 150 µl.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- VIDAS family instrument.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- **Sample to sample contamination through contact with gloves: since high concentrations of HBs Ag may be encountered, it is strongly recommended to keep tips on a stand prior to use. It is also recommended to keep one tube of sample aside for testing HBs antigen.**
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.

- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The wash buffer (wells 3, 4, 7, 8, 9) contains a harmful agent (diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- The optical cuvette with substrate (well 10) contains an irritant agent (diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS HBs Ag Ultra kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents, with the exception of S1 standard after reconstitution.**
- Store all unused reagents at 2-8°C, with the exception of S1 standard which must be kept frozen after reconstitution.
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label. Refer to the kit composition table for special storage conditions.

SPECIMENS

Specimen type and collection

Use sera (plain tube, tube with separator gel, plain tube with beads) or plasmas collected in lithium heparin.

Serum and plasma should be stored separated from the pellet. Samples containing impurities must be clarified by centrifugation.

The results obtained were not found to be influenced by: icteric samples (bilirubin concentrations up to 500 µmol/l), hemolyzed samples (hemoglobin concentrations up to 270 µmol/l of monomer) and lipemic samples (up to 30 mg/ml).

Do not inactivate specimens.

Specimen stability

Samples can be stored for 5 days in stoppered tubes at 2-8°C. If longer storage is required, freeze the sera or plasma at -25 ± 6°C. A study performed on samples frozen for 2 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master lot data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed upon receipt of a new lot of reagents after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested **in duplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "HBS" strip and one "HBS" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "HBS" code on the instrument, or by the "HBL" code for the long protocol. The standard must be identified by "S1", and tested **in duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by C2.

4. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).

5. For this test, the calibrator, control, and sample test portion is 150 µl.

6. Insert the "HBS" SPRs and "HBS" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
8. Reclose the vials and return them to the required temperature after pipetting.
9. The assay will be completed within approximately 60 to 90 minutes, depending on the protocol selected. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet. The patient RFV is interpreted by the VIDAS system as follows:

$$i = \text{test value} = \text{patient RFV} / \text{standard RFV}$$

The test value and interpretation are also indicated on the result sheet. Interpretation of results according to test values is as follows:

Test value		
Short protocol	Long protocol	Interpretation
$i < 0.13$	$i < 0.10$	Negative
$i \geq 0.13$	$i \geq 0.10$	Positive

If a positive result is obtained for a patient with no previous history, the assay must be repeated and confirmed using a neutralization test (VIDAS HBs Ag Ultra Confirmation ref. 30 317) or other tests.

A positive sample should be confirmed using the same assay protocol (short or long) as was initially used to test the sample.

Before retesting, samples should be centrifuged again so as to eliminate any interference caused by fibrin fragments or cell elements.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed.

VIDAS HBs Ag Ultra is calibrated against the panel of the Société Française de Transfusion Sanguine (French Blood Transfusion Society) (adw2/ayw3 mixture expressed in ng/ml).

The analytical sensitivity of VIDAS HBs Ag Ultra, which was determined using this panel, is less than 0.20 ng/ml with the short protocol (HBS), and less than 0.15 ng/ml with the long protocol (HBL).

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS HBs Ag Ultra kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- As interference (i.e. anti-idiotypic antibody) may be encountered with certain sera, the test should only be declared positive after taking into account the patient's history and the results of the other hepatitis B markers.
- A negative Ag HBs result does not allow infection by the hepatitis B virus to be excluded. The Ag HBs serum concentration may be below the analytical sensitivity of the reagent. The presence of a modified HBs antigen (variant) cannot be excluded; the antigen may, in this case, have been incorrectly recognized or not recognized by the antibodies in the reagent. The results of this test must be interpreted taking into consideration the patient's history and the results of any other tests performed (confirmation by neutralization, HBV DNA etc.).
- In rare cases it is possible to detect both HBs antigen and anti-HBs antibodies.
- This assay has been validated for serum and plasma and should not be used for other biological fluids such as saliva, CSF or urine.
- This assay should not be used with specimens collected post-mortem.
- Do not use serum pools.

RANGE OF EXPECTED VALUES (9)

The world wide prevalence of hepatitis B varies depending on the countries:

Region of the world	Prevalence of HBs Ag (%)
Europe, North America, Australia	0.2 - 0.5
Eastern Europe, Mediterranean basin, Russia, southwest Asia, South America	2 - 7
Southeast Asia, tropical Africa	8 - 20

PERFORMANCE

The results of the studies, which demonstrated the conformity of VIDAS HBs Ag Ultra to the Common Technical Specifications of Directive 98/79/EC, are as follows:

1. Specificity for blood donor population

5059 blood donor samples from 2 blood transfusion centers were tested using the short protocol and the long protocol. No discrepancies were observed between the two protocols.

VIDAS HBs Ag Ultra (HBS/HBL)	Final interpretation of other EIA techniques	
	Positive	Negative
Positive	0	0
Negative	0	5059

Relative specificity with VIDAS HBs Ag Ultra for this population: 100.00%
(95% confidence interval: 99.87% - 100.00%).

2. Clinical specificity

a) for hospitalized patients:

200 samples were tested using the short protocol, the long protocol and another EIA technique. No discrepancies were observed between the two protocols and the technique used as reference.

Relative specificity of VIDAS HBs Ag Ultra, with the two protocols (short and long), for this population: 100.00%.
(95% confidence interval: 98.04% - 100.00%).

b) for outpatients in a screening center:

100 samples were tested using the short protocol, the long protocol and another EIA technique. No discrepancies were observed between the two protocols and the technique used as reference.

Relative specificity of VIDAS HBs Ag Ultra, with the two protocols (short and long), for this population: 100.00%.
(95% confidence interval: 96.38% - 100.00%).

3. Analytical sensitivity

An external study performed using the panel of the French Blood Transfusion Society, showed a sensitivity of 0.12 ng/ml with the short protocol (HBS) and 0.08 ng/ml with the long protocol (HBL).

The sensitivity of VIDAS HBs Ag Ultra, determined using the international standard NIBSC 00/588, was estimated at 0.05 IU/ml with the long protocol (HBL) and 0.075 IU/ml with the short protocol (HBS).

4. Diagnostic sensitivity

30 fresh samples with a positive status (collection < 24 hours) were tested and found to be positive using VIDAS HBs Ag Ultra with the short protocol (HBS). 30 fresh samples with a negative status (collection < 24 hours) were tested and found to be negative using VIDAS HBs Ag Ultra with the short protocol (HBS).

31 fresh samples with a positive status (collection < 24 hours) were tested and found to be positive using VIDAS HBs Ag Ultra with the long protocol (HBL). 31 fresh samples with a negative status (collection < 24 hours) were tested and found to be negative using VIDAS HBs Ag Ultra with the long protocol (HBL).

5. Detectability

A study was performed using 506 samples characterized as positive, including 28 subtyped or genotyped samples and 46 samples from patients with acute hepatitis. Detectability with the long protocol (threshold of 0.08 ng/ml) and with the short protocol (threshold of 0.12 ng/ml), is 100.00 %.

(95% confidence interval: 99.22% - 100.00%).

6. Sensitivity of seroconversion panels

During a study, 32 seroconversion panels were tested using the two VIDAS HBs Ag Ultra protocols.

With the short protocol, HBs Ag was detected earlier by the VIDAS HBs Ag Ultra than with the comparison method in 13 out of 32 seroconversion panels (12 panels one specimen collection earlier, 1 panel two specimen collections earlier). HBs Ag was detected in one panel, one specimen collection later.

With the long protocol, 14 of the 32 panels tested were detected earlier than with the comparison method (9 panels one specimen collection earlier, 5 panels two specimen collections earlier).

7. Sensitivity of HBs Ag mutants

A panel of 27 recombinant proteins imitating the most significant mutations in HBs Ag amino acid sequences and 4 native samples harboring HBs Ag mutants were tested successfully (10).

8. Precision

Intra-assay and inter-assay reproducibility were determined at two sites and calculated according to the recommendations of the NCCLS EP5-T2 document, volume 12-4.

Intra-assay reproducibility

The results are expressed as an index:

Sample	N	Short protocol		Long protocol	
		Mean	CV (%)	Mean	CV (%)
Positive	72	3.42	3.41	3.07	2.68
Weak positive	72	0.21	4.98	0.15	3.94
Negative	80	0.01	0.00 *	0.02	0.00 *

* since the index value is too low to be used for the calculation of the CV, only the standard deviation is indicated.

Inter-assay reproducibility

The total precision takes into account all the sources of variability.

The results are expressed as an index:

Sample	N	Short protocol		Long protocol	
		Mean	CV (%)	Mean	CV (%)
Positive	72	3.42	11.58	3.07	6.17
Weak positive	72	0.21	12.41	0.15	6.75
Negative	80	0.01	0.01 *	0.02	0.01 *

* since the index value is too low to be used for the calculation of the CV, only the standard deviation is indicated.

9. Cross-reactivity

367 samples from patients whose physiological status is likely to affect the detection of HBs antigen, were tested using both the short and the long protocols. All the samples were found to be negative with another EIA technique. No discrepancies were observed between the two protocols and the technique used as reference.

	VIDAS HBs Ag Ultra positive samples
HCV +	0/20
EBV +	0/10
HIV +	0/10
CMV IgG +	0/10
HAV IgG +	0/10
HSV +	0/10
Syphilis	0/10
Rubella IgG +	0/10
Toxoplasmosis IgG +	0/10
Rheumatoid factor	0/9
Anti-nuclear antibodies	0/9
Non-viral hepatitis	0/5
Dialysis patients	0/10
Children less than 15 years old	0/10
Vaccinated: Anti-HBs +	0/10
Pregnant women*	0/214**

* including 22 multipara

** including 2 false positive results which were not repeated with the long protocol.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. LAVANCHY D., Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention. Journal of Clinical Virology 34 suppl. 1 (2005) S1-S3.
2. HOLLINGER F.B., Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2739-2807.
3. BLUMBERG B.S., ALTER H.J., VISNICH S. JAMA, A "New" Antigen in Leukemia Sera, 1965, 191, 541-546.
4. PRINCE A.M., An antigen detected in blood during the incubation period of serum hepatitis, Proc Natl Acad Sci USA, 1968, 60, 814-821.
5. BRUNETTO, M.R., CERENZIA M.T., OLIVERI F., PIAONTI P., RANDONE A., CALVO P., MANZINI P., ROCCA G., GALLI C. and BONINO F., Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-HBc, Journal of Hepatology, 1993, 19, 431-436.
6. ALDERSHVILE J., FRÖSNER G.G., NEILSEN J.O. et al., Hepatitis B e antigen and antibody measured by radioimmunoassay in acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis, Journal of Infectious Diseases, 1980, 141, 293-298.
7. TONG S.T. and TREPO C., The HBe-minus mutants of hepatitis B virus in The Molecular Medicine of Viral Hepatitis, Harrison T.J. and Zuckerman A.J. ed., 1997, 89-104.
8. JOLIVET-REYNAUD. C., LESENECHAL. M., O' DONNELL. B. et al.- Localization of hepatitis B surface antigen epitopes present on variants and specifically recognised by anti-hepatitis B surface antigen monoclonal antibodies - Journal of Medical Virology - 2001, vol. 65, p.241-249.
9. ZUCKERMAN A.J., Hepatitis Viruses. In: Baron S, eds. Medical Microbiology, 4th ed. The University of Texas M Branch at Galveston, 1996: 849-863.
10. WEBER B., VAN DER TAELEM-BRULE N., BERGER N. et al. Evaluation of a new automated assay for hepatitis B surface antigen (HBs Ag) detection VIDAS HBs Ag Ultra, Journal of Virological Methods 135, 2006, 109-117.

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	11728I	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS WARNINGS AND PRECAUTIONS INSTRUCTIONS FOR USE
2016/05	11728J	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS[®] HBs Ag Ultra (HBS)

VIDAS HBs Ag Ultra (HBS) yra automatizuotas kokybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, hepatito B paviršinio antigeno (HBs Ag) žmogaus serume ar plazmoje, panaudojant ELFA technologiją (Imunofermentinis fluorescencinis metodas), nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Hepatitas B yra atsakingas už ūmią ir chronišką hepatito infekciją. Ūmus hepatitas gali būti asimptotinis ar turėti kintamus sunkius simptomus ir 0.1 - 0.5% atvejų progresuoti į aktyvų hepatitą. Chroniškumas pasireiškia nuo 5 iki 10% atvejų suaugusiems, tačiau iki 90% atvejų kūdikiams po perinatalinio perdavimo. Šiuo metu apie 350 milijonų žmonių visame pasaulyje yra chroniški viruso nešiotojai (1). Chroniškas hepatitas gali būti asimptotinis ar inicijuoti įvairaus sunkumo kepenų pažeidimus, galinčius pasibaigti ciroze, iš kurių 5% atvejų išsivysto hepatocelulinė karcinoma (2). Hepatito B virusas gali būti perduodamas parenteraliniais ar perinataliniais būdais ar lytinio kontakto metu. Didžiausios rizikos asmenys yra sveikatos sistemos darbuotojai, narkomanai, asmenys danai keičiantys seksualinius partnerius, asmenys, kuriems perpilamas kraujas ar yra hemodializės pacientai, artimi draugai ar infekuoto asmens šeimos nariai bei infekuotos motinos naujagimiai (2).

1965 m. Australijos antigeno – vėliau žinomo kaip HBs antigenas – surišo su virusiniu hepatitu (3, 4) atradimas buvo didelis perversmas hepatito B. diagnostikoje.

HBs antigenas pasirodo nuo kelių dienų iki keleto savaičių po kontakto su virusu ir gali išsilaikyti keletą mėnesių. HBs antigeno išsilaikymas ilgiau kaip 6 mėnesius serologiškai nurodo chronišką HBV infekciją. Po HBs antigeno išnykimo normaliai seka anti-HBs antikūnų pasirodymas, kas yra gijimo požymis. Anti-HBs antikūnų tyrimas yra atliekamas HBV vakcinos efektyvumo patvirtinimui. Anti-HBc antikūnai yra normaliai aptinkami susirgimo pradžioje (2). Anti-HBc IgM titras didėja (> 100 UPEI/ml) ūmaus hepatito metu, vėliau jo titras mažėja ar iš viso prapuola. Tačiau chroniško hepatito metu žemo IgM titro pasirodymas, atspindintis kepenų citolizę, patvirtina ūmią ligos stadiją (5). Bendri anti-HBc antikūnai, ypač IgG, yra aptinkami ūmaus ir chroniško hepatito atvejais ir išlieka net po pagijimo.

HBe antigenas yra cirkuliuojantis baltymas, kurio seka yra labai panaši į HBc antigeno, tačiau su skirtingu antigeniškumu. Ūmaus ir chroniško hepatito metu HBe antigeno buvimas yra dažniausiai susijęs su intensyvia viruso replikacija. Jo išnykimas sutampa su anti-HBe antikūnų pasirodymu. Anti-HBe serokonversija dažniausiai nurodo palankų kovojimą su liga (6). Nežiūrint to galimas užsikrėtimas mutantiniu viruso variantu, kuris nesugeba sintetinti HBe antigeno, tačiau anti-HBe serokonversija vis tiek įvyksta, dėl ko sumažėja prognozuojanti HBe ir anti-HBe žymenų vertė (7). Šiuo atveju tiesiogiai viruso replikaciją įmanoma nustatyti tik tiriant virusinę DNR.

PRINCIPAS

VIDAS HBs Ag tyrimas yra Imunofermentinis fluorescencinis (ELFA) metodas, kuris atliekamas automatizuota VIDAS sistema (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Šis tyrimas gali būti atliekamas pagal 2 protokolus: HBL ilgas protokolą (90 minučių), HBS trumpas protokolą (60 minučių).

Kietos fazės antgalis (SPR[®]) tarnauja kaip kietą fazę reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po parengiamojo plovimo etapo antigenas, esantis mėginyje tuo pačiu metu susiriša su monokloniniais antikūnais (8), kurie dengia vidinį SPR antgalio paviršių, ir biotinu konjuguotais antikūnais. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu. Prie kietos fazės ir biotininio antikūno prisijungęs antigenas kontaktuoja su streptavidino žymėta šarmine fosfataze, kuri jungiasi su biotinu. Toliau seka sekantis plovimo etapas ir nesusijungę komponentai yra pašalinami.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4–metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4–metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas mėginyje esančio antigeno koncentracijai.

Tyrimo pabaigoje rezultatai instrumento yra analizuojami automatiškai ir išreiškiami kaip indeksas, apskaičiuotas naudojantis standartu.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS:

60 HBS reagentų strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 HBS SPR antgalių 2 x 30	SPR®	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta dviem monokloniniais anti-HBs Ag antikūnais (pelės) (5).
HBS standartas 3 x 1 ml (liofilizuotas)	S1	Serumo pagrindas* papildytas inaktyvuotu žmogaus plazmos HBs antigenu + konservantai. Standartas turi būti praskiestas 1 ml sterilaus distiliuoto vandens (matuoti tiksliai). Leiskite ištirpti mažiausiai 20 minučių ir tuomet sumaišyti kratikliu. Po praskiedimo atskirai išpilstytas standartas turi būti saugojamas prie $-25 \pm 6^{\circ}\text{C}$ iki 6 mėnesių, užšaldant per valandą po praskiedimo. Venkite pakartotino užšaldymo ir atšildymo.
HBS teigiama kontrolė 1 x 1.5 ml (skysta)	C1	Paruošta naudojimui. Serumo pagrindas* papildytas inaktyvuotu žmogaus plazmos HBs antigenu + 1 g/l natrio azido. MLE duomenys nurodo indeksą: pasiklivimo intervalas ("Control C1 (+) Test Value Range").
Neigiama kontrolė 1 x 1.9 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos:		
• MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu.		
ar		
• MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomérieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniam antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas monokloniniu anti-HBs Ag antikūnu (pelės). Kiekvienas SPR yra identifikuotas "HBS" kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR skaičių ir **kruopščiai ją uždarykite po atidarymo.**

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

HBS strypelio apibūdinimas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Konjugatas: ožkos serumo turintis buferis + biotinu žymėti polikloniniai anti-HBs Ag antikūnai (ožkos) + 1 g/l natrio azido (300 µl).
3 - 4 - 7 - 8 - 9	Plovimo buferis: dietanolamino turintis buferis (DEA*: 0.85 mol/l or 9.1%) + Tween 20 + 1 g/l natrio azido (600 µl).
5	Nešėjas: streptavidino žymėta šarminė fosfatazė + 0.9 g/l natrio azido (400 µl).
6	Paruošiamasis plovimo buferis: TRIS buferis (50 mmol/l) (pH = 7.4) + baltymai ir cheminiai stabilizatoriai + 1 g/l natrio azido (600 µl).
10	Kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/l) + DEA** (0.62 mol/l ar 6.6 %) pH 9.2 + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**



Pavojingumo frazė

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

H373 : Gali pakenkti organams, jeigu medžiaga veikia ilgai arba kartotinai.

H315 : Dirgina odą.

H302 : Kenksminga susilietus su oda.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

P309 + P311 : Esant sąlyčiui arba pasijutus blogai: Skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ arba kreiptis į gydytoją.

** Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

Pavojingumo frazė

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS IR VIENKARTINĖS PRIEMONĖS

- Pipetė su vienkartiniais antgaliais, skirta dozuoti po 1 ml ir 150 µl.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifines priemones ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite *Laboratory biosafety manual* - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- **Mėginio užkrėtimas nuo mėginio per kontaktą su pirštinėmis:** kadangi gali būti didelės HBs Ag koncentracijos, todėl griežtai rekomenduojama prieš naudojimą antgalius laikyti stovelyje. Taip pat rekomenduojama mėgintuvėlį su mėginiu laikyti šalia HBs antigeno tyrimo vietos.
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaikykite reagentų (ar SPR antgalių) iš skirtingų gaminių serijų.

- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengtų šių junginių susikaupimo.
- Plovimo buferis (šulinėliai 3, 4, 7, 8, 9) turi kenksmingo reagento (dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Optinė kiuvetė su substratu (10 šulinėlis) turi dirginančio reagento (dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukensminus skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žiūrėkite Naudotojo Instrukciją dėl išsipyliusių skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentas turi būti reguliariai valomas ir nukensminamas (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS HBs Ag rinkinį prie 2-8°C.
- **Neužšaldykite reagentų, išskyrus S1 standartą po praskiedimo.**
- Nepanaudotus reagentus, išskyrus S1 standartą, kuris turi būti laikomas užšaldytas, laikykite prie 2-8°C.
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas

Naudokite serumus (paprasti mėgintuvėliai, mėgintuvėliai su atskiriamuoju geliu, paprasti mėgintuvėliai su rutuliukais) ar plazma surinktą su ličio heparinu. Serumai ir plazma turi būti saugojami atskirti nuo krešulio. Mėginiai, turintys nešvarumų, turi būti valomi centrifuguojant.

Gauti rezultatai rodo, kad jie nebuvo paveikti:

Ikteriniai mėginiai (bilirubino koncentracija iki 500 µmol/l), hemolizuoti mėginiai (hemoglobino koncentracija iki 270 µmol/l (monomeras)) ir lipemiški mėginiai (iki 30 mg/ml).

Mėginių neinaktyvuokite.

Mėginio stabilumas

Mėginiai gali būti laikomi 5 dienas užkimštuose mėgintuvėliuose prie 2-8°C. Jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, serumą ar plazmą užšaldykite prie -25 ± 6°C. Tyrimai, atlikti su 2 mėnesius užšaldytais mėginiais parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną „HBS“ reagentų strypelį ir vieną „HBS“ SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. Įsitinkite, kad pakuotė kruopščiai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.

3. Tyrimas instrumente yra identifikuojamas "HBS" kodu arba "HBL" kodu ilgam protokolui. Standartas turi būti identifiкуotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C2".

4. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (serumas atskirtas nuo ląstelių).

5. Šiam tyrimui, standarto, kontrolės ir mėginio tiriamoji dalis yra 150 µl.

6. Įstatykite "HBS" SPR antgalius ir "HBS" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.

7. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta Naudojimo Instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.

8. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į reikiamą temperatūrą.

9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 60 ar 90 minučių, priklausomai nuo pasirinkto protokolo. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.

10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas.

Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape. Paciento RFV VIDAS sistemoje yra interpretuojama sekančiai:

$$i = \text{tyrimo vertė} = \text{paciento RFV} / \text{standarto RFV}$$

Tyrimo vertė ir interpretacija taip pat yra atspausdinami rezultatų lape. Priklausomai nuo tyrimo verčių rezultatų interpretacija yra sekanti:

Tyrimo vertė		
Trumpas protokolas	Ilgas protokolas	Interpretacija
$i < 0.13$	$i < 0.10$	Neigiama
$i \geq 0.13$	$i \geq 0.10$	Teigiama

Jei teigiamas rezultatas yra gaunamas pacientui be jokios priešankstinės istorijos, tyrimas turi būti pakartotas ir patvirtinamas naudojantis neutralizacijos tyrimu (VIDAS HBs Ag Ultra Confirmation, kodas 30 317) ar kitais tyrimais. Teigiamas mėginys turi būti patvirtinamas naudojantis tuo pačiu tyrimo protokolu (trumpu ar ilgu), koks buvo naudojamas pradiniam mėginio tyrimui.

Prieš pakartojant tyrimą mėginiai turi būti vėl centrifuguojami, kad atskirti bet kokius interferenciją galinčius sukelti fibrino fragmentus ar ląstelių elementus.

Tyrimo rezultatų interpretacija turi būti atliekama atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokius kitus atliktus tyrimus.

VIDAS HBs Ag Ultra yra kalibruotas pagal Société Française de Transfusion Sanguine (Prancūzijos Kraujo Perpylimo Organizacija) (adw2/ayw3 mišinys išreiškiamas ng/ml vienetais) panelį.

VIDAS HBs Ag Ultra analitinis jautrumas, kuris buvo nustatytas naudojantis šiuo paneliu, yra mažiau nei 0.20 ng/ml su trumpu protokolu (HBS), ir mažiau nei 0.15 ng/ml su ilgu protokolu (HBL).

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su kiekvienu VIDAS HBs Ag rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinos vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

- Interferencija (t.y. anti-idiotipiniai antikūnai) gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, tyrimas turi būti deklaruojamas kaip teigiamas tik įvertinus paciento istoriją ir tyrimų rezultatus kitiems hepatito B žymenims.
- Neigiamas Ag HBs rezultatas neleidžia atmesti infekcijos hepatitu B. Antigeno koncentracija HBs serume gali būti mažesnė nei analitinis reagento jautrumas. Modifikuoto HBs antigeno (varianto) buvimo galimybė negali būti atmesta; šiuo atveju antigenas gali būti neteisingai atpažintas ar neatpažįstamas antikūnų. Tyrimo rezultatų interpretacija turi būti atliekama atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokius kitus atliktus tyrimus (patvirtinimas neutralizacija, HBV DNR tyrimai ir pan.).
- Retais atvejais yra įmanoma aptikti tiek HBs antigeną tiek anti-HBs antikūnus.
- Šis tyrimas buvo patvirtintas naudojimui su serumu ir plazma ir neturi būti naudojamas su kitais biologiniais skysčiais, tokiais kaip seilės, cerebrospinalinis skystis ar šlapimas.
- Šis tyrimas neturi būti naudojamas tirti mėginius, surinktus *post-mortem* sąlygomis.
- Nenaudokite serumų mišinių

TIKĖTINŲ VERČIŲ RIBOS (9)

Hepatito B paplitimas pasaulyje kinta priklausomai nuo šalies:

Pasaulio regionas	HBs Ag paplitimas (%)
Europa, Šiaurės Amerika, Australija.	0.2-0.5
Rytų Europa, Viduržemio jūros baseinas, Rusija, Pietvakarių Azija, Pietų Amerika.	2-7
Pietryčių Azija, tropinė Afrika.	8-20

ATLIKIMAS

Tyrimų rezultatai, kurie pademonstravo VIDAS HBs Ag Ultra atitikimą Common Technical Specifications of Directive 98/79/EC reikalavimams, yra sekantys:

1. Kraujo donorų populiacijos specifiškumas

Trumpuoju ir ilguoju protokolais buvo tirti 5059 kraujo donorų mėginių iš 2 kraujo perpylimo centrų. Neatitikimų tarp dviejų protokolų nebuvo aptikta.

VIDAS HBs Ag Ultra (HBS/HBL)	Galutinis kitų imunofermentinių metodų vertinimas	
	Teigiamas	Neigiamas
Teigiamas	0	0
Neigiamas	0	5059

Santykinis specifiškumas su VIDAS HBs Ag Ultra šiai populiacijai: 100.00 %

(95% pasikiovimo intervalas: 99.87 % - 100.00 %.)

2. Klinikinis specifiškumas

a) ligoninių pacientams:

Naudojant trumpą protokolą, ilgą protokolą ir kitus imunofermentinius metodus buvo tirta 200 mėginių. Neatitikimų tarp dviejų protokolų ir metodų, naudotų kaip patvirtinantys, nebuvo aptikta.

Santykinis specifiškumas VIDAS HBs Ag Ultra dviem protokolais (trumpu ir ilgu) šiai populiacijai: 100.00 %.

(95% pasikiovimo intervalas: 98.04 % - 100.00 %.)

b) ambulatoriniams ligoniams priežiūros centruose:

Naudojant trumpą protokolą, ilgą protokolą ir kitus imunofermentinius metodus buvo tirta 100 mėginių. Neatitikimų tarp dviejų protokolų ir metodų, naudotų kaip patvirtinantys, nebuvo aptikta.

Santykinis specifiškumas VIDAS HBs Ag Ultra dviem protokolais (trumpu ir ilgu) šiai populiacijai: 100.00 %.

(95% pasikiovimo intervalas: 96.38 % - 100.00%.)

3. Analitinis jautrumas

Naudojant Prancūzijos Kraujo Perpylimo Centro panelį buvo atliktas išorinis tyrimas, kuris parodė 0.12 ng/ml jautrumą su trumpu protokolu (HBS) ir 0.08 ng/ml su ilgu protokolu (HBL).

VIDAS HBs Ag Ultra jautrumas, nustatytas naudojant tarptautinį standartą NIBSC 00/588, buvo įvertintas prie 0.05 IU/ml su ilgu protokolu (HBL) ir prie 0.075 IU/ml, su trumpuoju (HBS).

4. Diagnostinis jautrumas

Buvo tiriama 30 šviežių mėginių su teigiamu statusu (surinkta per < 24 valandas) ir nustatyta, kad jie yra teigiami naudojant VIDAS HBs Ag Ultra su trumpuoju protokolu (HBS). 30 šviežių mėginių su neigiamu statusu (surinkta per < 24 valandas) buvo ištirti, ir nustatyta, kad jie yra neigiami su VIDAS HBs Ag Ultra, naudojant trumpąjį protokolą (HBS).

Buvo tiriama 31 šviežias su teigiamu statusu (surinkta per < 24 valandas) ir nustatyta, kad jie yra teigiami naudojant VIDAS HBs Ag Ultra su ilguoju protokolu (HBL). 31 šviežias mėginys su neigiamu statusu (surinkta per < 24 valandas) buvo ištirti, ir nustatyta, kad jie yra neigiami su VIDAS HBs Ag Ultra naudojant ilgąjį protokolą (HBL).

5. Aptinkamumas

Buvo atliktas tyrimas, naudojant 506 kaip teigiamus charakterizuotus mėginius, tame tarpe 28 potipių ar genotipų mėginius ir 46 ūmaus hepatito pacientų mėginius. Aptinkamumas su trumpu protokolu (slenkstis 0.08 ng/ml) ir su ilgu protokolu (slenkstis 0.12 ng/ml), yra 100.00 %.

(95% pasikliovimo intervalas: 99.22 % - 100.00%).

6. Serokonversinių pelių jautrumas

Tyrimų metu naudojant du VIDAS HBs Ag Ultra protokolus buvo tirti 32 serokonversiniai paneliai.

Su trumpu protokolu HBs Ag anksčiau buvo aptinkamas su VIDAS HBs Ag Ultra nei su palyginamuoju metodu 13 kartų iš 32 serokonversinio panelio kartų (12 pelių vienas mėginys anksčiau, 1 pelyje du mėginiai anksčiau). Viename pelyje viename mėginyje HBs Ag aptiktas vėliau.

Su ilgu protokolu, 14 kartų iš 32 tirtų pelių buvo aptinkamas anksčiau nei su palyginamuoju metodu (9 pelių vienas mėginys anksčiau, 5 pelių du mėginiai anksčiau).

7. HBs Ag mutantų jautrumas

Buvo sėkmingai ištirtas 27 rekombinantinių baltymų panelis, imituojantis svarbiausias mutacijas HBs Ag amino rūgšties grandinėse ir 4 natyvus mėginiai su HBs Ag mutantais (10).

8. Tikslumas

Atkartojamumas to pačio ir skirtingų tyrimų serijų ribose buvo nustatytas ir suskaičiuotas pagal NCCLS dokumento EP5-T2, leidinio 12-4 rekomendacijas.

Atkartojamumas tyrimo serijos ribose

Rezultatai išreiškiami kaip indeksas:

Mėginys	Trumpas protokolas			Ilgas protokolas	
	N	Vidurkis	CV (%)	Vidurkis	CV (%)
Teigiamas	72	3.42	3.41	3.07	2.68
Silpnai teigiamas	72	0.21	4.98	0.15	3.94
Neigiamas	80	0.01	0.00 *	0.02	0.00 *

* kadangi indekso vertė yra per maža suskaičiuoti CV, todėl nurodomas tik standartinis nuokrypis.

Atkartojamumas skirtingų tyrimų ribose

Bendras tikslumas įvertintas atsižvelgiant į visus pokyčių šaltinius.

Rezultatai išreiškiami kaip indeksas:

Mėginys	Trumpas protokolas			Ilgas protokolas	
	N	Vidurkis	CV (%)	Vidurkis	CV (%)
Teigiamas	72	3.42	11.58	3.07	6.17
Silpnai teigiamas	72	0.21	12.41	0.15	6.75
Neigiamas	80	0.01	0.01 *	0.02	0.01 *

* kadangi indekso vertė yra per maža suskaičiuoti CV, todėl nurodomas tik standartinis nuokrypis.

9. Kryžminis reaktyvumas

Buvo tirti 367 pacientų, kurių fiziologinė būklė buvo panaši į tokią, kuri galėtų turėti poveikio HBs antigeno tyrimui, mėginiai. Visi mėginiai kitu imunofermentiniu metodu buvo nustatyti esantys neigiami. Neatitikimų tarp dviejų protokolų ir metodų, naudotų kaip patvirtinantys, nebuvo aptikta.

	VIDAS HBs Ag Ultra teigiami mėginiai
HCV +	0/20
EBV +	0/10
HIV +	0/10
CMV IgG +	0/10
HAV IgG +	0/10
HSV +	0/10
Sifilis	0/10
Raudoniukė IgG +	0/10
Toksoplazmozė IgG +	0/10
Reumatoidinis faktorius	0/9
Anti-nukleariniai antikūnai	0/9
Ne virusinis hepatitas	0/5
Dializės pacientai	0/10
Jaunesni kaip 15 metų vaikai	0/10
Skiepyti asmenys: Anti-HBs +	0/10
Nėščia moteris *	0/214**

* įtraukiant ir 22 multiparametrus

** įtraukiant 2 klaidingai teigiamus rezultatus, kurie nebuvo pakartoti su ilgu protokolu.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras.

Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. LAVANCHY D., Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention. *Journal of Clinical Virology* 34 suppl. 1 (2005) S1-S3.
2. HOLLINGER F.B., Hepatitis B virus, in *Fields Virology*, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2739-2807.
3. BLUMBERG B.S., ALTER H.J., VISNICH S. JAMA, A "New" Antigen in Leukemia Sera, 1965, 191, 541-546.
4. PRINCE A.M., An antigen detected in blood during the incubation period of serum hepatitis, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1968, 60, 814-821.
5. BRUNETTO, M.R., CERENZIA M.T., OLIVERI F., PIANTONI P., RANDONE A., CALVO P., MANZINI P., ROCCA G., GALLI C. and BONINO F., Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-HBc, *Journal of Hepatology*, 1993, 19, 431-436.
6. ALDERSHIVILE J., FRÖSNER G.G., NEILSEN J.O. et al., Hepatitis B e antigen and antibody measured by radioimmunoassay in acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis, *Journal of Infectious Diseases*, 1980, 141, 293-298.
7. TONG S.T. and TREPO C., The HBe-minus mutants of hepatitis B virus in *The Molecular Medicine of Viral Hepatitis*, Harrison T.J. and Zuckerman A.J. ed., 1997, 89-104.
8. JOLIVET-REYNAUD. C., LESENECHAL. M., O' DONNELL. B. et al.- Localization of hepatitis B surface antigen epitopes present on variants and specifically recognised by anti-hepatitis B surface antigen monoclonal antibodies - *Journal of Medical Virology* - 2001, vol. 65, p.241-249.
9. ZUCKERMAN A.J., Hepatitis Viruses. In: Baron S, eds. *Medical Microbiology*, 4th ed. The University of Texas M Branch at Galveston, 1996 : 849-863.
10. WEBER B., VAN DER TAELEM-BRULE N., BERGER N. et al. Evaluation of a new automated assay for hepatitis B surface antigen (HBs Ag) detection VIDAS HBs Ag Ultra, *Journal of Virological Methods* 135, 2006, 109-117.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

N/A

Netaikoma (pirmoji publikacija)

Korekcijos

Dokumentacijos anomalijų korekcijos

Techniniai pakeitimai

Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas

Administracinis

Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

Pastaba:*Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formataavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.*

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	11728I	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/05	11728J	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausantis prekių ženklai.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.



bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS® Anti-HBs Total II (AHBS)

VIDAS Anti-HBs Total II is an automated quantitative test for use on the VIDAS family of instruments, for the immunoenzymatic detection of antibodies to hepatitis B surface antigen (Anti-HBs) in human serum or plasma using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

The hepatitis B virus (HBV) is responsible for acute and chronic hepatitis infections, possibly evolving to cirrhosis or primary liver cancer. Chronicity occurs in 5 to 10% of cases in adults, but up to 90% of cases in infants following perinatal transmission. Currently, more than 360 million people worldwide are chronic carriers of the virus (1). The hepatitis B virus can be transmitted by parenteral and perinatal pathways or through sexual contact. People most at risk are health workers, drug addicts, those with multiple sexual partners, multiple transfusion or hemodialysis patients, as well as close friends and family of an infected subject, and newborns of an infected mother (2).

HBs antigen (HBsAg) appears several days to several weeks after contact with the virus and can persist for several months: in this case, the infection is considered to be "chronic". Disappearance of the HBs antigen is normally followed by the appearance of Anti-HBs, which is a sign of recovery. In this case, the presence of Anti-HBs is associated with that of Anti-HBc.

The detection of Anti-HBs is thus performed to monitor infected patients, but also to check the efficacy of immunization against the hepatitis B virus (vaccination by HBsAg).

Strategies of vaccination against HBV depend on the epidemiological situation. It is strongly recommended for subjects at risk. In vaccinated individuals, only the Anti-HBs are positive. The persistence of Anti-HBs is related to the initial titer obtained after the complete vaccination series has been administered.

The "European Consensus Group" recommends performing Anti-HBs determination 1 to 3 months following vaccination (3). It is only possible to affirm that the immunological memory will confer long-term protection to immunocompetent adults if titers are greater than 100 mIU/mL (3, 4).

Nevertheless, numerous countries have adopted 10 mIU/mL as the lowest titer indicating protective immunity against HBV infection (4).

For the detection of Anti-HBs, there is no reference measurement method that can guarantee immunity to HBV, particularly for low titers. The nature of the Ag used in the vaccine and in Anti-HBs detection tests, may cause the results obtained to vary (5).

USE

- monitoring of patients infected with the hepatitis B virus, treated patients, and patients on the road to recovery,
- monitoring of pre- and/or post-vaccine immunity status of patients.

PRINCIPLE

The assay principle combines an enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR®), serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and are pre-dispensed in the sealed reagent strips.

The five reaction steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times. Each step is followed by a wash cycle which eliminates unbound components:

- Specific binding of antibody in the sample to the ad and ay HBs surface antigen coated on the interior of the SPR.
- Formation of an antibody/antigen complex bound to the SPR with the biotinylated antigens in the diluent (HBs sub-types ad and ay).
- Wash cycle.
- Binding of the biotin to the anti-biotin-alkaline phosphatase conjugate.
- Wash cycle.
- Detection: alkaline phosphatase catalyzes the hydrolysis of the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 450 nm.

The intensity of the fluorescence is proportional to the quantity of Anti-HBs in the sample. At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument in relation to the calibration curve stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS):

60 AHBS Strips	STR	Ready-to-use.
60 AHBS SPRs 2 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with recombinant hepatitis B surface antigen, subtypes ad and ay.
AHBS Positive control 1 x 2.4 mL (liquid)	C1	Ready-to-use. Human serum* containing Anti-HBs +preservatives. MLE data indicate the confidence interval in mIU/mL ("Control C1 (+) Dose Value Range").
AHBS Negative control 1 x 5.8 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Human serum* without Anti-HBs + preservatives. MLE data indicate the confidence interval in mIU/mL ("Control C2 (-) Dose Value Range").
Calibrator 2 x 2.4 mL (liquid)	S1	Human serum* containing Anti-HBs + preservatives.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib .		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs surface antigen and antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR®

The interior of the SPR is coated during production with recombinant hepatitis B surface antigen subtypes ad and ay (6). Each SPR is identified by the code "AHBS". Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the AHBS strip:

Wells	Reagents.
1	Sample well.
2	Sample diluent: calf serum + Tetraborate (pH 7.8) + biotin-labeled ad and ay surface antigen + fetal calf serum + preservatives (300 µL).
3 - 4 - 6 - 7 - 8 - 9	Wash solution: buffer pH 7.8 + Tween 20 + preservatives (600 µL).
5	Detection conjugate: Tris buffer + alkaline phosphatase-labeled anti-biotin antibody + preservatives (400 µL).
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/L) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/L or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/L sodium azide (300 µL).

* Signal Word: **DANGER**

**Hazard statement**

H318: Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense **200 µL**.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User Manual.
- Instrument of the VIDAS family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory Biosafety Manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPR[®]s if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS Anti-HBs Total II kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label. Refer to the kit composition table for special storage conditions.

SPECIMENS**Specimen type and collection:**

Human serum or plasma.

Frozen-stored samples: after thawing, these samples must be homogenized before analysis. Mix using a vortex-type mixer. If necessary, clarify the samples by centrifugation before analysis.

Types of tubes validated:

- Silicone coated tube
- PET tube with clot activator
- PET tube with separator gel
- Tube with lithium heparin
- Tube with sodium heparin
- Tube with lithium heparin and separator gel

Follow the tube manufacturer's recommendations for use.

Note: Blood sampling tube results may vary from one manufacturer to another depending on the materials and additives used.

It is the responsibility of each laboratory to validate the type of sample tube used and to follow the manufacturer's recommendations for use.

Sample-related interference

None of the following factors have been found to significantly influence this assay:

- albumin up to 60 g/L
- rheumatoid factor up to 800 IU/mL
- hemolysis, after spiking samples with purified hemoglobin up to 300 µmol/L or 500 mg/dL (monomer),
- lipemia (after spiking samples with lipids up to 30 g/L equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin up to 510 µmol/L or 30 mg/dL).

However, it is recommended not to use samples that are clearly hemolyzed or lipemic and, if possible, to collect a new sample.

Do not inactivate samples.**Specimen stability**

The stability of samples separated from the clot has been validated using samples in stoppered tubes:

- at 18-25°C for 8 hours
- at 2-8°C for 5 days.

If longer storage is required, freeze the sera at -25 ± 6°C.

Three freeze/thaw cycles have been validated over a period of six months.

These studies did not reveal any impact on the quality of results.

INSTRUCTIONS FOR USE

**For complete instructions, see the User Manual.
Reading VIDAS® Protocole Test Change (PTC)
protocol data and MLE data**

When using the assay for the first time:

With the external instrument barcode reader,

1. Scan the PTC barcode(s) at the end of the package insert. or downloadable from www.biomerieux.com/techlib. This reading allows VIDAS® PTC protocol data to be transferred to the instrument software for its update.

2. Scan the MLE data on the box label.

Note: If the MLE data have been read before the VIDAS® PTC protocol, read the MLE data again.

When opening a new lot of reagents:

Enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed before initiating the tests, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User Manual).

Calibration

Calibration, using the calibrator provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered, and then every 28 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The calibrator, identified by S1, must be tested in duplicate. The calibration values must be within the set RFV ("Relative Fluorescence Value"). If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Remove the required reagents from the refrigerator. They can be used immediately.**
2. Use one "AHBS" strip and one "AHBS" SPR for each sample, control or calibrator to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "AHBS" code on the instrument. The calibrator must be identified by "S1" and tested **in duplicate**. The positive control is identified by "C1" and tested singly. The negative control is identified by "C2" and tested singly.
4. Mix the calibrator, controls, and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).

5. For this test, the calibrator, control, and sample test portion is 200 µL.

6. Insert the "AHBS" SPRs and "AHBS" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the User Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
8. Reclose the vials and return them to the recommended temperature after pipetting.

9. The assay will be completed within approximately 60 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.

10. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The results are automatically calculated using calibration curves which are stored by the instrument (4-parameter logistics model) and are expressed in mIU/mL. The measuring range is 3-500 mIU/mL.

VIDAS Anti-HBs Total II is calibrated against the international standard (WHO Second International Standard 07/164 for anti-hepatitis B surface antigen (Anti-HBs) immunoglobulin).

Interpretation of results is as follows:

TITER (mIU/mL)	INTERPRETATION
Titer < 8	Negative
8 ≤ Titer < 12	Equivocal
Titer ≥ 12	Positive

All equivocal results must be confirmed using a second sample.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed.

Specimen dilution

Only dilute specimens which, when first tested, gave a positive result > 500 mIU/mL with VIDAS Anti-HBs Total II.

The specimens should be diluted in the C2 negative control. In most cases, a 1:10 dilution (1 volume of sample + 9 volumes of negative control) enables a result to be obtained which is within the measurement range.

If the dilution factor has not been entered when the Work List was created (see User Manual), multiply the result by the dilution factor to obtain the sample concentration.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS Anti-HBs Total II kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values. All the samples tested since the last valid control will have to be retested.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any applicable local regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Recent studies have shown that the Anti-HBs measuring range following vaccination depends on both the vaccine and the test kit (5).

In HBV infected patients, the simultaneous presence of HBsAg and Anti-HBs can affect the detection of Anti-HBs. Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history and the results of any other tests performed.

In the context of vaccination, samples with concentrations <10 mIU/mL are considered to be non-reactive (negative) and samples with concentrations >10 mIU/mL are considered to be reactive (positive).

Nevertheless, since the VIDAS Anti-HBs Total II assay has an equivocal zone, it is recommended to refer to the results and interpretation section of this package insert.

Given the diversity of antibodies, the results obtained can differ depending on the assay used. If assays from different manufacturers are used with the same sample, the results can vary as much as four-fold (in rare cases as much as ten-fold). If the test system is changed during vaccination follow-up, the Anti-HBs level must be determined in parallel on the two systems during the transitional period (7).

PREVALENCE

The prevalence (8) of Anti-HBs varies depending on the endemic disease and vaccination policies.

Region of the world	Anti-HBs (%)
Northern, eastern, and central Europe, North America, Australia.	4 - 6
Eastern Europe, Mediterranean basin, Russia, Southwest Asia, South America.	20 - 55
Southeast Asia, tropical Africa.	70 - 95

Vaccination produces anamnestic responses in approximately 90% of vaccinated individuals, if they are healthy adults less than 40 years of age. The factors associated with a waning antibody response are age, smoking, obesity, HIV infection or chronic disease (9).

The following table indicates the seroconversion rates which may be observed according to age (10).

Neonates	> 95%
2-19 years	~ 99%
20-29 years	~ 95%
30-39 years	~ 90%
40-49 years	~ 85%
50-59 years	~ 70%
>59 years	~ 50%
Renal failure, HIV infection, other immunosuppression	50-70%
Liver disease	60-70%

PERFORMANCE

Diagnostic Sensitivity and Specificity

The VIDAS Anti-HBs Total II assay performance was established using characterized samples. The status of samples was defined by the agreement of results obtained using three commercially available EIAs (CE marked).

The samples with indeterminate status (discordant results between the three systems) were excluded from the analysis (82 samples or 3.7% of the samples tested).

A total of 2110 samples were tested and analyzed at two laboratories: 641 blood donor samples and 1469 clinical samples. Among these samples, 1041 had a positive status (including 116 samples from naturally infected patients and 925 from patients vaccinated against hepatitis B) and 1069 had a negative status.

The following results were obtained:

VIDAS Anti-HBs Total II results	Sample Status		
	Positive	Negative	Total
Positive	1019	11	1030
Negative	10	1043	1053
Total	1029	1054	2083*

* Equivocal results obtained with VIDAS Anti-HBs Total II excluded from the analysis (34 samples or 1.6% of the samples tested).

The diagnostic specificity of VIDAS Anti-HBs Total II for this population is: **99.0%** (95% confidence interval: [98.1 – 99.5]%).

The diagnostic sensitivity of VIDAS Anti-HBs Total II for this population is: **99.0%** (95% confidence interval: [98.2 – 99.5]%).

Sensitivity for seroconversion panels

During a study, twelve commercial seroconversion panels were detected by the device and the results were comparable to those claimed by the manufacturers. They consisted of 11 follow up panels and 1 seroconversion panel.

Limits of detection and quantitation

The Limit of Detection (LoD), corresponding to the concentration of Anti-HBs in a sample likely to be distinguished from the blank sample with a 95% probability, is equal to 1.03 mIU/mL. The Limit of Quantitation (LoQ), corresponding to the lowest concentration of anti-HBs that can be quantified with an acceptable level of precision and accuracy, is equal to 2.58 mIU/mL. The study was performed as recommended in the CLSI® EP17-A document.

Linearity

The VIDAS Anti-HBs total II assay is linear over the claimed measurement range, according to the study performed following the recommendations of the CLSI® EP6-A document.

Hook effect

No hook effect was observed up to Anti-HBs concentrations of 75000 mIU/mL.

Precision

The repeatability and reproducibility of the VIDAS Anti-HBs Total II assay were evaluated according to the recommendations of the CLSI® EP5-A2 document. Four human samples were tested in duplicate using two lots of reagents (N = 240). Testing was performed twice a day for 10 days on 3 instruments. Two calibrations were used for each lot (5 test days per calibration and per lot). The combined results of this study are summarized in the following table:

Sample	Mean measured value (mIU/mL)	Repeatability		Between-lot; Between-system Reproducibility	
		Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
Sample 1	5.72	0.21	3.7	0.46	8.0
Sample 2	16.82	0.55	3.3	1.37	8.1
Sample 3	241.00	10.03	4.2	16.65	6.9
Sample 4	324.80	12.88	4.0	20.95	6.5

Cross-reactivity

Cross-reactivity is based on the study of samples that are negative with the assay being evaluated and positive for the potentially interfering physiological state. The results of the potentially interfering samples tested are shown in the table below:

	Number of patients	VIDAS Anti-HBsT II positive results % cross-reactivity
Anti-nuclear antibodies	20	0 (0%)
Anti Pichia	11	0 (0%)
CMV IgG	10	0 (0%)
EBV IgG	13	0 (0%)
FR	16	0 (0%)
HAMA	10	0 (0%)
HAV T	12	0 (0%)
HBc T	16	0 (0%)
HCV	21	0 (0%)
HEV	3	0 (0%)
HIV	15	0 (0%)
HSV IgG	15	0 (0%)
Rub IgG	15	0 (0%)
Syphilis IgG	11	0 (0%)
Toxoplasma IgG	12	0 (0%)
Multiparous pregnant women	10	0 (0%)
Non-viral liver disease	3	0 (0%)

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. WHO : Weekly epidemiological record., 2009, October 2009. No. 40 Vol 84, p405–420. JIA-HORNG KAO., DING-SHINN CHEN. – Global control of hepatitis B virus infection – The Lancet infectious diseases July 2002 Vol 2, p.395-403.
2. HOLLINGER FB. - Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2739-2807.
3. KANE M et al. – Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity – The Lancet 2000, vol. 355, 561-565.
4. WEST DJ., CALANDRA GB. – Vaccine induced immunologic memory for hepatitis B surface antigen : implications for policy on booster vaccination – Vaccine 1996, vol. 14, 1019-1027.
5. HEIJTINK RA., SCHNEEBERGER PM., POSTMA B et al. – Anti-HBs levels after hepatitis B immunisation depend on test reagents : routinely determined 10 and 100 IU/ml seroprotection levels unreliable -Vaccine 20, 2002, 2899-2905.
6. OTTONE S., NGUYEN X., BAZIN J, BÉRARD C, JIMENEZ S and LETOURNEUR O. Expression of hepatitis B surface antigen major subtypes in Pichia pastoris and purification for in vitro diagnosis. Protein Expr Purif. 2007 Dec;56(2):177
7. HUZLY D., SCHENK T., JILG W. and NEUMANN-HAEFELIN D. Comparison of Nine Commercially Available Assays for Quantification of Antibody Response to Hepatitis B Virus Surface Antigen. Journal of Clinical Microbiology. 2008 apr ;Vol. 46, N°4 : 1298-306
8. ZUCKERMAN AJ., Hepatitis Viruses. In: Baron S, eds. Medical Microbiology, 4th ed. The University of Texas M Branch at Galveston, 1996 : 849-863.
9. STENZEL M. - Hepatitis B : the only vaccine-preventable bloodborne pathogen – Medecine and Health, 2000, vol.83, n°7, 201-204.
10. ROBINSON WS., Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Mandell GL, Bennett JE, and Dolin R. eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed. New York. Churchill Livingstone, 1995: 1406-1439.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORY

Change type categories:

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	9304018E	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/09	9304018F	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) INSTRUCTIONS FOR USE
2016/10	9304018G	Technical	PERFORMANCE

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

CLSI is a trademark belonging to Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS[®] Anti-HBs Total II (AHBS)

VIDAS Anti-HBs Total II yra automatizuotas kiekybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, imunofermentiniam antikūnų prieš hepatito B paviršinį antigeną (Anti-HBs) žmogaus serume ar plazmoje, panaudojant ELFA technologiją (Imunofermentinis fluorescencinis metodas), nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Hepatito B virusas (HBV) yra atsakingas už ūmią ir chronišką hepatito infekciją, kuri gali sukelti cirozę ar pirminį kepenų vėžį. Chroniškumas pasireiškia nuo 5 iki 10% atvejų suaugusiems, tačiau iki 90% atvejų kūdikiams po perinatalinio perdavimo. Šiuo metu daugiau kaip 350 milijonų žmonių visame pasaulyje yra chroniškai viruso nešiotojai (1). Hepatito B virusas gali būti perduodamas parenteraliniu ar perinataliniu būdu ar lytinio kontakto metu. Didžiausia žmonių rizikos grupė yra sveikatos apsaugos darbuotojai, narkomanai, asmenys, kurie dažnai keičia lytinius partnerius, tie kurie yra daug kartų patyrę kraujo perpylimą ar hemodializės pacientai, taip pat infekuotų asmenų artimi draugai ar šeimos nariai, infekuotų motinų naujagimiai (2).

HBs antigenas (HBsAg) pasirodo nuo kelių dienų iki keleto savaičių po kontakto su virusu ir gali išsilaikyti keletą mėnesių: šiuo atveju infekcija yra laikoma „chroniška“. Po HBs antigeno dingimo normaliai seka anti-HBs pasirodymas, kas yra išgyjimo ženklas. Šiuo atveju anti-HBs buvimas yra susijęs su anti-HBc buvimu.

Tokiu atveju anti-HBs nustatymas yra atliekamas infekuotų pacientų stebėjimui bei imunizacijos prieš hepatito B virusą efektyvumą patikrinimui (vakcinacija su HBsAg).

Skiepijimo prieš HBV strategija priklauso nuo epidemiologinės situacijos. Ji griežtai yra rekomenduojama rizikos grupės asmenims. Vakcinuotiems asmenims teigiamas yra tik anti-HBs. Anti-HBs išsilaikymas yra susijęs su pradiniu titru, įgaunamu po įvykdytos pilnos vakcinavimo serijos.

« European Consensus Group » rekomenduoja atlikti anti-HBs tyrimą 1-3 mėnesiai po įvykusios vakcinacijos (3). Vienintelis būdas patvirtinti, kad imunologinė atmintis suteiks ilgalaikę apsaugą imunokompetentiniams suaugusiems asmenims, yra nustatyti, kad titras yra didesnis kaip 100 mIU/ml (3, 4).

Nepaisant to daugelis šalių nustatė 10 mIU/ml mažiausią ribą, nurodančią apsaugą prieš HBV infekciją (4).

Anti-HBs nustatymui neegzistuoja jokių referentinių tyrimo metodų, kurie galėtų garantuoti imunitetą prieš HBV, ypač esant mažiems titrams. Vakcinoje ir anti-HBs tyrimuose naudojamo antigeno (Ag) prigimtis gali duoti kintančius rezultatus (5).

NAUDOJIMAS

- Hepatito B virusu infekuotų, gydomų ir sveikstančių pacientų stebėjimas,
- Pacientų imuniteto būklės stebėjimas prieš vakcinaciją ir po jos.

PRINCIPAS

Tyrimo principas grindžiamas imunofermentiniu sumuštinio metodu, su galutiniu fluorescencijos nustatymu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR[®]), tarnauja kaip kietą fazę reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

- Penki reakcijos etapai instrumento atliekami automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Po kiekvieno etapo seka plovimo etapas, kurio metu pašalinami nesusirišę komponentai.
- Specifinis mėginyje esančių antikūnų susirišimas su ad ir ay HBs paviršiaus antigenais, padengtu ant vidinės SPR antgalio pusės.
- Komplexo, turinčio surištus antikūnus/biotinilintus antigenus (HBs potipiai ad ir ay), susidarymas.
- Praplovimo ciklas.
- Biotino susirišimas su anti-biotino šarminės fosfatazės konjugatu.
- Praplovimo ciklas.

Aptikimas: šarminė fosfatazė katalizuoja substrato (4-metil-umbeliferil fosfato) hidrolizę į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos.

Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas anti-HBs kiekiui mėginyje. Tyrimo pabaigoje rezultatai, priklausomai nuo atmintyje išsaugotos kalibravimo kreivės, yra automatiškai apskaičiuojami instrumente ir tuomet yra atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ):

60 AHBS strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 AHBS SPR antgalių 2 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta rekombinantiniu hepatito B paviršiaus antigenu, potipiais ad ir ay.
AHBS teigiama kontrolė 1 x 2.4 ml (skysta)	C1	Paruošta naudojimui. Žmogaus serumas*, sudėtyje turintis Anti-HBs +konservantų MLE duomenys nurodo pasiklivimo intervalą mIU/mL (mil Tarptautiniai Vienetai mililitre) vienetais ("Control C1 (+) Dose Value Range").
AHBS neigiama kontrolė 1 x 5.8 ml (skysta)	C2	Paruošta naudojimui. Žmogaus serumas * be Anti-HBs + konservantai MLE duomenys nurodo pasiklivimo intervalą mIU/mL (mil Tarptautiniai Vienetai mililitre) vienetais ("Control C2 (-) Dose Value Range").
Kalibratorius 2 x 2.4 ml (skystas)	S1	Žmogaus serumas*, sudėtyje turintis Anti-HBs +konservantų
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniam antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Todėl, dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR® antgalis

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas rekombinantiniu hepatito B paviršiaus antigeno ad ir ay potipiais (6). Kiekvienas SPR yra identifikuotas "AHBS" kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR skaičių **ir po atidarymo sandariai ją uždarykite.**

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

AHBS strypelio aprašymas:

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: veršiuko serumas + Tetraboratas (pH 7.8) + biotinu žymėtas ad ir ay paviršiaus antigenas + veršiuko embriono serumas + konservantai (300 µL).
3 - 4 - 6 - 7 - 8 - 9	Praplovimo tirpalas: buferis pH 7.8 + Tween 20 + konservantai (600 µL).
5	Aptikimo konjugatas: Tris buferis + šarminė fosfatazės žymėtas anti-biotino antikūnas + konservantai (400 µL).
10	Nuskaitymo kiuvetė su substratu: 4-Metil-umbeliferil fosfatas (0.6 mmol/l) + dietanolaminas (DEA*) (0.62 mol/L ar 6.6%, pH 9.2) + 1 g/L natrio azido (300 µL).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS

- Dozatorius su vienkartiniais antgaliais, skirtas dozuoti po 200 µl.
- Vienkartinės pirštinės be pudros.
- Dėl kitų specifinių medžiagų ir vienkartinių priemonių prašome žiūrėti instrumento naudojimo instrukciją.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo, imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite Laboratory Biosafety Manual - WHO - Geneva – Paskutinis leidimas).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR® antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų STR strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite skirtingų serijų reagentų (ar vienkartinių priemonių).
- Naudokite pirštines be talko, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia neteisingus kai kurių imunofermentinių tyrimų rezultatus.
- Substratas, esantis 10 šulinėlyje, sudėtyje turi dirginančio agento (6.6% dietanolaminas). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyčius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukensminus skystu detergentu arba buitėje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žr. vartotojo vadove, kaip valyti išsipyčius ant ar į instrumentą skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą reikia reguliariai valyti ir nukensminti (žr. vartotojo vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- VIDAS Anti-HBs Total II rinkinį laikykite prie 2-8°C.
- **Neužšaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, ar SPR pakuotė yra tinkamai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugerėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės. Žiūrėkite į rinkinio sudėties lentelę dėl specialių laikymo sąlygų.

MĖGINIAI**Mėginio tipas ir surinkimas:**

Žmogaus serumas ar plazma.

Užšaldyti mėginiai: prieš tyrimą atšildyti mėginiai turi būti homogenizuojami. Maišykite naudodami vortex tipo maišyklę. Jei reikia, mėginius išgryninkite centrifuguodami.

Patvirtinti mėgintuvėlių tipai:

- Silikonu padengti mėgintuvėliai
- PET mėgintuvėliai su krešėjimo aktyvatoriumi
- PET mėgintuvėliai su skiriamuoju geliu
- Mėgintuvėliai su ličio heparinu
- Mėgintuvėliai su natrio heparinu
- Mėgintuvėliai su ličio heparinu ir skiriamuoju geliu

Laikykites gamintojo pateikiamų naudojimo rekomendacijų.

Pastaba: kraujo paėmimo mėgintuvėlių rezultatai gali skirtis priklausomai nuo gamintojo dėl gamyboje naudotų skirtingų medžiagų ir priedų.

Kiekviena laboratorija yra atsakinga už naudojamų mėginių mėgintuvėlių tipo patvirtinimą ir gamintojo rekomendacijų laikymąsi..

Su mėginiu susijusi interferencija

Nė vienas iš išvardintų faktorių neturėjo įtakos šiam tyrimui:

- albuminas iki 60 g/L
- reumatoidinis faktorius iki 800 IU/mL
- hemolizė, po išgryninto hemoglobino įdėjimo į mėginius, iki 300 µmol/L ar 500 mg/dL (monomeras),
- lipemija (po lipidų įdėjimo į mėginius, iki 30 g/L trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo į mėginius, iki 510 µmol/L ar 30 mg/dL).

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių, kurie yra aiškiai hemolizuoti, lipemiški ar ikteriški ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius.

Neinaktyvuokite mėginių.**Mėginių stabilumas**

Mėginių be krešulių stabilumas buvo patvirtintas naudojant mėginius užkimštuose mėgintuvėliuose:

- prie 18-25°C – 8 valandas.
- prie 2-8°C - 5 dienas.

Jei reikalingas ilgesnis laikymas, serumą užšaldykite prie -25 ± 6°C.

Šešių mėnesių laikotarpyje yra galimi trys atšildymo/užšaldymo ciklai.

Šios studijos neatskleidžia jokio poveikio tyrimo rezultatų kokybei.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

VIDAS® Protocole Test Change (PTC) protokolo duomenų ir MLE duomenų nuskaitymas

Tyrimą naudojant pirmą kartą:

Su išoriniu brūkšnių kodų skaitytuvu,

1. Nuskenokite PTC brūkšninį kodą (-us), esantį pakuotės pabaigoje arba parsisiunčiamus iš www.biomerieux.com/techlib. Šis nuskaitymas perkelia VIDAS® PTC protokolo duomenis į instrument programinę įrangą atnaujinimui.
2. Nuskenokite MLE duomenis, esančius ant dėžutės etiketės.

Pastaba: jei MLE duomenys buvo nuskaityti prieš VIDAS® PTC protokolą, dar kartą nuskaitykite MLE duomenis.

Atidarius naują reagentų partiją:

Įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama **prieš pradedant tyrimus**, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 28 dienas. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Kalibratorius, nurodytas kaip "S1", turi būti tiriamas dvigubu pakartojimu. Kalibracijų vertės turi būti nurodytose RFV "Relative Fluorescence Value" ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikalingus reagentus. Jie gali būti naudojami iš karto.
2. Kiekvienam mėginiui, kontrolei ar kalibratoriui tirti naudokite vieną "AHBS" strypelį ir vieną "AHBS" SPR antgalį. Įsitikinkite, kad pakuotė yra sandariai uždaryta po to, kai buvo išimti SPR antgaliai.
3. Instrumente tyrimas yra nurodytas "AHBS" kodu. Kalibratorius turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Teigiama kontrolė yra identifikuojama kaip "C1" ir yra tiriama viengubu pakartojimu. Neigiama kontrolė yra identifikuojama "C2" kodu ir yra tiriama viengubu pakartojimu.
4. Kalibratorių, kontrolę ir mėginius išmaišykite naudodami vortex tipo maišyklę (serumą ar plazmą su atskirtais trombocitais).
5. Šiam testui kalibratoriaus, kontrolinių tirpalų ir mėginio tyrimo porcija yra 200 µl.

6. Į instrumentą įdėkite " AHBS " SPR antgalius ir „AHBS“ strypelius. Įsitikinkite, jog spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir reagentų strypelio.
7. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta vartotojo vadove. Visi tyrimo etapai yra atliekami automatiškai instrumente.
8. Po išdalijimo pipete, buteliukus vėl užkimškite ir padėkite į rekomenduojamą temperatūrą.
9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 60 minučių. Pasibaigus tyrimui, iš instrumento išimkite SPR antgalius ir strypelius.
10. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis substrato kiuvetės nuskaitymas prieš SPR antgalio įvedimą į substratą. nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas fermentu, likusiu ant SPR antgalio vidinės pusės. RFV (Relative Fluorescence Value) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento, naudojantis kalibravimo kreivėmis, kurios išsaugotos atmintyje (4-parametru logaritminiu modeliu) ir yra išreiškiami mIU/mL vienetais. Matavimo ribos yra nuo 3 iki 500 mIU/mL.

VIDAS Anti-HBs Total II yra kalibruotas pagal tarptautinį standartą (WHO Antrasis Tarptautinis Standartas 07/164 dėl anti-hepatito B paviršiaus antigeno (Anti-HBs) imunoglobulino).

Rezultatų interpretacija:

TITRAS (mIU/mL)	INTERPRETACIJA
Titras < 8	Neigiamas
8 ≤ Titras < 12	Abejotinas
Titras ≥ 12	Teigiamas

Visi abejotini rezultatai turi būti patvirtinami naudojant antrą mėginį.

Rezultatų interpretacija turi būti atliekama atsižvelgiant į paciento medicininę istoriją bei kitų atliktų tyrimų rezultatus.

Mėginių skiedimas

Skieskite tik tuos mėginius, kurių ankstesnio tyrimo su VIDAS Anti-HBs Total II teigiamas rezultatas buvo > 500 mIU/mL.

Mėginiai turi būti skiedžiami su C2 neigiama kontrole. Daugeliu atvejų 1:10 skiedimas (1 dalis mėginio + 9 dalys neigiamos kontrolės) užtikrina, kad gaunami rezultatai pateks į matavimo ribas.

Jei skiedimo faktorius nebuvo įvestas kai buvo kuriamas meniu Work List (žiūrėkite Naudojimo Instrukciją), rezultatą padauginkite iš skiedimo faktoriaus, kad gautumėte mėginio koncentraciją.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kiekviename VIDAS Anti-HBs Total II rinkinyje yra viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuoju pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant, jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis šiomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertę sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos bus nurodomos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolių vertės nukrypsta nuo tikėtinų verčių. Visi mėginiai yra tiriami, kadangi paskutinė priimtina kontrolė turi būti tiriami iš naujo.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius taikomus reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

Paskutiniai tyrimai parodė, kad po vakcinacijos anti-HBs matavimo ribos priklauso nuo vakcinos ir tyrimo rinkinio (5).

HBV infekuotuose pacientuose vienu metu esantis HBsAg ir anti-HBs gali turėti poveikį anti-HBs tyrimui.

Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnų prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami įvertinant paciento istoriją ir kitų atliktų tyrimų rezultatus.

Vakcinacijos kontekste, mėginiai, kurių koncentracija yra <10 mIU/mL, yra laikomi nereaktyviais (neigiamais), o mėginiai, kurių koncentracija yra >10 mIU/mL, yra laikomi reaktyviais (teigiamais).

Vis dėl to, kadangi VIDAS Anti-HBs Total II tyrimas turi neaiškumo zoną, rekomenduojama atsižvelgti į rezultatus bei interpretacijos skyrių šiame pakuotės aprašyme.

Turint omenyje antikūnų įvairovę, priklausomai nuo naudojamo tyrimo, gauti rezultatai gali skirtis. Jei mėginys yra tiriamas skirtingų gamintojų tyrimais, rezultatai gali skirtis iki keturių kartų (retais atvejais – iki dešimties kartų). Jei tyrimo sistema yra keičiama vėlesnės vakcinacijos metu, pereinamuoju laikotarpiu anti-HBs lygis turi būti nustatomas paraleliai dvejomis sistemomis (7).

PAPLITIMAS

Anti-HBs paplitimas (8) vyrauja priklausomai nuo endeminių susirgimų ir skiepų politikos.

Pasaulio regionas	Anti-HBs (%)
Šiaurės, Rytų ir Centrinė Europa, Šiaurės Amerika, Australija.	4 - 6
Rytų Europa, Viduržemio jūros baseinas, Rusija, Pietvakarių Azija, Pietų Amerika.	20 - 55
Pietryčių Azija, tropinė Afrika.	70 - 95

Skiepijimas sukelia anamnestinį atsaką apie 90% skiepytų asmenų, jei jie yra sveiki iki 40 metų amžiaus asmenys. Faktoriai, susiję su mažėjančiu antikūnų atsaku yra amžius, rūkymas, nutukimas, ŽIV infekcija ar chroniški susirgimai (9).

Lentelėje yra pateikiami serokonversijos procentus, kurie gali būti aptinkami priklausomai nuo amžiaus (10).

Naujagimiai	> 95%
2-19 metai	~ 99%
20-29 metai	~ 95%
30-39 metai	~ 90%
40-49 metai	~ 85%
50-59 metai	~ 70%
>59 metai	~ 50%
Inkstų nepakankamumas, ŽIV infekcija, kitos imunosupresijos	50-70%
Kepenų ligos	60-70%

VEIKSMINGUMAS**Diagnostinis jautrumas ir specifiškumas**

VIDAS Anti-HBs Total II tyrimo veiksmingumas buvo nustatomas naudojant charakterizuotus mėginius. Mėginių statusas buvo nustatomas pagal trijų komerciškai įsigytų EIA (CE žyma) tyrimų rezultatus.

Nenustatyto statuso mėginiai (nesutampantys rezultatai tarp trijų sistemų) buvo pašalinti iš tyrimo (82 mėginiai arba 3.7% tirtų mėginių).

Dviejose laboratorijose iš viso buvo tirta 2110 mėginių: 641 kraujo donorų mėginiai ir 1469 klinikiniai mėginiai. Iš šių mėginių, 1041 buvo teigiami (įskaitant 116 mėginių iš natūraliai infekuotų pacientų ir 925 – iš pacientų, vakcinuotų prieš hepatitą B) ir 1069 - neigiami.

Gauti šie rezultatai:

VIDAS Anti-HBs Total II rezultatai	Mėginio statusas		
	Teigiamas	Neigiamas	Iš viso
Teigiamas	1019	11	1030
Neigiamas	10	1043	1053
Iš viso	1029	1054	2083*

* Abejotini rezultatai, gauti su VIDAS Anti-HBs Total II, buvo pašalinti iš tyrimo (34 mėginiai arba 1.6% tirtų mėginių).

Diagnostinis VIDAS Anti-HBs Total II specifiškumas šiai populiacijai yra: **99.0%** (95% pasiklovimo intervalas: [98.1 – 99.5]%).

Diagnostinis VIDAS Anti-HBs Total II jautrumas šiai populiacijai yra: **99.0%** (95% pasiklovimo intervalas: [98.2 – 99.5]%).

Jautrumas serokonversiniams paneliams

Studijos metu buvo patikrinta dvylika komerciškai įsigytų serokonversinių panielių, kurie buvo aptikti prietaiso. Rezultatai buvo lyginami su gamintojų pateiktais rezultatais. Jie susidarė iš 11 toliau tiriamų panielių ir 1 serokonversinio panielio).

Aptikimo ir kiekybiškumo ribos

Aptikimo riba (LoD), atitinkanti anti-HBs koncentraciją mėginyje, išskiriama iš blanko mėginio su 95% tikimybe, yra lygi 1.03 mIU/mL. Kiekybiškumo riba (LoQ), atitinkanti žemiausią anti-HBs, nustatoma su priimtinu preciziškumo ir jautrumo lygiu, yra lygi 2.58 mIU/mL. Studija buvo atliekama pagal CLSI® EP17-A dokumento rekomendacijas.

Linijškumas

VIDAS Anti-HBs total II tyrimas yra linijškas visose matavimo ribose. Tyrimas buvo atliktas pagal CLSI® EP6-A dokumento rekomendacijas.

Kablio efektas

Kablio efektas nebuvo pastebėtas su Anti-HBs koncentracijomis iki 75000 mIU/mL.

Preciziškumas

VIDAS Anti-HBs Total II tyrimo atkartojamumas ir atkuriamumas buvo vertinami pagal CLSI® EP5-A2 dokumento rekomendacijas. Dvigubu pakartojimu buvo tirti keturi žmogaus mėginiai, naudojant dvi reagentų partijas (N = 240). Tyrimai buvo atliekami du kartus dienoje, iš viso 10 dienų, su 3 instrumentais. Kiekvienai partijai buvo atliekamos dvi kalibracijos (5 tyrimo dienos kalibracijos ir partijai). Šioje lentelėje yra pateikiama rezultatų santrauka:

Mėginys	Vidutinė vertė (mIU/mL)	Atkartojamumas		Atkuriamumas tarp partijų; tarp sistemų	
		Standartinis nuokrypis	CV (%)	Standartinis nuokrypis	CV (%)
Mėginys1	5.72	0.21	3.7	0.46	8.0
Mėginys 2	16.82	0.55	3.3	1.37	8.1
Mėginys 3	241.00	10.03	4.2	16.65	6.9
Mėginys 4	324.80	12.88	4.0	20.95	6.5

Kryžminis reaktyvumas

Kryžminis reaktyvumas remiasi studija, kurios metu mėginiai, neigiami su tyrimu, yra įvertinami kaip teigiami dėl potencialiai interferuojančios fiziologinės būsenos. Tirtų potencialiai interferuojančių mėginių rezultatai yra pateikiami šioje lentelėje:

	Pacientų skaičius	VIDAS Anti-HBsT II teigiami rezultatai % kryžminis reaktyvumas
Anti-nukleariniai antikūnai	20	0 (0%)
Anti Pichia	11	0 (0%)
CMV IgG	10	0 (0%)
EBV IgG	13	0 (0%)
FR	16	0 (0%)
HAMA	10	0 (0%)
HAV T	12	0 (0%)
HBc T	16	0 (0%)
HCV	21	0 (0%)
HEV	3	0 (0%)
ŽIV	15	0 (0%)
HSV IgG	15	0 (0%)
Rub IgG	15	0 (0%)
Sifilis IgG	11	0 (0%)
Toksoplazma IgG	12	0 (0%)
Kelintą kartą nėščios moterys	10	0 (0%)
Nevirusinės kepenų ligos	3	0 (0%)

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras.

Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. WHO : Weekly epidemiological record., 2009, October 2009. No. 40 Vol 84, p405–420. JIA-HORNG KAO., DING-SHINN CHEN. – Global control of hepatitis B virus infection – The Lancet infectious diseases July 2002 Vol 2, p.395-403.
2. HOLLINGER FB. - Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2739-2807.
3. KANE M et al. – Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity – The Lancet 2000, vol. 355, 561-565.
4. WEST DJ., CALANDRA GB. – Vaccine induced immunologic memory for hepatitis B surface antigen: implications for policy on booster vaccination – Vaccine 1996, vol. 14, 1019-1027.
5. HEIJTINK RA., SCHNEEBERGER PM., POSTMA B et al. – Anti-HBs levels after hepatitis B immunisation depend on test reagents : routinely determined 10 and 100 IU/ml seroprotection levels unreliable -Vaccine 20, 2002, 2899-2905.
6. OTTONE S., NGUYEN X., BAZIN J, BÉRARD C, JIMENEZ S and LETOURNEUR O. Expression of hepatitis B surface antigen major subtypes in Pichia pastoris and purification for in vitro diagnosis. Protein Expr Purif. 2007 Dec;56(2):177

7. HUZLY D., SCHENK T., JILG W. and NEUMANN-HAEFELIN D. Comparison of Nine Commercially Available Assays for Quantification of Antibody Response to Hepatitis B Virus Surface Antigen. Journal of Clinical Microbiology. 2008 apr ;Vol. 46, N°4 : 1298-306
8. ZUCKERMAN AJ., Hepatitis Viruses. In: Baron S, eds. Medical Microbiology, 4th ed. The University of Texas M Branch at Galveston, 1996 : 849-863.
9. STENZEL M. - Hepatitis B : the only vaccine-preventable bloodborne pathogen – Medecine and Health, 2000, vol.83, n°7, 201-204.
10. ROBINSON WS., Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Mandell GL, Bennett JE, and Dolin R. eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed. New York. Churchill Livingstone, 1995: 1406-1439.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Snaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turiny s skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELE**Kategorijų tipų keitimas**

N/A

Netaikoma (pirmoji publikacija)

Korekcijos

Dokumentacijos anomalijų korekcijos

Techniniai pakeitimai

Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas

Administracinis

Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

Pastaba:*Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.*

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	9304018E	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELE
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	9304018F	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/10	9304018G	Techninis pakeitimas	VEIKSMINGUMAS

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausantys prekių ženklai.

CLSI yra prekybinis ženklas, priklausantis Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS[®] Lyme IgM (LYM) - VIDAS[®] Lyme IgG (LYG)

IVD

The VIDAS Lyme IgM (LYM) (ref. 30 319) assay is an automated qualitative test intended for use on the VIDAS family of instruments, for the detection of IgM antibodies to *Borrelia burgdorferi sensu lato* (sl) in human **serum or plasma**, to aid in the diagnosis of Lyme disease.

The VIDAS Lyme IgG (LYG) (ref. 30 320) assay is an automated qualitative test intended for use on the VIDAS family of instruments, for the detection of IgG antibodies to *Borrelia burgdorferi sensu lato* (sl) in human **serum or plasma**, to aid in the diagnosis of Lyme disease.

The VIDAS Lyme IgG (LYGS) (ref. 30 320) assay is an automated qualitative test intended for use on the VIDAS family of instruments, for the detection of IgG antibodies to *Borrelia burgdorferi sensu lato* (sl) in **cerebrospinal fluid (CSF)**, in order to determine intrathecal antibody production, to aid in the diagnosis of neuroborreliosis.

The principle of detection of the VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assays is based on the ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) technique.

SUMMARY AND EXPLANATION

Lyme disease is an infectious disease caused by different strains of *Borrelia burgdorferi* sl (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*), and it is transmitted to humans through the bite of an infected tick. The main vectors are *Ixodes ricinus* in Europe, *Ixodes pacificus* and *Ixodes scapularis* in the United States (1, 2).

The disease is seasonal (from spring to autumn). It occurs in three stages and is best described as a complex evolution from early disease to late disease (when left untreated) (2, 3):

- early localized disease (days to weeks) (stage I): essentially erythema migrans, generally accompanied with flu-like symptoms.
- early disseminated disease (weeks to months) (stage II):
 - neurological manifestations: early neuroborreliosis,
 - rheumatological manifestations: "Lyme arthritis",
 - dermatological, cardiac or ophthalmological (more rare) manifestations.
- late persistent disease (months to years) (stage III):
 - neurological manifestations: late neuroborreliosis,
 - dermatological manifestations: acrodermatitis chronica atrophicans (ACA),
 - rheumatological manifestations.

In Europe, neuroborreliosis is reported in about 15% of patients with Lyme borreliosis (2). The clinical manifestations are varied and non-specific: facial palsy, radiculoneuritis, sensory and/or motor disorders, headache, etc. The specific detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in CSF is an additional argument in favor of the diagnosis of neuroborreliosis, and enables the determination of the specific intrathecal IgG antibody production index. This index is used to differentiate between passive diffusion of *Borrelia burgdorferi*-specific IgG from serum to CSF and *in situ* formation in CSF (4).

The determination of this parameter is one of the criteria retained by the Consensus Conference for the diagnosis of neuroborreliosis (2).

Diagnosis

Detection of spirochetes from biopsies (cutaneous, synovial) or biological fluids (blood, CSF or synovial fluid), either by direct staining, culture or gene amplification techniques is extremely difficult and therefore reserved for specialized laboratories.

Testing for antibodies directed against *Borrelia burgdorferi sensu lato* is the most common method for biological detection of infection.

The VIDAS Lyme IgM assay uses a Solid Phase Receptacle (SPR[®]) sensitized with a combination of recombinant chimeric proteins corresponding to DbpA and OspC protein sequences of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* B31, *Borrelia burgdorferi afzelii* PKo and *Borrelia burgdorferi garinii* PBi and PEi and 40.

The VIDAS Lyme IgG assay uses a Solid Phase Receptacle (SPR[®]) sensitized with a combination of recombinant chimeric proteins corresponding to VlsE, DbpA and OspC protein sequences of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* B31, *Borrelia burgdorferi afzelii* PKo and ACA-1 and *Borrelia burgdorferi garinii* PBi and Ip90.

The 16th Consensus Conference on Anti-Infective Therapy – Lyme Borreliosis: diagnosis, treatment and prevention, the European Union Concerted Action On Lyme Borreliosis (EUCALB) and the Center for Disease Control (CDC) recommend laboratories use a two-test approach for the serologic diagnosis of Lyme borreliosis (2, 4, 5):

- detection of specific antibodies should be performed first using an enzyme immunoassay screening technique (ELISA).
- positive or equivocal specimens should then be tested using an immunoblotting confirmation technique (Western blot). Sensitivity and specificity of the ELISA and Western Blot tests depend on the clinical evolution. Interpretation of results should take into account patient history and the date of infection.

Treatment

Early antibiotic treatment of Lyme disease (β-lactams, cyclines, macrolides) can resolve clinical symptoms and prevent progression of the disease to later stages (2, 3).

PRINCIPLE

The VIDAS Lyme IgM (ref. 30 319) and VIDAS Lyme IgG (ref. 30 320) assay principle combines a 2-step enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA) (see User Manual).

The Solid Phase Receptacle (SPR®) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR® several times.

After a preliminary wash step and a sample dilution step, the antibodies to *B. burgdorferi* present in the sample will bind to the *B. burgdorferi* *sl* specific recombinant proteins coating the interior of the SPR®.

Unbound sample components are washed away. Anti-human IgM antibodies (for the VIDAS Lyme IgM assay) or anti-human IgG antibodies (for the VIDAS Lyme IgG assay) conjugated with alkaline phosphatase, will attach to the immune complex bound to the SPR® wall.

A final wash step removes unbound conjugate. During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR®. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the quantity of anti-*B. burgdorferi* IgM antibody (for the VIDAS Lyme IgM assay) or IgG antibody (for the VIDAS Lyme IgG assay) present in the sample.

At the end of the VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assays, results are automatically calculated by the instrument. A test value is generated and a report is printed.

CONTENT OF THE VIDAS LYME IgM KIT (60 TESTS):

60 LYM Strips	STR	Ready-to-use.
60 LYM SPR®s 2 x 30	SPR®	Ready-to-use. SPR®s coated with a combination of recombinant chimeric proteins (<i>DbpA</i> and <i>OspC</i>)* of <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> .
LYM Standard 1 x 1.4 mL (liquid)	S1	Ready-to-use. Defibrinated human plasma** containing anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgM in phosphate buffer + stabilizers + bovine albumin (BSA) + MIT 1g/L pH 7.4 MLE data indicate the confidence interval in Relative Fluorescence Value (RFV) ("Standard (S1) RFV Range").
LYM Positive Control 1 x 0.7 mL (liquid)	C1	Ready-to-use. Defibrinated human plasma** containing anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgM in phosphate buffer + stabilizers + BSA + MIT 1g/L pH 7.4. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1 (+) Test Value Range").
LYM Negative Control 1 x 0.7 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + BSA, with no detectable anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgM + MIT 1g/L pH 7.4. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C2 (-) Test Value Range").
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit. or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib .		

* bioMérieux Patent Pending WO/2011/023909

**This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, and antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

CONTENT OF THE VIDAS LYME IgG KIT (60 TESTS):

60 LYG Strips	STR	Ready-to-use.
60 LYG SPR®s 2 x 30	SPR®	Ready-to-use. SPR®s coated with a combination of recombinant chimeric proteins (<i>VisE*</i> , <i>DbpA</i> and <i>OspC**</i>) of <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> .
LYG Standard 1 x 1.4 mL (liquid)	S1	Ready-to-use. Anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgG in phosphate buffer + BSA + MIT 1g/L pH 7.2. MLE data indicate the confidence interval in Relative Fluorescence Value (RFV) ("Standard (S1) RFV Range").
LYG Positive Control 1 x 0.7 mL (liquid)	C1	Ready-to-use. Anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgG in phosphate buffer + BSA + MIT 1g/L pH 7.2. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C1 (+) Test Value Range").
LYG Negative Control 1 x 0.7 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + BSA, with no detectable anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgG + MIT 1g/L pH 7.2. MLE data indicate the index: confidence interval ("Control C2 (-) Test Value Range").
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit. or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib .		

* bioMérieux Patent Pending WO/2011/023914

** bioMérieux Patent Pending WO/2011/023909

The SPR®

For the VIDAS Lyme IgM (ref. 30 319) and VIDAS Lyme IgG (ref. 30 320) kits, the SPR® is coated during production with a combination of 3 *B. burgdorferi* *sl* markers. Each SPR® is identified by the LYM code for the VIDAS Lyme IgM kit or the LYG code for the VIDAS Lyme IgG kit. Only remove the required number of SPR®s from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The Reagent Strip

For the VIDAS Lyme IgM (ref. 30 319) and VIDAS Lyme IgG (ref. 30 320) kits, each reagent strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the LYM Reagent Strip:

Well	Reagents
1	Sample well.
2	Sample diluent: TRIS buffer, NaCl + neutralizer + detergent + BSA + MIT 1 g/L pH 7.4 (400 µL).
3 - 4 - 5	Wash buffer: TRIS buffer, NaCl + detergent + MIT 1g/L pH 7.8 (600 µL).
6	Conjugate: TRIS buffer, NaCl + BSA + MIT 1g/L + titrated solution of mouse monoclonal anti-human IgM antibodies conjugated to alkaline phosphatase pH 7.4 (400 µL).
7 - 8	Wash buffer: TRIS buffer, NaCl + detergent + MIT 1g/L pH 7.8 (600 µL).
9	Empty well.
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl-phosphate (0.6 mmol/l/L) + diethanolamine DEA* (0.62 mol/l/L or 6.6%) pH 9.2 + 1 g/L sodium azide (300 µL).

* Signal Word: **DANGER****Hazard statement**

H318: Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, please refer to the Material Safety Data Sheet.

Description of the LYG Reagent Strip:

Well	Reagents
1	Sample well.
2	Sample diluent: Phosphate buffer+ NaCl + neutralizer + detergent + BSA + MIT 1 g/L pH 7.2 (600 µL).
3 - 4 - 5	Wash buffer: TRIS buffer, NaCl + detergent + MIT 1g/L pH 7.8 (600 µL).
6	Conjugate: Phosphate buffer, NaCl + bovine proteins + titrated solution of mouse monoclonal anti-human IgG antibodies conjugated to alkaline phosphatase + MIT 1g/L pH 6.1 (400 µL).
7 - 8	Wash buffer: TRIS buffer, NaCl + detergent + MIT 1g/L pH 7.8 (600 µL).
9	Empty well.
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl-phosphate (0.6 mmol/l/L) + diethanolamine DEA* (0.62 mol/l/L or 6.6%) pH 9.2 + 1 g/L sodium azide (300 µL).

* Signal Word: **DANGER****Hazard statement**

H318: Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, please refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tips to dispense 100 µL.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, refer to the Instrument User Manual.
- Instrument of the VIDAS® family.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **The VIDAS Lyme IgM kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest; do not inhale).**
- The VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG kits contain products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (do not ingest; do not inhale).

- Consider all patient specimens as potentially infectious and observe routine biosafety precautions. Dispose of all used components and other contaminated materials by acceptable procedures for potentially biohazardous human blood products (6, 7, 8).
- Although the recombinant *B. burgdorferi* proteins coating the SPR®s have been inactivated, handle the SPR®s as if they were infectious.
- Do not use the SPR®s if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the kit label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests (9).
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG kits at 2–8° C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2–8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR® pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPR®s.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPR®s and return the complete kit to 2–8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMEN PREPARATION

Sample type and collection:

- Serum or plasma for the VIDAS Lyme IgG (LYG) and VIDAS Lyme IgM (LYM) assays.
- CSF for the VIDAS Lyme IgG (LYGS) assay.

Types of tubes tested:

- Dry tube,
- Tube with lithium heparin or sodium heparin,
- Tube with separation gel.

Do not use heat-inactivated or contaminated sera. Clarify sera or plasma containing particulate matter by centrifugation or filtration prior to use.

Pre-analytical preparation of CSF must follow the official recommendations (10).

- Collect the fluid by lumbar puncture on the same day as the blood sample.
- If necessary, clarify the samples by centrifugation prior to testing.
- Do not use grossly bloody CSF, samples containing particulate matter, or clearly contaminated samples.
- A minimum sample volume of 100 µL is required.

Sample-related interference (serum or plasma)

It is recommended not to use samples that are clearly hemolyzed, lipemic or icteric and, if possible, to collect a new sample.

None of the following factors have been found to significantly influence this assay:

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin: 5 g/L (monomer)),
- lipemia (after spiking samples with lipids: 30 g/L equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: 0.3 g/L).

Sample stability

- Serum, plasma

If the samples cannot be tested on the day of collection, store them at 2–8°C in stoppered tubes for up to 6 days. If longer storage is required, freeze the sera at -25 ± 6°C. A study performed on samples that had been frozen for six months showed that the quality of results is not affected. Two freeze/thaw cycles have been validated.

- Cerebrospinal fluid

Prior to testing, store the samples at 2–8°C, for 48 hours maximum.

If longer storage is required, freeze the CSF samples at -25 ± 6°C or at -80°C if possible (10).

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the Instrument User Manual.

VIDAS® PTC protocol data entry

When using the VIDAS Lyme IgM (ref. 30 319) and VIDAS Lyme IgG (ref. 30 320) assays for the first time and **before reading the MLE data**, scan the bar code(s) (at the end of the package insert) using the external bar code reader. This reading allows VIDAS PTC protocol data to be transferred to the instrument software for its update. These data should only be read the first time the assay is used.

Types of assay and protocols

	Lyme IgM assay	Lyme IgG assay	
Sample	Serum or plasma	Serum or plasma	CSF
Assay code	LYM	LYG	LYGS
Strips	LYM	LYG	LYG
SPR®s	LYM	LYG	LYG
Calibration	LYM	LYG	LYGS

Master lot data entry

Note: When using the VIDAS Lyme IgM (ref. 30 319) and VIDAS Lyme IgG (ref. 30 320) assays for the first time, enter the VIDAS® PTC protocol (bar codes at the end of the package insert) before reading the MLE data. If the MLE data have been read before the VIDAS PTC protocol, read the MLE data again.

Before each new lot of VIDAS Lyme IgM (ref. 30 319) and VIDAS Lyme IgG (ref. 30 320) reagents is used, specifications (or factory master data) must be entered into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results. The master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data manually or automatically depending on the instrument (refer to the User Manual).

Calibration of VIDAS Lyme IgM (LYM), VIDAS Lyme IgG with serum or plasma (LYG) and VIDAS Lyme IgG with CSF (LYGS)

For the VIDAS Lyme IgM or VIDAS Lyme IgG assay, calibration must be performed each time a new lot is opened using the standard provided in the kit, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 28 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested in **duplicate** (see the User Manual). The standard value must be within the set RFV (Relative Fluorescence Value) range. If this is not the case, recalibrate.

The expected values for the standard are also stored using the MLE data. If the standard values deviate from the expected values, they will be flagged on the result sheet and the result should not be reported.

The "LYG" Standard S1 is used for the calibration of the "LYG" and "LYGS" assays.

Procedure for VIDAS Lyme IgM (LYM), VIDAS Lyme IgG with serum or plasma (LYG) and VIDAS Lyme IgG with CSF (LYGS)

1. Remove the required reagents from the refrigerator. They can be used immediately.
2. Use one "LYM" strip and one "LYM" SPR® for each serum or plasma sample, control or standard to be tested.
Use one "LYG" strip and one "LYG" SPR® for each serum or plasma sample, control or standard to be tested.
Use one "LYG" strip and one "LYG" SPR® for each CSF sample, control or standard to be tested. **In this case, the test code is LYGS.**
3. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPR®s have been removed.**
4. The test is identified by the "LYM", "LYG" or "LYGS" code on the instrument. If a standard is to be tested, enter "S1" for the sample ID.
5. The standard identified by "S1", must be tested in **duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".

6. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).

7. For this test, the standard, control and sample test portion is 100 µL.

8. The **LYM and LYG assays with serum or plasma** can be performed **in the same section** in the instrument. However, the LYGS assay for the detection of IgG in CSF must be performed in a **different section** to the LYG assay for the detection of IgG in serum or plasma.
9. Insert the SPR®s and the strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPR®s and the Reagent Strips match.
10. Initiate the assay as directed in the User Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
11. Reclose the vials and return them to 2-8°C after pipetting.
12. The printed results are obtained within approximately **27 minutes**. After the assay is completed, remove the SPR®s and strips from the instrument.
13. Dispose of the used SPR®s and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the VIDAS Lyme IgM (ref. 30 319) or VIDAS Lyme IgG (ref. 30 320) assay is completed, the results are analyzed automatically by the instrument. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR® is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR®. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. The RFV for the assay appears on the result sheet.

The Patient RFV result is interpreted by the instrument in the following manner:

$i = \text{index} = \text{sample RFV} / \text{standard RFV}$

This index, along with the interpretation, also appears on the result sheet. Interpretation of the index is as follows:

- **Plasma, serum**

VIDAS Lyme IgM (LYM)

Index	Interpretation for LYM
$i < 0.20$	Negative
$0.20 \leq i < 0.32$	Equivocal
$i \geq 0.32$	Positive

VIDAS Lyme IgG (LYG)

Index	Interpretation for serum or plasma
$i < 0.20$	Negative
$i \geq 0.20$	Positive

The 0.20 and 0.32 cut-offs are the results obtained after the VIDAS Lyme IgG and Lyme IgM ROC curves were studied and analyzed. The clinical status of the samples used in the studies was that obtained with a commercially available immunoblotting test (Western Blot).

The EUCLAB and the CDC today recommend performing immunoblotting (Western Blotting) for all samples that give equivocal or positive results with ELISA assays. In general, these results should be interpreted taking into consideration the clinical presentation, the case history, and the results of any other biological tests performed (4, 11). Furthermore, the following table aids in the joint interpretation of VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assay results.

VIDAS Lyme IgM result	VIDAS Lyme IgG result	Possible interpretation
Negative	Negative	Unlikely infection. In case of clinical suspicion (tick bite, neurological symptoms, etc.), collect another sample later.
Positive	Negative	Probable early infection.
Positive	Positive	Probable early or disseminated infection.
Negative	Positive	Probable infection at any stage (early, disseminated or persistent).
Equivocal or positive at cut-off	Positive at cut-off	Depending on context and case history, early infection or serological scar may be considered.
Equivocal or positive at cut-off	Negative	Depending on context and case history, early infection or a potentially interfering disease may be considered.

• Cerebrospinal fluid

VIDAS Lyme IgG (LYGS)

In the neurological manifestations of Lyme Borreliosis, the specific detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in CSF is an additional argument in favor of the diagnosis of neuroborreliosis. It enables the determination of the specific intrathecal IgG antibody production index (IAP) through a concomitant analysis of a blood sample and a CSF sample. (2).

Indeed, the intrathecal antibody production index takes into account the detection of anti-*Borrelia burgdorferi* IgG antibodies in the patient's serum and CSF, once the protein variations between the two samples have been corrected. This index is then used to differentiate between passive diffusion of *Borrelia burgdorferi*-specific IgG from serum to CSF and *in situ* formation in CSF (4).

IAP determination is based on the VIDAS Lyme IgG indexes obtained using the patient's serum and CSF, and the albumin (Tibbling method) or total IgG (Reiber method) titers in the same two samples (12).

Tibbling method:

$$\text{IAP} = \frac{[(\text{VIDAS Lyme IgG CSF index} / \text{VIDAS Lyme IgG serum index}) / 9^*]}{[(\text{CSF albumin titer} / \text{serum albumin titer})]}$$

Reiber method:

$$\text{IAP} = \frac{[(\text{VIDAS Lyme IgG CSF index} / \text{VIDAS Lyme IgG serum index}) / 9^*]}{[(\text{CSF total IgG titer} / \text{serum total IgG titer})]}$$

* Invariable factor, specific to the test protocol.

Note: The choice of either the albumin or total IgG test method used, and the titers obtained, are the responsibility of the laboratory. The same method should be used to titer albumin or total IgG in both the blood and the CSF samples.

An index value greater than or equal to 2, points to intrathecal *Borrelia burgdorferi* IgG antibody production. An index value less than 2 can neither confirm nor exclude intrathecal antibody production.

Limitations for using the intrathecal antibody production index:

- the calculation formula is not applicable for VIDAS Lyme IgG indexes on serum ≤ 0.00 .
- when the albumin or total IgG ratio is nearing 0 (zero), the calculation formula may generate very high results.
- it is not recommended to apply the calculation formula when the VIDAS Lyme IgG index on CSF is very close to 0.00 or when the results (in index) of the patient's serum and CSF pair are very low. In fact, the calculation could lead to a result that is ≥ 2 when there are no *Borrelia burgdorferi*-specific IgGs in the test samples.
- high index values (> 6.0) with the VIDAS Lyme IgG assay on serum may be underestimated due to a level of anti-*Borrelia burgdorferi* IgG immunoglobulins that exceeds the assay's capture capability. The actual level could be greater. Therefore, it is not recommended to apply the calculation formula when indexes on serum are greater than 6.0. In this situation, if the numerator value in the formula is overestimated, the calculation could lead to a result that is ≥ 2 , which cannot confirm intrathecal antibody production.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG kit. These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2. Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any applicable local regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- Antibody detection methods do not provide definitive results for establishing or ruling out diagnosis of Lyme Borreliosis.
- Negative results with the VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assays does not rule out the possibility of *B. burgdorferi* infection in a patient. Patients in the early stages of infection or who have undergone antibiotic therapy, may not produce measurable IgM and IgG. Patients with clinical history and/or symptoms suggestive of Lyme borreliosis, but with negative test results, should be reported as "No detectable antibodies to *B. burgdorferi*". A second specimen should be collected 4-6 weeks later.

Note: it is estimated that in 50% of subjects in the primary stage of disease, antibody levels remain below the detectable threshold (11).

- Positive results with the VIDAS Lyme IgG and IgM assays must be interpreted with caution. Cross-reactivity may be observed with certain diseases (13, 14): Refer to section "Cross-reactivity".
- Clinical symptoms, epidemiological information and other laboratory test results must all be considered when interpreting VIDAS Lyme IgM and IgG assay results.
- Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components or substances that affect the reaction. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.
- Testing should be done only when exposure history, epidemiology and clinical symptoms suggest Lyme disease (14).

PERFORMANCE

Studies performed using the VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assays gave the following results.

1. Performance of the VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assays on serum

A. Sensitivity

This retrospective study was performed by two laboratories (site 1 and site 2), using the sera of patients at different clinical stages of Lyme borreliosis: erythema migrans, neuroborreliosis, arthritis/acrodermatitis chronica atrophicans.

The definition of the clinical stage and the final diagnosis were based on a combination of several parameters, including:

- clinical symptoms,
- evaluation of the risk of tick exposure,
- IgM and IgG serological profiles, associated with Western Blot confirmation tests for any positive or equivocal results.

The serological profiles were representative of the profiles observed routinely by each of the laboratories.

For each stage of the disease, the sensitivity of the VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assays, as well as the sensitivity resulting from the combination of these two tests, were expressed with a 95% confidence interval.

	Sensitivity (% [95%CI])							
	Site 1				Site 2			
	Number N	VIDAS Lyme IgM	VIDAS Lyme IgG	VIDAS Lyme IgM + IgG	Number N	VIDAS Lyme IgM	VIDAS Lyme IgG	VIDAS Lyme IgM + IgG
Erythema migrans	49	61.2 [46.2 – 74.8]	51.0 [36.3 – 65.6]	83.7 [70.3 – 92.7]	55	47.3 [33.7 – 61.2]	58.2 [44.1 – 71.4]	76.4 [63.0 – 86.8]
Neuroborreliosis	60	58.3 [44.9 – 70.9]	90.0 [79.5 – 96.2]	90.0 [79.5 – 96.2]	70	35.7 [24.6 – 48.1]	91.4 [82.3 – 96.8]	92.9 [84.1 – 97.6]
Arthritis/acrodermatitis	47*	40.0 [22.7 – 59.4]	100.0 [92.5 – 100.0]	100.0 [88.4 – 100.0]	51	37.3 [24.1 – 51.9]	96.1 [86.5 – 99.5]	96.1 [86.5 – 99.5]

Note: samples found to be equivocal with VIDAS Lyme IgM were considered to be positive.

* among the 47 samples, only 30 samples in Arthritis/acrodermatitis stage were tested using the VIDAS Lyme IgM assay.

B. Specificity

This prospective study was performed using sera from healthy volunteers from two Lyme Borreliosis endemic regions: population of an area with high prevalence (Eastern France), population of an area with low prevalence (Southern France).

The volunteers were blood donors with no known previous history of Lyme borreliosis.

The population recruited in a high prevalence area (16.1%) consisted of volunteers between 18 and 68 years of age (64% men and 36% women).

The population recruited in the low prevalence area (3.9%) consisted of volunteers between 18 and 68 years of age (52% men and 48% women).

The samples from each population were tested using commercially available IgM and IgG Enzyme Immunoassays (EIA). Samples found to be positive or equivocal were tested using an immunoblotting confirmation technique. Each positive immunoblot sample was eliminated from the specificity calculation.

The specificity of VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG on each population, was expressed with a 95% confidence interval.

Specificity (% [95%CI])					
Low prevalence area			High prevalence area		
Number N	VIDAS Lyme IgM	VIDAS Lyme IgG	Number N	VIDAS Lyme IgM	VIDAS Lyme IgG
273	96.3 [93.4 ; 98.2]	99.3 [97.4 ; 99.9]	302	97.7 [95.3 ; 99.1]	99.7 [98.2 ; 99.99]

Note: samples found to be equivocal with the EIA or VIDAS Lyme IgM were considered to be positive.

C. Comparison of methods

This prospective study was performed in two laboratories (site 1 and site 2), using sera from patients for whom a Lyme IgM and IgG serologic test had been prescribed.

At each laboratory, the samples were tested in parallel using commercially available IgM and IgG EIA methods (different for each site) and the VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assays. The samples found to be positive with one of these methods were confirmed using an immunoblotting confirmation technique.

VIDAS Lyme IgM results:

The concordance of positive and negative results for VIDAS Lyme IgM and the EIA IgM method at each site are expressed with a 95% confidence interval.

VIDAS Lyme IgM	EIA method at Site 1			EIA method at Site 2		
	Positive	Equivocal	Negative	Positive	Equivocal	Negative
Positive	39	0	12	38	3	12
Equivocal	4	2	8	7	5	13
Negative	18	10	284	26	21	691
Number N	377			816		
Positive concordance	N = 73 61.6% [49.5% – 72.8%]			N = 100 53.0% [42.8% – 63.1%]		
Negative concordance	N = 304 93.4% [90.0% – 95.9%]			N = 716 96.5% [94.9% – 97.7%]		

Note: samples found to be equivocal with the EIA or VIDAS Lyme IgM were considered to be positive for the calculations of concordance.

An IgM status (positive or negative) was then defined for each sample in accordance with the two-test approach recommended by the 16th Consensus Conference on Anti-Infective Therapy – Lyme Borreliosis, the EUCALB and the CDC, i.e:

- a positive IgM status was reported for all samples confirmed positive by immunoblot IgM,
- a negative IgM status was reported for all samples confirmed negative by immunoblot IgM or for which all the VIDAS Lyme IgM and EIA IgM results were negative.

The following table shows the concordance of positive and negative results for VIDAS Lyme IgM and the EIA IgM at each site with the defined IgM status.

		IgM status at Site 1		IgM status at Site 2	
		Positive	Negative	Positive	Negative
VIDAS Lyme IgM	Positive	35	16	49	2
	Equivocal	4	10	16	4
	Negative	5	307	13	709
	Number N	377		793	
	Positive concordance	N = 44 88.6% [75.4% – 96.2%]		N = 78 83.3% [73.2% - 90.8%]	
	Negative concordance	N = 333 92.2% [88.8% – 94.8%]		N = 713 99.2% [98.2% - 99.7%]	
EIA methods	Positive concordance	N = 44 88.6% [75.4% - 96.2%]		N = 78 82.1% [71.7% - 89.8%]	
	Negative concordance	N = 333 89.8% [86.0% – 92.8%]		N = 713 97.2% [95.7% - 98.3%]	

Note 1: samples found to be equivocal with the EIA or VIDAS Lyme IgM were considered to be positive for the calculations of concordance.

Note 2: samples found to be equivocal with the immunoblot were not included in the study.

VIDAS Lyme IgG results:

The concordance of positive and negative results for VIDAS Lyme IgG and the EIA IgG method at each site are expressed with a 95% confidence interval.

VIDAS Lyme IgG	EIA method at Site 1			EIA method at Site 2		
	Positive	Equivocal	Negative	Positive	Equivocal	Negative
Positive	102	4	2	160	2	3
Negative	17	16	236	28	24	599
Number N	377			816		
Positive concordance	N = 139 76.3% [68.3% – 83.1%]			N = 214 75.7% [69.4% – 81.3%]		
Negative concordance	N = 238 99.2% [97.0% – 99.9%]			N = 602 99.5% [98.6% – 99.9%]		

Note: samples found to be equivocal with the EIA or VIDAS Lyme IgG were considered to be positive for the calculations of concordance.

An IgG status (positive or negative) was then defined for each sample in accordance with the two-test approach recommended by the 16th Consensus Conference on Anti-Infective Therapy – Lyme Borreliosis, the EUCALB and the CDC, i.e:

- a positive IgG status was reported for all samples confirmed positive by immunoblot IgG,
- a negative IgG status was reported for all samples confirmed negative by immunoblot IgG or for which all the VIDAS Lyme IgG and EIA IgG results were negative.

The following table shows the concordance of positive and negative results for VIDAS Lyme IgG and the EIA IgG at each site with the defined IgG status.

		IgG status at Site 1		IgG status at Site 2	
		Positive	Negative	Positive	Negative
VIDAS Lyme IgG	Positive	82	25	133	9
	Negative	6	262	21	607
	Number N	375		770	
	Positive concordance	N = 88 93.2% [85.8% - 97.5%]		N = 154 86.4% [79.9% - 91.4%]	
	Negative concordance	N = 287 91.3% [87.4% - 94.3%]		N = 616 98.5% [97.2% - 99.3%]	
EIA methods	Positive concordance	N = 88 97.7% [92.0% - 99.7%]		N = 154 99.4% [96.4% - 99.9%]	
	Negative concordance	N = 287 82.2% [77.3% - 86.5%]		N = 616 97.4% [95.8% - 98.5%]	

Note 1: samples found to be equivocal with the EIA or VIDAS Lyme IgG were considered to be positive for the calculations of concordance.

Note 2: samples found to be equivocal with the immunoblot were not included in the study.

D. Precision

For each VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG assay, 3 serum samples were tested in duplicate in 40 different runs (2 runs per day) with 2 reagent lots at 3 sites (n =240).

The repeatability (intra-run precision), inter-lot reproducibility and inter-site reproducibility were calculated using this protocol based on the recommendations of the CLSI® EP5-A2 document:

VIDAS Lyme IgM		Repeatability		Inter-lot reproducibility		Inter-site reproducibility	
Sample	Mean index	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
1	0.19	0.01	3.5	0.01	6.3	0.01	6.3
2	0.37	0.01	3.1	0.02	6.2	0.02	6.2
3	1.26	0.03	2.5	0.12	9.4	0.12	9.4

VIDAS Lyme IgG		Repeatability		Inter-lot reproducibility		Inter-site reproducibility	
Sample	Mean index	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
1	0.15	0.01	8.6	0.02	15.5	0.02	15.5
2	0.26	0.01	5.4	0.02	7.7	0.02	7.7
3	2.31	0.10	4.1	0.12	5.3	0.12	5.3

E. Cross-reactivity

Cross-reactivity is based on the study of samples that are negative with the test being evaluated and positive for the potentially interfering disease. The results of the samples tested according to the disease are shown in the table below:

Positive samples	Number of samples	Number of false positive VIDAS Lyme IgM results	% Cross-reactivity
Syphilis	270	9	3.33
Leptospirosis	216	9	4.16
Rickettsiosis	112	1	0.08
<i>Helicobacter pylori</i>	143	3	2.09
Epstein Barr virus	65	2	3.07
Herpes simplex virus	98	5	5.10
Hepatitis A virus	153	6	3.92
Cytomegalovirus	34	2	5.88
HIV	20	1	5.00
Rubella	19	1	5.26
Mumps	46	1	2.17
Measles	38	1	2.63
Varicella-Zoster virus	58	1	1.72
Toxoplasmosis	26	1	3.84
Rheumatoid factor	61	1	1.63
HAMA	31	1	3.22
Antinuclear antibody	60	1	1.66
C Reactive protein	61	2	3.27
Systemic lupus erythematosus	28	0	0.00

Positive samples	Number of samples	Number of false positive VIDAS Lyme IgG results	% Cross-reactivity
Syphilis	256	1	0.39
Leptospirosis	206	6	2.91
Rickettsiosis	133	3	2.3
<i>Helicobacter pylori</i>	143	2	1.4
Epstein Barr virus	34	0	0.0
Herpes simplex virus	125	1	0.8
Hepatitis A virus	150	3	2.0
Cytomegalovirus	40	0	0.0
HIV	20	1	5.0
Rubella	19	0	0.0
Mumps	46	0	0.0
Measles	38	0	0.0
Varicella-Zoster virus	58	0	0.0
Toxoplasmosis	26	1	3.85
Rheumatoid factor	28	0	0.0
HAMA	43	0	0.0
Antinuclear antibody	60	5	8.33
C Reactive protein	61	2	3.28
Systemic lupus erythematosus	28	2	7.14

2. Performance of the VIDAS Lyme IgG assay on serum/CSF pairs

This retrospective study was performed at two laboratories using serum/CSF pairs from patients with a defined intrathecal IgG antibody production index. This index was therefore calculated using the VIDAS Lyme IgG test values and the albumin (Tibbling method) or total IgG (Reiber method) titers. The calculation formulas were the following:

Tibbling Method:

$$\text{Index} = \frac{(\text{VIDAS Lyme IgG CSF TV}^*/\text{VIDAS Lyme IgG serum TV})/9^{**}}{(\text{CSF albumin/serum albumin})}$$

Reiber Method:

$$\text{Index} = \frac{(\text{VIDAS Lyme IgG CSF TV}/\text{VIDAS Lyme IgG serum TV})/9^{**}}{(\text{total CSF IgG}/\text{total serum IgG})}$$

* TV = Test Value

** "9" is a constant that is characteristic of the VIDAS Lyme IgG test protocol.

Any pairs with an index value greater than or equal to 2 were considered to be positive with the VIDAS Lyme IgG assay (presence of intrathecal IgG antibody production in the patient). Conversely, any pairs with an index value less than 2 were considered to be negative with the VIDAS Lyme IgG assay (absence of intrathecal IgG antibody production in the patient).

A. Sensitivity

This study was performed using serum/CSF pairs from patients with neuroborreliosis and whose intrathecal antibody production had previously been proven by the laboratory's techniques.

The sensitivity of the VIDAS Lyme IgG assay was expressed with a 95% confidence interval.

	Sensitivity (% [95% Confidence Interval])			
	Site 1 (Tibbling)		Site 2 (Reiber)	
	Number	Sensitivity	Number	Sensitivity
Pairs with proven intrathecal antibody production	32	90.6% [75.0% - 98.0%]	31	74.2% [55.4% - 88.1%]

B. SPECIFICITY

This study was performed using serum/CSF pairs from patients whose intrathecal antibody production had not been proven by the laboratory's techniques.

The specificity of the VIDAS Lyme IgG assay was expressed with a 95% confidence interval.

	Specificity (% [95% Confidence Interval])			
	Site 1 (Tibbling)		Site 2 (Reiber)	
	Number	Specificity	Number	Specificity
Pairs without proven intrathecal antibody production	61	83.6% [71.9% - 91.8%]	52	84.6% [71.9% - 93.1%]

C. Precision

For VIDAS Lyme IgG, ("LYGS" test), 4 CSF samples spiked with anti-*Borrelia burgdorferi* sI IgG, at different index levels, were assayed in duplicate in 40 different runs (2 runs per day) with 2 reagent lots on 3 different instruments (n=240).

The repeatability (intra-run precision), inter-instrument reproducibility and inter-lot reproducibility were calculated using this protocol based on the recommendations of the CLSI® EP5-A document:

VIDAS LYGS		Repeatability		Inter-instrument reproducibility		Inter-lot reproducibility	
Sample	Mean index	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
1	0.11	0.005	5.0	0.009	8.7	0.009	8.7
2	0.48	0.019	4.1	0.048	10.0	0.048	10.0
3	1.72	0.069	4.0	0.161	9.3	0.161	9.3
4	5.98	0.193	3.2	0.466	7.8	0.466	7.8

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

- BURGDORFER W. Discovery of the Lyme disease spirochete and its relation to tick vectors. Yale Jnl. Biol. Med. 1984, 57 : 515-520.
- 16ème conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-Infectieuse – Borréliose de Lyme : démarches diagnostiques, thérapeutiques et préventives – Décembre 2006.
- WORMSER GP. et al. The Clinical Assessment, Treatment, and prevention of Lyme Disease, Human Granulocytic Anaplasmosis, and Babesiosis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Disease Society of America. Clin Infect Dis. 2006, 43: 1089-1134.
- EUCALB. <http://meduni09.edis.at/eucalb/>: DIAGNOSIS: Serology: Diagnostic Guidelines.
- CDC. <http://www.cdc.gov>: Diagnosis: laboratory testing.
- U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
- U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
- LAMPE A.S., PEITERSE BRUINS, and EGTERVAN WISSERDERKE J.C.R. Wearing gloves as cause of false negative HIV tests. Lancet ii, 1988, 1140-1144.
- TEUNISSEN C. E., PETZOLD A., BENNETT F. et al. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking, Neurology 2009; Neurology 2009; 73(22) 1914-1922.
- CDC Recommendations Standardizations and Interpretation, CDC Conference 10/28/94.
- KAISER. R. 1993. Intrathecal synthesis of specific antibodies in neuroborreliosis. Comparison of different ELISA techniques and calculation methods. Journal of the Neurological Sciences, 118, 64-72.
- MAGNARELLI L., et al. Cross reactivity in serologic tests for Lyme disease and other spirochetal infections. J. Infec. Dis. 1987, 156:183-188.
- GOLIGHTLY, M., THOMAS J., and VICIANA A. The laboratory diagnosis of Lyme borreliosis. Laboratory Medicine. 1990, 21 : 299-304.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

REVISION HISTORY

Change type categories:

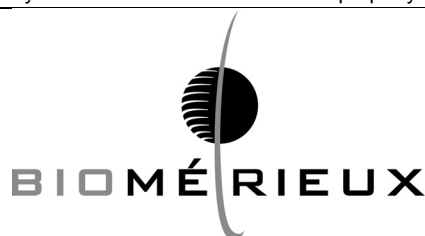
N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user
Note:	<i>Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history</i>

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	9301296E	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical change	CONTENT OF THE <u>VIDAS LYME IgM</u> KIT (60 TESTS): CONTENT OF THE <u>VIDAS LYME IgG</u> KIT (60 TESTS): WARNINGS AND PRECAUTIONS
2016/08	9301296F	Technical change	SUMMARY AND EXPLANATION RESULTS AND INTERPRETATION PERFORMANCE

BIOMERIEUX, the blue logo, VIDAS and SPR are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

The VIDAS® Lyme IgG reagent is sold under license of PCT/US97/02952 (University of Texas System) and PCT/US1998/013551 (The Administrators of the Tulane Educational Fund) patent families.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS[®] Lyme IgM (LYM) - VIDAS[®] Lyme IgG (LYG)

IVD

VIDAS Lyme IgM (LYM) (Kat.Nr. 30 319) yra automatizuotas kokybinis tyrimas, naudojamas su VIDAS šeimos instrumentais, ir yra skirtas aptikti IgM antikūnams prieš *Borrelia burgdorferi sensu lato (sl)* žmogaus **serume ar plazmoje**, kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant Laimo ligą.

VIDAS Lyme IgG (LYG) (Kat.Nr. 30 320) yra automatizuotas kokybinis tyrimas, naudojamas su VIDAS šeimos instrumentais, ir yra skirtas aptikti IgG antikūnams prieš *Borrelia burgdorferi sensu lato (sl)* žmogaus **serume ar plazmoje**, kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant Laimo ligą.

VIDAS Lyme IgG (LYGS) (Kat.Nr. 30 320) yra automatizuotas kokybinis tyrimas, naudojamas su VIDAS šeimos instrumentais, ir yra skirtas aptikti IgG antikūnams prieš *Borrelia burgdorferi sensu lato (sl)* **cerebrospinaliniame skystyje** (CSF), siekiant nustatyti intratekalinę antikūnų gamybą, kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant neuroboreliozę.

VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG tyrimų aptikimo principas yra paremtas ELFA (Imunofermentinis fluorescencinis metodas) technika.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Laimo liga yra infekcinis susirgimas, kurį sukelia įvairios spirocheta *Borrelia burgdorferi sl* (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*) padermės, ir kuris yra perduodamas per užkrėstų erkių įkandimus. Pagrindiniai ligos pernešėjai Europoje yra *Ixodes ricinus*, o JAV – *Ixodes pacificus* ir *Ixodes scapularis* (1, 2).

Susirgimas yra sezoninis (nuo pavasario iki rudens). Jis pasireiškia trimis stadijomis ir geriausiai yra aprašomas kaip kompleksinis proceso vystymasis nuo ankstyvų iki vėlyvų šios ligos stadijų (kai yra negydomas) (2, 3):

- anksti aptikta liga (nuo kelių dienų iki kelių savaičių) (I stadija):
 - migruojančios eritemos, paprastai lydimos į gripą panašiais simptomais.
- ankstyva išplitusi liga (nuo kelių savaičių iki kelių mėnesių) (II stadija):
 - neurologiniai požymiai: ankstyvoji neuroboreliozė,
 - Reumatinės apraiškos: Laimo artritas,
 - Dermatologinės, širdies ar oftalmologinės (retesnės) apraiškos.
- vėlyva liga (nuo kelių mėnesių iki kelių metų) (III stadija):
 - neurologiniai požymiai: vėlyvoji neuroboreliozė,
 - dermatologiniai požymiai: acrodermatitis chronica atrophicans (ACA),
 - Reumatinės apraiškos.

Europoje neuroboreliozė yra nustatoma apie 15 % pacientų su Laimo boreliozė (2). Klinikiniai požymiai yra įvairūs ir nėra specifiniai: veido paralyžius, radikuloneuritas, sensoriniai ir / ar motoriniai sutrikimai, galvos skausmai ir t. t. Specifinis antikūnų prieš *Borrelia burgdorferi* aptikimas CSF yra papildomas įrodymas diagnozuojant neuroboreliozę ir suteikia galimybę nustatyti būdingą intratekalinę IgG antikūnų gamybos indeksą. Šis indeksas yra naudojamas diferencijuojant pasyvią *Borrelia burgdorferi*-specifinį IgG iš serumo ar CSF difuziją ir *in situ* formavimąsi CSF (4).

Šio parametro nustatymas yra vienas iš kriterijų, pateikiamų Konsensuso konferencijos, skirtų neuroboreliozės diagnozei (2).

Diagnozė

Spirochetų aptikimas iš biopsijų (odos, sinoviniuose) ar biologinių skysčių (kraujo, CSF ar sinovinio skysčio), atliekamas naudojant tiesioginį dažymą, kultivavimą ar taikant genų amplifikacijos metodus, yra labai sudėtingas ir yra atliekamas specializuotose laboratorijose.

Todėl tyrimas dėl antikūnų, nukreiptų prieš *Borrelia burgdorferi sensu lato*, yra pagrindinė biologinės diagnozės galimybė.

VIDAS Lyme IgM tyrimui naudojamas kietosios fazės antgalis (SPR) sensibilizuotas rekombinantinių chimerinių baltymų kombinacija, atitinkančia *Borrelia burgdorferi sensu stricto* B31, *Borrelia burgdorferi afzelii* PKo ir *Borrelia burgdorferi garinii* PBi ir PEi bei 40 DbpA ir OspC baltymų sekas.

VIDAS Lyme IgG tyrimui naudojamas kietosios fazės antgalis (SPR) sensibilizuotas rekombinantinių chimerinių baltymų kombinacija, atitinkančia *Borrelia burgdorferi sensu stricto* B31, *Borrelia burgdorferi afzelii* PKo ir ACA-1, ir *Borrelia burgdorferi garinii* PBi ir Ip90 VlsE, DbpA ir OspC baltymų sekas.

16-ojo konsensuso konferencija dėl infekcijų terapijos – Laimo boreliozė: diagnozė, gydymas ir prevencija, Europos Sąjungos Bendrųjų Veiksmų dėl Laimo boreliozės (EUCALB) ir Ligų Kontrolės Centras (CDC) rekomenduoja laboratorijoms atlikti du tyrimus atliekant serologinę Laimo boreliozės diagnozę (2, 4, 5):

- specifinių antikūnų aptikimas turi būti atliekamas pirmasis, naudojant imunologinio skyringo metodo technologiją (ELISA).
- Teigiami ar abejotini mėginiai turi būti tiriami naudojant imunoblotinio patvirtinimo techniką (Western blot). ELISA ir „Western Blot“ tyrimų jautris ir specifiskumas priklauso nuo ligos vystymosi. Interpretuojant rezultatus reikia atsižvelgti į paciento istoriją ir užsikrėtimo datą.

Gydymas

Ankstyvas Laimo ligos gydymas antibiotikais (β-laktamai, ciklinai, makrolidai) gali panaikinti klinikinius simptomus ir užkirsti kelią ligos progresavimui į kitas stadijas (2, 3).

PRINCIPAS

VIDAS Lyme IgM (Kat.Nr. 30 319) ir VIDAS Lyme IgG (Kat.Nr. 30 320) tyrimų principas remiasi 2 etapų fermentinio imunotyrinio sumuštinio metodu su galutiniu fluorescenciniu aptikimu (ELFA) (žr. naudojimo instrukciją).

Kietos fazės antgalis (SPR®) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra paruošti naudoti, jų dozė iš anksto nustatoma sandariose reagentų juostelėse.

Visus tyrimo veiksmus prietaisas atlieka automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR® ir iš jo.

Po pradinio praplovimo ir mėginio skiedimo etapo, antikūnai prieš *B. burgdorferi*, esantys mėginyje, susiriša su *B. burgdorferi* su specifiniais rekombinantiniais baltymais, dengiančiais vidinę SPR pusę.

Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu. Anti-žmogaus IgM antikūnai (VIDAS Lyme IgM tyrime) ar anti- žmogaus IgG antikūnai (VIDAS Lyme IgG tyrime), konjuguoti su šarmine fosfataze, imunokompleksine jungtimi susiriša su SPR sienele.

Galutinio plovimo etapo metu pašalinamas nesusirištas konjugatas. Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4–metil-umbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo. Konjugato fermentas katalizuoja šio substrato hidrolizę iki fluorescuojančio produkto (4–metilumbeliferono), kurio fluorescencija yra matuojama 450 nm ilgio bangomis. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas mėginyje esančių anti-*B. burgdorferi* IgM antikūnų (VIDAS Lyme IgM tyrime) ar IgG antikūnų (VIDAS Lyme IgG tyrime) kiekiui mėginyje.

VIDAS Lyme IgM and VIDAS Lyme IgG tyrimų pabaigoje rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumente. Apskaičiuota tyrimo vertė yra atspausdinama.

VIDAS LYME IGM RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ)

60 LYM strypelių	STR	Paruošta naudoti.
60 LYM SPR antgalių 2 x 30	SPR®	Paruošta naudoti. SPR antgaliai padengti <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> rekombinantinių chimerinių baltymų (<i>DbpA</i> ir <i>OspC</i>)* kombinacija.
Standartas LYM 1 x 1,4 ml (skystas)	S1	Paruošta naudoti. Defibrinuota žmogaus kraujo plazma**, turinti anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgM fosfato buferyje + stabilizatoriai + jaučio albuminas (BSA) + MIT 1 g/l pH 7,4. MLE duomenys nurodo pasiklivimo intervalą „Relative Fluorescence Value (RFV)“ („Standard (S1) RFV Range“) vienetais.
LYM teigiamas kontrolinis bandinys 1 x 0,7 ml (skystis)	C1	Paruošta naudoti. Defibrinuota žmogaus kraujo plazma**, turinti anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgM fosfato buferyje + stabilizatoriai + BSA + MIT 1 g/l pH 7,4. MLE duomenys nurodo rodiklį: pasiklivimo intervalą („Control C1 (+) Test Value Range“).
LYM neigiamas kontrolinis bandinys 1 x 0,7 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfato buferis + BSA, be aptinkamų anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgM + MIT 1g/L pH 7,4. MLE duomenys nurodo rodiklį: pasiklivimo intervalą („Control C2 (-) Test Value Range“).
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE duomenys („Master Lot Entry“ (pagrindinės partijos įrašas)) pateikiami rinkinyje arba • dėžutės etiketėje yra išspausdinti MLE brūkšniniai kodai.		
1 pakuotės informacinis lapelis pateiktas rinkinyje arba jį galima atsisiųsti iš svetainės www.biomerieux.com/techlib .		

* bioMérieux laukiamas patento patvirtinimas WO/2011/023909

** Šis produktas buvo ištirtas ir nustatyta, kad jame nėra HB antigenų ir ŽIV-1, ŽIV-2 bei HCV antikūnų. Kadangi joks esamas tyrimo metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti laikomas galimai užkrečiamu. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

VIDAS LYME IGG RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ):

60 LYG strypelių	STR	Paruošta naudoti.
60 LYG SPR antgalių 2 x 30	SPR	Paruošta naudoti. SPR antgaliai padengti <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> rekombinantinių chimerinių baltymų (<i>VisE*</i> , <i>DbpA</i> ir <i>OspC**</i>) kombinacija.
Standartas LYG 1,4 ml (skystas)	S1	Paruošta naudoti. Anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgG fosfato buferyje + BSA + MIT 1 g/l pH 7,2. MLE duomenys nurodo pasiklovimo intervalą „Relative Fluorescence Value (RFV)“ („Standard (S1) RFV Range“) vienetais.
LYG teigiamas kontrolinis bandinys 1 x 0,7 ml (skystis)	C1	Paruošta naudoti. Anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgG fosfato buferyje + BSA + MIT 1 g/l pH 7,2. MLE duomenys nurodo rodiklį: pasiklovimo intervalą („Control C1 (+) Test Value Range“).
LYG neigiamas kontrolinis bandinys 1 x 0,7 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfato buferis + BSA, be aptinkamų anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> IgG + MIT 1 g/l pH 7,2. MLE duomenys nurodo rodiklį: pasiklovimo intervalą („Control C2 (-) Test Value Range“).
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE duomenys („Master Lot Entry“ (pagrindinės partijos įrašas)) pateikiami rinkinyje arba • dėžutės etiketėje yra išspausdinti MLE brūkšniniai kodai.		
1 pakuotės informacinis lapelis pateiktas rinkinyje arba jį galima atsisiųsti iš svetainės www.biomerieux.com/techlib .		

* bioMérieux laukiamas patento patvirtinimas WO/2011/023914

** bioMérieux laukiamas patento patvirtinimas WO/2011/023909

SPR

VIDAS Lyme IgM (Kat.Nr. 30 319) ir VIDAS Lyme IgG (Kat.Nr. 30 320) rinkinių gamybos procese SPR antgalio vidinis paviršius padengiamas 3 *B. burgdorferi* *sl* žymeklių kombinacija. Kiekvienas SPR yra identifikuojamas SPR LYM kodu VIDAS Lyme IgM rinkinyje ir LYG kodu VIDAS Lyme IgG rinkinyje. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR® skaičių ir **atidarykite sandariai ją uždarykite**.

Reagento juostelė

VIDAS Lyme IgM (Kat.Nr. 30 319) ir VIDAS Lyme IgG (Kat.Nr. 30 320) rinkiniuose kiekvienas reagentų strypelis yra sudarytas iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra brūkšninis kodas, kuris nurodo tyrimo kodą, rinkinio partijos numerį ir galiojimo datą. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinis kiekvienos juostelės šulinėlis yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Juostelės centrinėje dalyje esančiuose šulinėliuose yra įvairių tyrimui atlikti reikalingų reagentų.

LYM reagentų juostelės aprašas:

Šulinėlis	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: TRIS buferis, NaCl + neutralizatorius + detergentas + BSA + 1 g/L pH 7,4 (400 µl).
3 - 4 - 5	Plovimo buferis: TRIS buferis, NaCl + detergentas + MIT 1g/L pH 7.8 (600 µL).
6	Konjugatas: TRIS buferis, NaCl + BSA + MIT 1 g/l + titruotas pelės monokloninis anti-žmogaus IgM antikūnų tirpalas, konjuguotas su šarmine fosfataze pH 7,4 (400 µl).
7 - 8	Plovimo buferis: TRIS buferis, NaCl + detergentas + MIT 1g/L pH 7.8 (600 µL).
9	Tuščias šulinėlis.
10	Nuskaitymo kiuvetė su substratu: 4-metil-umbeliferilo fosfatas (0,6 mmol/l) + dietanolaminas* (DEA) (0,62 mol/l arba 6,6 %), pH 9,2 + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJUS****Pavojingumo frazė**

H318: smarkiai pažeidžia akis.

Perspėjamas pranešimas

P280: mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Papildomos informacijos žr. medžiagos saugos duomenų lapę.

LYG reagentų juostelės aprašas:

Šulinėlis	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: Fosfato buferis+ NaCl + neutralizatorius + detergentas + BSA + MIT 1 g/L pH 7,2 (600 µl).
3 - 4 - 5	Plovimo buferis: TRIS buferis, NaCl + detergentas + MIT 1g/L pH 7.8 (600 µL).
6	Konjugatas: Fosfatinis buferinis tirpalas, NaCl + jaučio baltymai + titruotas pelės monokloninių anti-žmogaus IgG antikūnų tirpalas, konjuguotas su šarmine fosfatasze + MIT 1 g/l, pH 6,1 (400 µl).
7 - 8	Praplovimo buferis: TRIS buferis, NaCl + detergentas + MIT 1g/L pH 7.8 (600 µL).
9	Tuščias šulinėlis.
10	Nuskaitymo kiuvetė su substratu: 4-metil-umbeliferilo fosfatas (0,6 mmol/l) + dietanolaminas* (DEA) (0,62 mol/l arba 6,6 %), pH 9,2 + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJUS**



Pavojingumo frazė

H318: smarkiai pažeidžia akis.

Perspėjamas pranešimas

P280: mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Papildomos informacijos žr. medžiagos saugos duomenų lapę.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetė su vienkartinio antgaliu, norint paskirstyti 100 µl.
- Vienkartinės pirštinės be talko.
- Informacijos apie kitas konkrečias medžiagas ir vienkartinės priemonės žr. prietaiso naudotojo vadove.
- VIDAS® grupės prietaisais.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Skirta tik *in vitro* diagnostikai.
- Skirta naudoti tik profesionalams.
- VIDAS Lyme IgM rinkinio sudėtyje žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šiuos produktus laikyti galimai užkrečiamais ir dirbant su jais imtis įprastų atsargumo priemonių (nenuryti, neįkvėpti).
- VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG rinkiniuose yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuota informacija apie gyvūnų kilmę ir (arba) sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šiuos produktus laikyti galimai užkrečiamais ir dirbant su jais imtis įprastų atsargumo priemonių (nenuryti, neįkvėpti).

- Visus paciento mėginius laikykite potencialiai infekciniais ir laikykitės rutininių biologinės saugos reikalavimų. Visus panaudotus komponentus ar kitas užterštas medžiagas utilizuokite pagal priimtinas potencialiai biologiškai infekcinių žmogaus kraujo produktų utilizavimo taisykles (6, 7, 8).
- Nors rekombinantiniai *B. burgdorferi* baltymai, dengiantys SPR antgalius, buvo inaktyvuoti, antgalius naudokite taip, tarsi jie būtų infekciniai.
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų STR (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų pasibaigus galiojimo laikui, nurodytam rinkinio etiketėje.
- Nemaikykite skirtingų partijų reagentų ar vienkartinų medžiagų.
- Naudokite **pirštines be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas iškraipo kai kurių imunofermentinių tyrimų rezultatus (9).
- 10 šulinėlyje esančio substrato sudėtyje yra dirginančios medžiagos (6,6 % dietanolamino). Skaitykite pirmiau pateiktas pavojingumo frazes „H“ ir atsargumo frazes „P“.
- Išsipylusius skysčius reikia kruopščiai nuvalyti prieš tai juos nukensminus skystu plovikliu arba buitinio baliklio tirpalu, kurio sudėtyje yra bent 0,5 % natrio hipochlorito. Žr. naudotojo vadovą, jei norite sužinoti, kaip valyti ant prietaiso išsipylusius ar į jį patekusius skysčius. Neapdorokite autoklave tirpalų, kurių sudėtyje yra baliklio.
- Prietaisą reikia reguliariai valyti ir nukensminti (žr. naudotojo vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG rinkinius laikykite prie 2–8 °C.
- **Neužšaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite 2–8 °C temperatūroje.**
- Atidarę rinkinį patikrinkite, ar SPR® pakuotė tinkamai uždaryta ir nepažeista. Jei taip nėra, SPR® nenaudokite.
- **Pakuotę kruopščiai uždarykite, į vidų įdėję džioviklį, kad būtų išlaikytas SPR® stabilumas; visą rinkinį laikykite 2–8 °C temperatūroje.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo pabaigos datos, nurodytos ant etiketės.

TIRIAMOSIOS MEDŽIAGOS PARUOŠIMAS**Mėginio tipas ir ėmimas:**

- Serumas ar plazma VIDAS Lyme IgG (LYG) ir VIDAS Lyme IgM (LYM) rinkiniams.
- CSF - VIDAS Lyme IgG (LYGS) rinkiniui.

Mėgintuvėlių tipai:

- sausi mėgintuvėliai;
 - Mėgintuvėliai su ličio heparinu ar natrio heparinu,
 - Mėgintuvėliai su atskiriamuoju geliu.
- Nenaudokite karščiu inaktyvuotų ar užterštų mėginių. Mėginius, turinčius smulkių dalelių, valykite centrifuguodami ar filtruodami prieš atliekant tyrimus.

Preanalitinis CSF paruošimas turi būti atliekamas laikantis oficialių rekomendacijų (10).

- Skystį surinkite atlikdami punkciją juosmens srityje ir kraujo mėginį surinkite tą pačią dieną.
- Jei reikia, mėginius išvalykite centrifuguodami.
- Nenaudokite labai kraujingo CSF, mėginių su dalelėmis ar aiškiai užterštų mėginių.
- Minimalus mėginio tūris yra 100 µl.

Su mėginiu susijusi interferencija (serumas ar plazma)

Rekomenduojama nenaudoti mėginių, kurie atrodo esantys hemolizuoti, lipemiški ar ikteriški ir, jei įmanoma, surinkite naujus mėginius.

Nė vienas iš žemiau paminėtų faktorių žymiai neįtakojo šio tyrimo.

- hemolizė (į mėginius pridėjus hemoglobino: 5 g/L (monomeras)),
- lipemija (į mėginius pridėjus lipidų: 30 g/L trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (į mėginius pridėjus bilirubino: 0.3 g/L).

Mėginio stabilumas**- Serumas, plazma**

Jei mėginiai negali būti ištiriami mėginio paėmimo dieną, juos galima laikyti 2–8 °C temperatūroje užkimštuose mėgintuvėliuose iki 6 dienų. Jei yra reikalingas ilgesnis laikymas, serumą užšaldykite iki -25 ± 6 °C temperatūros. Atlikus studiją su 6 mėnesiams užšaldytais mėginiais, paaiškėjo, kad rezultatų kokybė nenukentėjo. Galimi du užšaldymo/atšildymo ciklai.

- Cerebrospinalinis skystis

Prieš tyrimą mėginius palaikykite 2–8 °C temperatūroje, bet ne ilgiau, kaip 48 val.

Jei reikalingas ilgesnis laikymas, CSF mėginius užšaldykite iki -25 ± 6 °C temperatūros arba, jei įmanoma, iki -80 °C (10).

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Visas instrukcijas galite rasti prietaiso naudotojo vadove.

VIDAS® PTC protokolo duomenų įvedimas

Jei naudojate VIDAS Lyme IgM (Kat.Nr. 30 319) ir VIDAS Lyme IgG (Kat.Nr. 30 320) tyrimus pirmą kartą ir **prieš MLE duomenų nuskaitymą**, nuskenaukite brūkšninį kodą (-us) (pakuotės aprašymo gale), naudodamiesi brūkšninių kodų skaitytuvu. Brūkšninių kodų nuskaitymas leidžia VIDAS PTC protokolo duomenis perkelti į prietaiso programinę įrangą, kad būtų galima atlikti atnaujinimą. Šie duomenys turi būti nuskaitomi tik prieš pirmąjį tyrimo naudojimą.

Tyrimų ir protokolų tipai

	Lyme IgM tyrimas	Lyme IgG tyrimas	
Mėginys	Serumas ar plazma	Serumas ar plazma	CSF
Tyrimo kodas	LYM	LYG	LYGS
Strypeliai	LYM	LYG	LYG
SPR antgaliai	LYM	LYG	LYG
Kalibravimas	LYM	LYG	LYGS

Pagrindinių partijos duomenų įvedimas

Pastaba: Jei VIDAS Lyme IgM (Kat.Nr. 30 319) ir VIDAS Lyme IgG (Kat.Nr. 30 320) tyrimus naudojate pirmą kartą, **prieš MLE duomenų nuskaitymą įveskite VIDAS® PTC protokolą** (brūkšniniai kodai, esantys pakuotės aprašymo pabaigoje). Jei MLE duomenys buvo nuskaityti prieš nuskaitant VIDAS PTC protokolą, MLE duomenis nuskaitykite iš naujo.

Prieš naudojant naujos serijos VIDAS Lyme IgM (Kat.Nr. 30 319) ir VIDAS Lyme IgG (Kat.Nr. 30 320) reagentus, į instrumentą būtina įvesti specifikacijas (ar gamyklinius kalibravimo duomenis) naudojant MLE duomenis.

Jei šis veiksmas neatliekamas **prieš pradedant tyrimus**, prietaisas negalės išspausdinti rezultatų. Serijos duomenų įvedimas turi būti atliekamas vieną kartą kiekvienai serijai. Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti neautomatiškai arba automatiškai (žr. naudotojo vadovą).

VIDAS Lyme IgM (LYM), VIDAS Lyme IgG kalibravimas su serumu ar plazma (LYG) bei VIDAS Lyme IgG su CSF (LYGS)

VIDAS Lyme IgM arba VIDAS Lyme IgG tyrimų kalibravimą reikia atlikti kiekvieną kartą, kai atidaroma nauja serija. Įvedus serijos duomenis kalibravimui naudojamas rinkinyje pateiktas standartas. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 28 dienas. Kalibravimas atliekamas siekiant gauti prietaisui būdingas kalibravimo kreives ir suderinti smulkius tyrimo signalo skirtumus per visą rinkinio tinkamumo naudoti laikotarpį. Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti ištirtas **du kartus** (žr. naudotojo vadovą). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Tikėtinis standarto vertės taip pat yra išsaugojamos naudojantis MLE kortele. Jei standartų vertės nukrypsta nuo tikėtinės vertės, rezultatų duomenų lape jos bus pažymėtos, ir rezultatai neturi būti skelbiami.

„LYG“ standartas S1 yra naudojamas „LYG“ ir „LYGS“ tyrimų kalibravimui.

VIDAS Lyme IgM (LYM), VIDAS Lyme IgG tyrimų kalibravimo procedūra su serumu ar plazma (LYG) bei VIDAS Lyme IgG su CSF (LYGS)

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus. Juos galima naudoti iškart.
2. Kiekvienam serumui ar plazmos mėginiui, kontrolei ar standartui naudokite po vieną LYM strypelį ir vieną LYM SPR antgalį.
Kiekvienam serumui ar plazmos mėginiui, kontrolei ar standartui naudokite po vieną LYG strypelį ir vieną LYG SPR antgalį.
Kiekvienam CFS mėginiui, kontrolei ar standartui naudokite po vieną LYG strypelį ir vieną LYG SPR antgalį. Šiuo atveju, tyrimo kodas yra LYGS.
3. Išėmę reikalingas SPR® įsitikinkite, kad laikymo pakuotę sandariai uždarėte.
4. Instrumente tyrimas yra identifikuojamas LYM, LYG ar LYGS kodu. Jei yra tiriamas standartas, mėginio ID vietoje įveskite "S1".
5. Standartas turi būti identifikuojamas kaip „S1“ ir tiriamas dvigubu pakartojimu. Jei teigiama kontrolė turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip C1. Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip C2.

6. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite vortekso tipo kratiklius (serumo ar plazmos atskyrimui).

7. Šiame tyrime standarto, kontrolės ar mėginio tiriamoji dalis yra 100 µl.

8. LYM ir LYG tyrimai su serumu ar plazma gali būti atliekami toje pačioje instrumento sekcijoje. Tačiau LYGS tyrimas, skirtas nustatyti IgG iš CSF, turi būti atliekamas kitoje sekcijoje nei LYG tyrimas, skirtas nustatyti IgG serume ar plazmoje.
9. Į prietaisą įdėkite SPR® ir juosteles. Patikrinkite, ar sutampa spalvinės etiketės su tyrimo kodu, nurodytu ant SPR® ir reagentų juostelių.
10. Paleiskite tyrimą, kaip nurodyta naudotojo vadove. Visus tyrimo veiksmus prietaisas atlieka automatiškai.
11. Po išpilstymo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į 2–8 °C.
12. Išspausdinti rezultatai yra gaunami maždaug po 27 minučių. Pasibaigus tyrimui išimkite iš prietaiso SPR® ir strypelius.
13. Panaudotas SPR® ir juosteles išmeskite į atitinkamą talpyklą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai VIDAS Lyme IgM (Kat.Nr. 30 319) ar VIDAS Lyme IgG (Kat.Nr. 30 320) tyrimas yra baigtas, rezultatai yra automatiškai vertinami instrumente. Kiekvieno tiriamo mėginio fluorescencija reagentų juostelės matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis substrato kiuvetės nuskaitymas prieš įvedant į substratą SPR®. Antrą kartą duomenys gaunami substratą inkubavus su SPR® viduje likusiu fermentu. RFV (Relative Fluorescence Value (santykinė fluorescencijos vertė)) apskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatą iš galutinio rezultato. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Paciento RFV rezultatą sistema interpretuoja šitaip:

$i = \text{indeksas} = \text{mėginio RFV} / \text{standartinė RFV}$

Šis indeksas ir interpretacijos rezultatai yra pateikiami rezultatų lape. Indeksas interpretuojamas šitaip:

• Plazma, serumas**VIDAS Lyme IgM (LYM)**

Indeksas	LYM interpretacija
$i < 0,20$	Neigiamas
$0,20 < i < 0,32$	Abejotinas
$i > 0,32$	Teigiamas

VIDAS Lyme IgG (LYG)

Indeksas	Serumo ar plazmos interpretacija
$i < 0,20$	Neigiamas
$i > 0,20$	Teigiamas

0,20 ir 0,32 slenkstinės ribos yra rezultatai, gaunami, kai išstudijuojamos ir išanalizuojamos VIDAS Lyme IgG ir Lyme IgM ROC kreivės. Klinikinė tyrimams naudojamų mėginių būklė buvo gauta taikant komerciškai platinamus imunobloto tyrimus („Western blot“ tyrimus).

Šiandien EUALB ir CDC rekomenduoja atlikti imunoblotingą (Western Blotting) visiems mėginiams, kurių rezultatas yra abejotinas arba teigiamas, ištyrus ELISA tyrimu. Paprastai, šie rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į klinikinę situaciją, medicininę ligos istoriją bei kitų atliktų biologinių tyrimų rezultatus (4, 11). Žemiau pateikiamoje lentelėje esantys duomenys padės atlikti jungtinę VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG tyrimų rezultatų interpretaciją.

VIDAS Lyme IgM rezultatas	VIDAS Lyme IgG rezultatas	Galima interpretacija
Neigiamas	Neigiamas	Nepanašu į infekciją. Klinikinio įtarimo atveju (erkės įkandimas, neurologiniai simptomai, ir t.t.), vėliau surinkite dar vieną mėginį.
Teigiamas	Neigiamas	Galima ankstyvoji infekcija.
Teigiamas	Teigiamas	Galima ankstyvoji arba išplitusi infekcija.
Neigiamas	Teigiamas	Galima bet kurios stadijos infekcija (ankstyvoji, išplitusi ar įsisenėjusi).
Abejotinas ar teigiamas ties slenkstine verte	Teigiamas ties slenkstine verte	Priklausomai nuo konteksto ir ligos istorijos, gali būti ankstyvoji infekcija arba serologinis randas.
Abejotinas ar teigiamas ties slenkstine verte	Neigiamas	Priklausomai nuo konteksto ir ligos istorijos, gali būti ankstyvoji infekcija arba potencialiai interferuojantis susirgimas.

• Cerebrospinalinis skystis

VIDAS Lyme IgG (LYGS)

Esant neurologiniams Laimo boreliozės požymiams, CSF nustatyti specifiniai antikūnai prieš *Borrelia burgdorferi* yra papildomas argumentas neuroboreliozės diagnozės naudai. Taip yra suteikiama galimybė nustatyti būdingąjį intratekalinį IgG antikūnų gamybos indeksą (IAP) naudojant kraujo mėginį ir CSF mėginį. (2)

Į intratekalinį antikūnų gaminimo indeksą yra įtraukiamas anti-*Borrelia burgdorferi* IgG antikūnų aptikimas iš pacientų serumo ir CSF, kai baltymų variacijos tarp šių dviejų mėginių yra išlygintos. Tada šis indeksas yra naudojamas *Borrelia burgdorferi* – specifinio IgG pasyvios difuzijos iš serumo ar CSF diferencijavimui nuo CSF formavimosi *in situ* (4).

IAP nustatymas yra grindžiamas VIDAS Lyme IgG indeksais, gautais naudojant paciento serumo ir CSF bei albumino (Tibbling metodas) ar bendro IgG (Reiber metodas) titrus tuose pačiuose dviejuose mėginiuose (12).

Tibbling metodas:

$$\text{IAP} = \frac{[(\text{VIDAS Lyme IgG CSF indeksas} / \text{VIDAS Lyme IgG serumo indeksas}) / 9^*]}{[(\text{CSF albumino titras} / \text{serumo albumino titras})]}$$

Reiber metodas:

$$\text{IAP} = \frac{[(\text{VIDAS Lyme IgG CSF indeksas} / \text{VIDAS Lyme IgG serumo indeksas}) / 9^*]}{[(\text{CSF bendro IgG titras} / \text{serumo bendras IgG titras})]}$$

* Nekintamas faktorius, specifiškas tyrimo protokolui.

Pastaba: albumino arba bendro IgG tyrimo metodų pasirinkimas bei gaunami titrai – laboratorijos atsakomybė. Albumino arba bendro IgG titravimui kraujo bei CSF mėginiuose turi būti naudojamas tas pats metodas.

Indekso vertė, didesnė ar lygi 2, nurodo intratekalinę *Borrelia burgdorferi* IgG antikūnų gamybą. Indekso vertė, mažesnė nei 2, negali nei patvirtinti, nei paneigti intratekalinės antikūnų gamybos.

Intratekalinės antikūnų gamybos indekso naudojimo apribojimai:

- apskaičiavimo formulė nėra taikoma VIDAS Lyme IgG indeksams su serumais $\leq 0,00$.
- Kai albumino ar bendro IgG santykis yra šalia 0 (nulinio), apskaičiavimo formulė gali generuoti labai aukštus rezultatus.
- Rekomenduojama netaikyti formulės kai VIDAS Lyme IgG indeksas su CSF yra labai arti 0.00 arba kai paciento serumo ir CSF rezultatai (indekse) yra labai žemi. Be to, apskaičiavimas gali duoti rezultatą, kuris yra ≥ 2 , kai tiriamuosiuose mėginiuose *Borrelia burgdorferi* būdingųjų IgG nėra.
- Aukštos indeksų vertės ($> 6,0$) su VIDAS Lyme IgG tyrimu su serumu gali būti neįvertintos dėl anti-*Borrelia burgdorferi* IgG imunoglobulinų lygio, kuris viršija tyrimo aptikimo galimybes. Tikrasis lygis gali būti didesnis. Todėl nerekomenduojama taikyti skaičiavimo formulės, kai serumo rodikliai yra didesni, negu 6,0. Šioje situacijoje, jei formulės skaitiklio vertė yra pervertinta, skaičiavimo rezultatai gali būti ≥ 2 , o taip negalima patvirtinti intratekalinės antikūnų gamybos.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su kiekvienu VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG rinkiniu yra pateikiamas vienas teigiamas kontrolinis bandinys ir vienas neigiamas. Šie kontroliniai bandiniai turi būti panaudoti tuojau pat, kai naujas rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis šiomis kontrolės medžiagomis. Prietaisas galės patikrinti kontrolės medžiagų vertes, tik jei jos identifikuotos kaip C1 ir C2.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės medžiagų vertės nukrypsta nuo tikėtinų verčių.

Pastaba

Naudotojas atsako už tai, kad kokybės kontrolė būtų atlikta, laikantis visų vietoje galiojančių taisyklių.

METODO APRIBOJIMAI

- Antikūnų aptikimo metodas nepateikia galutinių rezultatų dėl Laimo boreliozės ligos nustatymo ir diagnozės patvirtinimo.
- Neigiamas rezultatas, gautas su VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG tyrimais, neatmeta galimos *B. burgdoferi* infekcijos. Pacientai, esantys ankstyvoje infekcijos stadijoje ar tie, kurie yra praėję antibiotikų terapiją, gali negaminti aptinkamų IgG ir IgM antikūnų kiekių. Pacientams su klinicine istorija ar įtartinais Laimo boreliozės simptomais, tačiau su neigiamais tyrimų rezultatais, atsakymas turi būti pateikiamas kaip „Nėra aptinkamų antikūnų prieš *B. burgdoferi*“. Antrasis mėginys turi būti paimamas po 4–6 savaičių.

Pastaba: nustatyta, kad 50 % asmenų pirminėse ligos stadijose antikūnų kiekis išlieka žemiau aptinkamos ribos (11).

- Teigiami rezultatai, gauti atliekant VIDAS Lyme IgG ir IgM tyrimus, turi būti interpretuojami atsargiai. Kryžminės reakcijos gali būti pastebimos sergant tam tikromis ligomis (13, 14): žiūrėkite skyrių Kryžminis reaktyvumas.
- Apsvarstant VIDAS Lyme IgM ir IgG tyrimų rezultatus, būtina atsižvelgti į klinikinius simptomus, epidemiologinę informaciją ir kitus laboratorinių tyrimų rezultatus.
- Trukdžių gali atsirasti tiriant tam tikrus serumus, kuriuose yra antikūnų prieš reagentų komponentus arba medžiagų, veikiančių reakciją. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento medicininę istoriją bei kitų atliktų tyrimų rezultatus.
- Tyrimas turi būti atliekamas tik tuomet kai nustatoma istoriniai, epidemiologiniai ar klinikiniai įtariamų Laimo ligos simptomai (14).

VEIKSMINGUMAS

Tyrimais, atliktais naudojant VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG, gauti toliau pateikti rezultatai.

1. VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG serumo tyrimų charakteristikos**A. Jautrumas**

Ši retrospektyvi studija buvo atlikta dviejose laboratorijose (1 vietoje ir 2 vietoje), naudojant skirtingų Laimo boreliozės klinikinių stadijų (migruojančios eritemos, neuroboreliozės, artrito / acrodermatitis chronica atrophicans) pacientų serumą. Klinikinio etapo ir galutinės diagnozės apibrėžimas buvo pagrįstas keleto parametrų deriniu, įskaitant:

- klinikinius simptomus,
- pavojaus įsisiurbti erkei vertinimą,
- IgM ir IgG serologinius profilius, susietus su „Western blot“ patvirtinamaisiais tyrimais bet kuriems teigiamiems arba abejotiniams rezultatams.

Serologiniai profiliai buvo reprezentatyvūs pagal profilius, reguliariai stebėtus kiekvienoje iš laboratorijų.

Kiekvienoje ligos stadijoje VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG tyrimų jautrumas bei jautrumas, gautas iš dviejų tyrimų kombinacijos, buvo išreikštas su 95 % pasiklioavimo intervalu.

Jautrumas (% [95 %CI])								
1 vieta					2 vieta			
	Skaičius N	VIDAS Lyme IgM	VIDAS Lyme IgG	VIDAS Lyme IgM + IgG	Skaičius N	VIDAS Lyme IgM	VIDAS Lyme IgG	VIDAS Lyme IgM + IgG
Erythema migrans	49	61,2 [46,2– 74,8]	51,0 [36,3– 65,6]	83,7 [70,3–92,7]	55	47,3 [33,7– 61,2]	58,2 [44,1– 71,4]	76,4 [63,0–86,8]
Neuroboreliozė	60	58,3 [44,9– 70,9]	90,0 [79,5– 96,2]	90,0 [79,5–96,2]	70	35,7 [24,6– 48,1]	91,4 [82,3– 96,8]	92,9 [84,1–97,6]
Artritas / akrodermatitas	47*	40,0 [22,7– 59,4]	100,0 [92,5– 100,0]	100,0 [88,4–100,0]	51	37,3 [24,1– 51,9]	96,1 [86,5– 99,5]	96,1 [86,5–99,5]

Pastaba: mėginiai, nustatyti kai abejotini su VIDAS Lyme IgM, buvo laikomi teigiamais.

* iš 47 mėginių tik 30 artrito/akrodermatito stadijos mėginių buvo tiriami naudojant VIDAS Lyme IgM tyrimą.

B. Specifiškumas

Ši perspektyvinė studija buvo atlikta panaudojant sveikų savanorių serumą. Savanoriai parinkti iš dviejų endeminių Laimo boreliozės sričių: didelio paplitimo srities populiacijos (rytų Prancūzija), mažo paplitimo srities populiacijos (pietų Prancūzija).

Savanoriais buvo kraujo donorai, neturintys jokios ankstesnės Laimo boreliozės istorijos.

Didelio paplitimo zonai (16,1 %) priskiriamą populiaciją sudarė savanoriai nuo 18 iki 68 metų (64 % vyrų ir 36 % moterų).

Mažo paplitimo zonai (3,9 %) priskiriamą populiaciją sudarė savanoriai nuo 18 iki 68 metų (52 % vyrų ir 48 % moterų).

Kiekvienos populiacijos mėginiai buvo tiriami naudojant komerciškai įsigytus IgM ir IgG imunofermentinius tyrimus (EIA). Mėginiai, nustatyti kaip teigiami ar abejotini, buvo tiriami naudojant imunobloto patvirtinimo technologiją. Kiekvienas teigiamas imunobloto mėginys buvo eliminuojamas iš specifiškumo skaičiavimo.

Kiekvienos populiacijos VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG specifiškumas buvo išreikštas su 95 % pasiklovimo intervalu.

Specifiškumas (% [95 %CI])					
Mažo paplitimo zona			Didelio paplitimo zona		
Skaičius N	VIDAS Lyme IgM	VIDAS Lyme IgG	Skaičius N	VIDAS Lyme IgM	VIDAS Lyme IgG
273	96,3 [93,4; 98,2]	99,3 [97,4; 99,9]	302	97,7 [95,3; 99,1]	99,7 [98,2; 99,99]

Pastaba: mėginiai, nustatyti kaip abejotini naudojant EIA arba VIDAS Lyme IgM, buvo laikomi teigiamais.

C. Metodų palyginimas

Ši perspektyvinė studija buvo atlikta dviejose laboratorijose (1 vieta ir 2 vieta) naudojant serumą iš pacientų, kuriems buvo skirtas Lyme IgM ir IgG serologinis tyrimas.

Kiekvienoje laboratorijoje mėginiai buvo lygiagrečiai tiriami komerciškai įsigytais IgM ir IgG EIA metodais (skirtingas kiekvienoje vietoje) ir VIDAS Lyme IgM bei VIDAS Lyme IgG tyrimais. Mėginiai, nustatyti kaip teigiami su bent vienu šių metodų, buvo patvirtinami naudojant imunobloto patvirtinimo technologiją.

VIDAS Lyme IgM rezultatai:

VIDAS Lyme IgM ir EIA IgM metodo teigiamų ir neigiamų rezultatų atitikimas kiekvienoje vietoje, yra išreiškiamas su 95 % pasiklovimo intervalu.

VIDAS Lyme IgM	EIA metodas 1 vietoj			EIA metodas 2 vietoj		
	Teigiamas	Abejotinas	Neigiamas	Teigiamas	Abejotinas	Neigiamas
Teigiamas	39	0	12	38	3	12
Abejotinas	4	2	8	7	5	13
Neigiamas	18	10	284	26	21	691
Skaičius N	377			816		
Teigiamas atitikimas	N = 73 61,6 % [49,5 % – 72,8 %]			N = 100 53,0 % [42,8 % – 63,1 %]		
Neigiamas atitikimas	N = 304 93,4 % [90,0 % – 95,9 %]			N = 716 96,5 % [94,9 % – 97,7 %]		

Pastaba: mėginiai, nustatyti kaip abejotini naudojant EIA arba VIDAS Lyme IgM, buvo laikomi teigiamais skaičiuojant atitikimą.

IgM statusas (teigiamas ar neigiamas) buvo nustatytas kiekvienam mėginiui dviejų tyrimų metodu, rekomenduojamu 16-ojo konsensuso konferencijos dėl infekcijų terapijos – Laimo boreliozė, EUCALB ir CDC, t. y.:

- teigiamas IgM statusas buvo nurodomas visiems mėginiams, patvirtintiems kaip teigiami naudojant imunoblota IgM,
- neigiamas IgM statusas buvo nurodomas visiems mėginiams, patvirtintiems kaip neigiami naudojant imunoblota IgM, arba mėginiams, kurių visi VIDAS Lyme IgM ir EIA IgM rezultatai buvo neigiami.

Toliau esančioje lentelėje pateikiamas VIDAS Lyme IgM ir EIA IgM teigiamų ir neigiamų rezultatų atitikimas kiekvienoje vietoje su nustatytu IgM statusu.

		IgM statusas 1 vietoje		IgM statusas 2 vietoje	
		Teigiamas	Neigiamas	Teigiamas	Neigiamas
VIDAS Lyme IgM	Teigiamas	35	16	49	2
	Abejotinas	4	10	16	4
	Neigiamas	5	307	13	709
	Skaičius N	377		793	
	Teigiamas atitikimas	N = 44 88,6 % [75,4 % – 96,2 %]		N = 78 83,3 % [73,2 % – 90,8 %]	
	Neigiamas atitikimas	N = 333 92,2 % [88,8 % – 94,8 %]		N = 713 99,2 % [98,2 % – 99,7 %]	
EIA metodai	Teigiamas atitikimas	N = 44 88,6 % [75,4 % – 96,2 %]		N = 78 82,1 % [71,7 % – 89,8 %]	
	Neigiamas atitikimas	N = 333 89,8 % [86,0 % – 92,8 %]		N = 713 97,2 % [95,7 % – 98,3 %]	

1 pastaba: mėginiai, nustatyti kaip abejotini naudojant EIA arba VIDAS Lyme IgM, buvo laikomi teigiamais skaičiuojant atitikimą.

2 pastaba: mėginiai, nustatyti kaip abejotini naudojant imunoblota, nebuvo įtraukti į studiją.

VIDAS Lyme IgG rezultatai:

VIDAS Lyme IgG ir EIA IgG metodo teigiamų ir neigiamų rezultatų atitikimas kiekvienoje vietoje yra išreikštas su 95 % pasiklovimo intervalu.

VIDAS Lyme IgG	EIA metodas 1 vietoj			EIA metodas 2 vietoj		
	Teigiamas	Abejotinas	Neigiamas	Teigiamas	Abejotinas	Neigiamas
Teigiamas	102	4	2	160	2	3
Neigiamas	17	16	236	28	24	599
Skaičius N	377			816		
Teigiamas atitikimas	N = 139 76,3 % [68,3 % – 83,1 %]			N = 214 75,7 % [69,4 % – 81,3 %]		
Neigiamas atitikimas	N = 238 99,2 % [97,0 % – 99,9 %]			N = 602 99,5 % [98,6 % – 99,9 %]		

Pastaba: mėginiai, nustatyti kaip abejotini naudojant EIA arba VIDAS Lyme IgG, buvo laikomi teigiamais skaičiuojant atitikimą.

IgG statusas (teigiamas ar neigiamas) buvo nustatytas kiekvienam mėginiui dviejų tyrimų metodu, rekomenduojamu 16-ojo konsensuso konferencijos dėl infekcijų terapijos – Laimo boreliozė, EUCALB ir CDC, t. y.:

- teigiamas IgG statusas buvo nurodomas visiems mėginiams, patvirtintiems kaip teigiami naudojant imunoblota IgM,
- neigiamas IgG statusas buvo nurodomas visiems mėginiams, patvirtintiems kaip neigiami naudojant imunoblota IgG, arba mėginiams, kurių visi VIDAS Lyme IgG ir EIA IgG rezultatai buvo neigiami.

Toliau esančioje lentelėje pateikiamas VIDAS Lyme IgG ir EIA IgG teigiamų ir neigiamų rezultatų atitikimas kiekvienoje vietoje su nustatytu IgG statusu.

		IgG statusas 1 vietoje		IgG statusas 2 vietoje	
		Teigiamas	Neigiamas	Teigiamas	Neigiamas
VIDAS Lyme IgG	Teigiamas	82	25	133	9
	Neigiamas	6	262	21	607
	Skaičius N	375		770	
	Teigiamas atitikimas	N = 88 93,2 % [85,8 % – 97,5 %]		N = 154 86,4 % [79,9 % – 91,4 %]	
	Neigiamas atitikimas	N = 287 91,3 % [87,4 % – 94,3 %]		N = 616 98,5 % [97,2 % – 99,3 %]	
EIA metodai	Teigiamas atitikimas	N = 88 97,7 % [92,0 % – 99,7 %]		N = 154 99,4 % [96,4 % – 99,9 %]	
	Neigiamas atitikimas	N = 287 82,2 % [77,3 % – 86,5 %]		N = 616 97,4 % [95,8 % – 98,5 %]	

1 pastaba: mėginiai, nustatyti kaip abejotini naudojant EIA arba VIDAS Lyme IgG, buvo laikomi teigiamais skaičiuojant atitikimą.

2 pastaba: mėginiai, nustatyti kaip abejotini naudojant imunoblota, nebuvo įtraukti į studiją.

D. Preciziškumas

Kiekviename VIDAS Lyme IgM ir VIDAS Lyme IgG tyrime 3 serumo mėginiai buvo po du kartus tiriami 40-yje skirtingų tyrimų serijų (2 serijos per dieną) su 2 reagentų partijomis 3-ose vietose (n =240).

Atkartojamumas (preciziškumas tyrimo serijos ribose), atkartojamumas tarp reagentų serijų ir atkartojamumas tarp vietų buvo apskaičiuoti naudojant šį protokolą, kuris remiasi CLSI® EP5-A2 dokumento rekomendacijomis:

VIDAS Lyme IgM		Pakartojamumas		Atkartojamumas tarp serijų		Atkartojamumas tarp vietų	
Mėginys	Vidutinis indeksas	Standartinis nuokrypis	CV (%)	Standartinis nuokrypis	CV (%)	Standartinis nuokrypis	CV (%)
1	0,19	0,01	3,5	0,01	6,3	0,01	6,3
2	0,37	0,01	3,1	0,02	6,2	0,02	6,2
3	1,26	0,03	2,5	0,12	9,4	0,12	9,4

VIDAS Lyme IgG		Pakartojamumas		Atkartojamumas tarp serijų		Atkartojamumas tarp vietų	
Mėginys	Vidutinis indeksas	Standartinis nuokrypis	CV (%)	Standartinis nuokrypis	CV (%)	Standartinis nuokrypis	CV (%)
1	0,15	0,01	8,6	0,02	15,5	0,02	15,5
2	0,26	0,01	5,4	0,02	7,7	0,02	7,7
3	2,31	0,10	4,1	0,12	5,3	0,12	5,3

E. Kryžminis reaktyvumas

Kryžminis reaktyvumas yra nustatytas atlikus studiją su mėginiais, kurie buvo neigiami su vertinamu tyrimu ir teigiami potencialiai interferuojantiems susirgimams. Tirtų mėginių rezultatai pagal ligą parodyti toliau pateiktoje lentelėje:

Teigiami mėginiai	Mėginių skaičius	Klaidingai teigiamų VIDAS Lyme IgM rezultatų skaičius	Kryžminis reaktyvumas, %
Sifilis	270	9	3,33
Leptospirozė	216	9	4,16
Rickettsiosis	112	1	0,08
<i>Helicobacter pylori</i>	143	3	2,09
Epstein Barr virusas	65	2	3,07
Herpes simplex virusas	98	5	5,10
Hepatitis A virusas	153	6	3,92
Citomegalo virusas	34	2	5,88
ŽIV	20	1	5,00
Raudonukė	19	1	5,26
Kiaulytė	46	1	2,17
Tymai	38	1	2,63
Varicella-Zoster virusas	58	1	1,72
Toksoplazmozė	26	1	3,84
Reumatoidinis faktorius	61	1	1,63
HAMA	31	1	3,22
Antinukleariniai antikūnai	60	1	1,66
C Reaktyvinis baltymas	61	2	3,27
Sisteminė vilkligės eritematozė	28	0	0,00

Teigiami mėginiai	Mėginių skaičius	Klaidingai neigiamų VIDAS Lyme IgG rezultatų skaičius	Kryžminis reaktyvumas, %
Sifilis	256	1	0,39
Leptospirozė	206	6	2,91
Rickettsiosis	133	3	2,3
<i>Helicobacter pylori</i>	143	2	1,4
Epstein Barr virusas	34	0	0,0
Herpes simplex virusas	125	1	0,8
Hepatitis A virusas	150	3	2,0
Citomegalo virusas	40	0	0,0
ŽIV	20	1	5,0
Raudonukė	19	0	0,0
Kiaulytė	46	0	0,0
Tymai	38	0	0,0
Varicella-Zoster virusas	58	0	0,0
Toksoplazmozė	26	1	3,85
Reumatoidinis faktorius	28	0	0,0
HAMA	43	0	0,0
Antinukleariniai antikūnai	60	5	8,33
C Reaktyvinis baltymas	61	2	3,28
Sisteminė vilkligės eritematozė	28	2	7,14

2. VIDAS Lyme IgG tyrimo atlikimas su serumu / CSF poromis

Ši retrospektyvi studija buvo atlikta dviejose laboratorijose naudojant serumo ir CSF mėginių poras iš pacientų, kuriems būdingas tam tikras intratekalinės IgG antikūnų gamybos indeksas. Todėl šis indeksas buvo skaičiuojamas naudojant VIDAS Lyme IgG tyrimo vertes ir albumino (Tibbling metodas) arba bendro IgG (Reiber metodas) titrus. Skaičiuojant buvo naudojamos šios formulės:

Tibbling metodas:

$$\text{Indeksas} = \frac{(\text{VIDAS Lyme IgG CSF TV}^* / \text{VIDAS Lyme IgG serumo TV}) / 9^{**}}{(\text{CSF albuminas} / \text{serumo albuminas})}$$

Reiber metodas:

$$\text{Indeksas} = \frac{(\text{VIDAS Lyme IgG CSF TV} / \text{VIDAS Lyme IgG serumo TV}) / 9^{**}}{(\text{bendras CSF IgG} / \text{bendras serumo IgG})}$$

* TV = Tyrimo vertė

** „9“ yra konstanta, būdinga VIDAS Lyme IgG tyrimo protokolui.

Visos poros, kurių indekso vertė buvo didesnė nei arba lygi 2, buvo laikomos teigiamomis atliekant VIDAS Lyme IgG tyrimą (intratekalinės IgG antikūno gamybos buvimas paciente). Ir priešingai, visos poros, kurių indekso vertė buvo mažesnė nei 2, buvo laikomos neigiamomis atliekant VIDAS Lyme IgG tyrimą (intratekalinės IgG antikūno gamybos nebuvimas paciente).

A. Jautrumas

Ši studija buvo atlikta naudojant serumo ir CSF mėginių poras iš pacientų su neuroborelioze, kuriems intratekalinė antikūnų gamyba anksčiau buvo įrodyta laboratoriniais metodais.

VIDAS Lyme IgG tyrimo jautrumas buvo išreikštas su 95 % pasiklivimo intervalu.

	Jautrumas (% [95 % pasiklivimo intervalas])			
	1 vieta (Tibbling)		2 vieta (Reiber)	
	Skaičius	Jautrumas	Skaičius	Jautrumas
Poros su patvirtinta intratekaline antikūnų gamyba	32	90,6 % [75,0 % – 98,0 %]	31	74,2 % [55,4 % – 88,1 %]

B. SPECIFIŠKUMAS

Ši studija buvo atlikta naudojant serumo ir CSF mėginių poras iš pacientų, kuriems intratekalinė antikūnų gamyba nebuvo įrodyta laboratoriniais metodais.

VIDAS Lyme IgG tyrimo specifiškumas buvo išreikštas su 95 % pasiklovimo intervalu.

	Specifiškumas (% [95 % pasiklovimo intervalas])			
	1 vieta (Tibbling)		2 vieta (Reiber)	
	Skaičius	Specifiškumas	Skaičius	Specifiškumas
Poros be patvirtintos intratekalinės antikūnų gamybos	61	83,6 % [71,9 % – 91,8 %]	52	84,6 % [71,9 % – 93,1 %]

C. Preciziškumas

VIDAS Lyme IgG, (LYGS tyrime) į 4 CSF mėginius buvo įdėta anti-*Borrelia burgdorferi* s/ IgG, skirtinguose indekso lygiuose; šie mėginiai buvo tiriami dvigubu pakartojimu 40 skirtingų tyrimo serijų (2 serijos per dieną) su 2 reagentų serijomis naudojant 3 skirtingus instrumentus (n =240).

Atkartojamumas (preciziškumas tyrimo serijos ribose), atkartojamumas tarp instrumentų ir reagentų serijų buvo apskaičiuoti naudojant šį protokolą, kuris remiasi CLSI® EP5-A dokumento rekomendacijomis:

VIDAS LYGS		Pakartojamumas		Atkartojamumas tarp instrumentų		Atkartojamumas tarp serijų	
Mėginys	Vidutinis indeksas	Standartinis nuokrypis	CV (%)	Standartinis nuokrypis	CV (%)	Standartinis nuokrypis	CV (%)
1	0,11	0,005	5,0	0,009	8,7	0,009	8,7
2	0,48	0,019	4,1	0,048	10,0	0,048	10,0
3	1,72	0,069	4,0	0,161	9,3	0,161	9,3
4	5,98	0,193	3,2	0,466	7,8	0,466	7,8

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Panaudotus ir nepanaudotus reagentus išmeskite kaip ir kitas užkrėstas vienkartinės medžiagas, laikydamiesi infekciniams ar galimai infekciniams produktams taikomų procedūrų.

Kiekviena laboratorija yra atsakinga už elgesį su atliekomis ir susidariusiais nutekamaisiais vandenimis atsižvelgiant į jų pobūdį ir pavojingumo laipsnį, turi elgtis su jais ir išmesti pagal galiojančias taisykles.

LITERATŪROS NUORODOS

- BURGDORFER W. Discovery of the Lyme disease spirochete and its relation to tick vectors. Yale Jnl. Biol. Med. 1984, 57 : 515-520.
- 16ème conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-Infectieuse – Borréliose de Lyme : démarches diagnostiques, thérapeutiques et préventives – Décembre 2006.
- WORMSER GP. et al. The Clinical Assessment, Treatment, and prevention of Lyme Disease, Human Granulocytic Anaplasmosis, and Babesiosis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Disease Society of America. Clin Infect Dis. 2006, 43: 1089-1134.
- EUCALB. <http://meduni09.edis.at/eucalb/>: DIAGNOSIS: Serology: Diagnostic Guidelines.
- CDC. <http://www.cdc.gov>: Diagnosis: laboratory testing.
- U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
- U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
- LAMPE A.S., PEITERSE BRUINS, and EGTERVAN WISSERDERKE J.C.R. Wearing gloves as cause of false negative HIV tests. Lancet ii, 1988, 1140-1144.
- TEUNISSEN C. E., PETZOLD A., BENNETT F. et al. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking, Neurology 2009; Neurology 2009; 73(22) 1914-1922.
- CDC Recommendations Standardizations and Interpretation, CDC Conference 10/28/94.
- KAISER. R. 1993. Intrathecal synthesis of specific antibodies in neuroborreliosis. Comparison of different ELISA techniques and calculation methods. Journal of the Neurological Sciences, 118, 64-72.
- MAGNARELLI L., et al. Cross reactivity in serologic tests for Lyme disease and other spirochetal infections. J. Infec. Dis. 1987, 156 : 183-188.
- GOLIGHTLY, M., THOMAS J., and VICIANA A. The laboratory diagnosis of Lyme borreliosis. Laboratory Medicine. 1990, 21 : 299-304.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūros riba
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Žr. naudojimo instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ

Kategorijų tipų keitimas

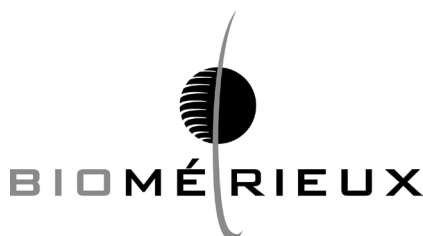
N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techninis pakeitimas	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir (arba) šalinimas
Administracinis	Netechniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui
Pastaba:	<i>nedideli tipografiniai, gramatikos ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukti į laidos istoriją</i>

Išleidimo data	Dalies numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimo santrauka
2015/01	9301296E	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	VIDAS LYME IGM RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ): VIDAS LYME IGG RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ): ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/11	9301296F	Techninis pakeitimas	SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS VEIKSMINGUMAS

BIOMERIEUX, mėlynasis logotipas, VIDAS ir SPR yra naudojami, artimiausiu laiku registruotini ir/ar registruoti prekybiniai ženklai, priklausantys bioMérieux, vienam iš filialų ar kompanijų.

VIDAS® Lyme IgG reagentas parduodamas pagal PCT/US97/02952 (Teksaso universiteto sistemos) licenciją ir PCT/US1998/013551 (Tulane švietimo fondo administratorių) patentų šeimas.

Visi kiti pavadinimai ar prekių ženklai priklauso jų atitinkamiems savininkams.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS[®] HBc IgM II (HBCM)

VIDAS HBc IgM II is an automated quantitative test for use on the VIDAS family instruments for the determination of anti-hepatitis B virus core antigen IgM (anti-HBc IgM) in human serum or plasma (EDTA, citrate and lithium heparin), using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

The hepatitis B virus is responsible for acute and chronic hepatitis infections. Acute hepatitis can be asymptomatic or present symptoms of varying severity which may progress to fulminant hepatitis in 0.1 to 0.5% of cases. Chronicity occurs in 5 to 10% of cases in adults, but in up to 90% of cases in infants following perinatal transmission. Currently, approximately 300 million people worldwide are chronic carriers of the virus (1). Chronic hepatitis may be asymptomatic or lead to liver lesions of varying severity, possibly evolving to cirrhosis, with an evolution in 5% of cases to hepatocellular carcinoma (2). The hepatitis B virus can be transmitted by parenteral or perinatal pathways or through sexual contact. Persons most at risk are health workers, drug addicts, those with multiple sexual partners, multiple transfusion or hemodialysis patients, close friends and family of an infected subject, and newborns of an infected mother (2).

CLINICAL SIGNIFICANCE

Anti-HBc IgM antibodies are indirect markers of viral replication, reflecting the host's response to intra-hepatic HBc antigen (3).

Diagnosis of acute hepatitis relies on the detection of HBs antigen and anti-HBc IgM. The level of infectivity, and infection evolution are assessed using other markers, which also enable determination of patients requiring screening. In cases of acute hepatitis, anti-HBc IgM titers are generally high (> 100 PEIU/mL), then progressively decrease over a 6-8 month period whether infection develops towards recovery or chronicity. However, total anti-HBc antibodies (mainly IgG) persist after recovery. Expression of HBs antigen can be limited in cases of fulminant hepatitis. Anti-HBc IgM can then indicate active viral replication (2).

In cases of chronic hepatitis, the appearance of anti-HBc IgM reflects hepatic cytolysis, revealing an active phase of the disease (4). As with serum HBe Ag and HBV DNA, a positive result for anti-HBc IgM is of considerable assistance in the diagnosis of chronic hepatitis, but a negative result does not necessarily exclude this possibility.

The diagnosis should therefore be made using both histological and serological criteria. In patients with a significant response, titration of anti-HBc IgM enables anti-viral treatments to be monitored by a specific marker of HBV.

Quantitative and **ultra-sensitive** tests enable patients to be monitored from the time HBs Ag appear up to the appearance of anti-HBs Ab, by titering the anti-HBc IgM, and also a distinction to be made between healthy carriers and those with active chronic hepatitis. These tests are also useful for monitoring chronic hepatitis and anti-viral therapy.

PRINCIPLE

The assay principle combines a two-step enzyme immunoassay method with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR[®]) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

After dilution of the sample, the serum IgM bind with the anti-μ chain antibodies coating the interior of the SPR. Unbound serum components are washed away. IgM antibodies directed against the core antigen of the hepatitis B virus (HBc) bind to an immunocomplex composed of recombinant HBc antigen and alkaline-phosphatase-labeled monoclonal anti-HBc antibody. Unbound components are eliminated by washing steps. A fluorescent substrate, 4-Methyl-umbelliferyl phosphate is introduced into the SPR and reveals the amount of bound immunocomplex. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 450 nm.

The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of anti-HBc IgM present in the sample.

At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument in relation to the calibration curve stored in memory, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS

30 HBCM strips	STR	Ready-to-use.
30 HBCM SPRs 1 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of the SPR coated with anti-μ antibody (goat).
HBCM positive control 1 x 2 mL (liquid)	C1	Ready-to-use. Inactivated human* serum containing anti HBc IgM + 0.2 g/L gentamicin sulfate + 1 g/L sodium azide. MLE data indicate the confidence interval in PEIU/mL (Paul Erlich Institute unit per milliliter) ("Control C1 (+) Dose Value Range").
Negative control 1 x 1.9 mL (liquid)	C2	Ready-to-use. Phosphate buffer + protein stabilizer of animal origin+ preservatives.
HBCM calibrator 2 x 1 mL (lyophilized)	S1	Inactivated human* serum containing anti HBc IgM + 0.2 g/L gentamicin sulfate + preservatives. The calibrator must be reconstituted with 1 mL of distilled sterile water (measured exactly). Allow to dissolve for at least 15 min and then mix using a vortex. After reconstitution, the calibrator can be stored at 2-8°C for up to 4 weeks. Aliquoted and frozen at -25 ± 6°C, the calibrator can be kept for up to 6 months. Avoid repeated freeze/thaw cycles.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar codes printed on the box label.		
1 Package Insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib .		

* This product has been tested and shown to be negative for antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. It has been heat inactivated. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious and usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with anti-human μ chain antibody. Each SPR is identified by the HBCM code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening**.

The Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the HBCM Strip

Wells	Reagents
1	Sample well
2	Sample diluent: buffer containing Tween 20 (pH = 7.4) + protein and chemical stabilizers + 1 g/L sodium azide + products of human origin (400 μL).
3 - 4 - 5 - 8 - 9	Wash buffer: TRIS buffer (50 mmol/L) (pH = 7.4) + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/L sodium azide (600 μL).
6	Conjugate: alkaline phosphatase-labeled anti-HBc monoclonal antibody (mouse) + 1 g/L sodium azide + inactivated negative human** serum (300 μL).
7	HBc recombinant antigen (<i>E. Coli</i>) + 1 g/L sodium azide + inactivated negative human** serum (300 μL).
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/L) + diethanolamine*** (DEA) (0.62 mol/L or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/L sodium azide (300 μL).

** This product has been tested and shown to be negative for HBs antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

***Signal Word: **DANGER**



Hazard statement

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 1 mL and 100 µL.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- VIDAS family instrument.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent and a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS HBc IgM II kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents, with the exception of the calibrator after reconstitution.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label. Refer to the kit composition table for special storage conditions.

SPECIMENS

Specimen Type and Collection:

Use human sera (plain tube) or plasma (validated anticoagulants: EDTA, citrate, lithium heparin). Sera containing impurities should be clarified by centrifugation or filtration before analysis.

It is recommended that each laboratory checks the compatibility of collection tubes used.

None of the following factors have been found to significantly influence this assay.

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin: 0 to 320 µmol/L (monomer)),
- lipemia (after spiking samples with lipids: 0 to 5 mg/mL equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: 0 to 560 µmol/L).

However, it is recommended not to use samples that are clearly hemolyzed or lipemic and, if possible, to collect a new sample.

Do not inactivate samples.

Specimen Stability

Samples can be stored at 2-8°C in stoppered tubes for up to 7 days; if longer storage is required, freeze the sera or plasma at -25 ± 6°C. Avoid successive freezing and thawing.

A study performed on frozen samples over a period of 2 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master Lot Data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the calibrator provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The calibrator, identified by S1, must be tested **in duplicate** (see User's Manual). The calibrator value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "HBCM" strip and one "HBCM" SPR for each sample, control or calibrator to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "HBCM" code on the instrument. Indicate the number of determinations to perform. The calibrator must be identified by "S1", and tested in **duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by C2.
4. If necessary, clarify samples by centrifugation.
5. Mix the calibrator, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet) (5).
6. **For this test, the calibrator, control, and sample test portion is 100 µL.**
7. Insert the "HBCM" SPRs and "HBCM" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
8. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
9. Reclose the vials and return them to the required temperature after pipetting.
10. The assay will be completed within approximately 55 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
11. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each

sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR.

The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The results are automatically calculated by the instrument using calibration curves which are stored by the instrument (4-parameter logistics model). The concentrations are expressed in PEIU/mL according to the anti-HBc IgM standard of the Paul Erlich Institute (n°84).

Test Value (PEIU/mL)	Interpretation
< 5	Negative
≥ 5 and < 10	Equivocal *
≥ 10	Positive

* It is advised to follow up the evolution of anti-HBc IgM titers in this zone.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS HBc IgM II kit.

These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2. Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS HBc IgM II gave the following results:

Measurement Range

The measurement range of the VIDAS HBc IgM II kit extends up to 200 PEIU/mL.

Sensitivity - Specificity for Clinical Population.

Sensitivity and specificity were determined by comparison with 2 other anti-HBc IgM screening tests. Final interpretation of samples was based on the "2 out of 3" rule (2 tests with the same interpretation take precedence over the other test). Sera which cannot be classed using this rule (a positive test, an equivocal test and a negative test) were not included in the performance calculation. Samples which gave an equivocal result using the VIDAS HBc IgM II kit were not included when calculating test performance.

a. Sensitivity

247 documented samples were tested:

- 97 positive samples for anti-HBc IgM, including 5 samples from patients with acute hepatitis.
- 150 sequential sera from 20 subjects with chronic hepatitis B most of whom had received anti-viral therapy.

	Sera classified according to 2/3 rule*	
	Positive	Negative
VIDAS HBc IgM II Positive	194	7**
VIDAS HBc IgM II Negative	0	15

* 24 samples gave results which could not be interpreted between the different techniques (positive with VIDAS equivocal and negative with other tests) and 7 samples gave an equivocal result with VIDAS HBc IgM II. All these results involved chronic HBV carriers with active viral replication, possibly reduced by anti-viral therapy.

** Follow-up samples for chronic HBV carriers with active viral replication, possibly reduced by anti-viral therapy. Four of these patients were positive for HBV DNA.

Relative sensitivity for VIDAS HBc IgM II: 100% (95% confidence interval: 97.98% - 100%)

Out of the 152 documented samples which were positive for HBV DNA or for HBe Ag, the positive screening percentage for anti-HBc IgM using the VIDAS test was 79%. This value was 65.8% and 50.7% using the other two kits in the comparison.

Out of the 5 acute hepatitis cases tested, 4 patients showed anti-HBc IgM titers greater than 200 PEIU/mL and one patient had a titer of 95 PEIU/mL.

In chronic hepatitis cases, the evolution of anti-HBc IgM titers is useful for patient monitoring (natural or therapeutic evolution):

Example: patient with chronic hepatitis B with HBV replication, HBe Ag negative:

Date	VIDAS HBc IgM II	Interpretation	Other viral DNA marker
03/1996	43	Positive	ADN VHB +
End of March 1996: start of anti-viral therapy			
05/1996	> 200	Positive	ADN VHB -
06/1996	115	Positive	Not tested
09/1996	13	Positive	Not tested
01/1997	6	Equivocal	ADN VHB -
07/1997	1	Negative	ADN VHB -

b. Specificity

351 serum samples sent to the laboratory for diagnosis of viral hepatitis were tested.

	Sera classified according to 2/3 rule*	
	Positive	Negative
VIDAS HBc IgM II Positive	20	14**
VIDAS HBc IgM II Negative	0	297

* 3 samples gave an uninterpretable result and 17 samples gave an equivocal result with VIDAS HBc IgM II.

** A study of other markers and case histories showed that 6 of the 14 "false-positive" samples corresponded to chronic hepatitis cases with active replication (detection of viral DNA by branched DNA or by PCR).

Relative specificity for VIDAS HBc IgM II on a clinical population: 95.50%
(95% confidence interval: 92.51% - 97.33%).

Specificity for Blood Donors:

601 unselected samples of blood donors were tested. Two samples found to be positive and one sample found to be equivocal were confirmed to be negative with the other 2 anti-HBc IgM screening tests.

The equivocal result was not included in the performance calculation.

Relative specificity of the VIDAS HBc IgM II kit for this population is 99.67% (95% confidence interval: 98.77% - 99.91%).

Sensitivity on Patients With Acute Hepatitis B:

The VIDAS HBc IgM II reagent detected anti-HBc IgM in all 40 samples tested.

Precision

Within-run reproducibility (intra-assay precision) and between-run reproducibility (total precision) were calculated according to the recommendations of the NCCLS Document EP5-T2, volume 12 number 4.

Precision was evaluated with a negative sample and two positive samples distributed on the measurement range. Each sample was tested in duplicate in two different runs per day, over a 14-day period on one site.

The combined results are given below:

Within-run Reproducibility:

Sample	N	Mean titer in PEIU/mL	CV %
Negative	56	3.98	3.36
Positive no. 1	56	49.54	3.22
Positive no. 2	56	112.34	3.10

Between-run Reproducibility:

Regarded as total precision taking into account all sources of variation.

Sample	N	Mean titer in PEIU/mL	CV %
Negative	56	3.98	3.36
Positive no. 1	56	49.54	4,35
Positive no. 2	56	112.34	5.01

CROSS REACTIVITY AND RELEVANT INTERFERENTS**Potentially Interfering Samples**

2 equivocal samples were not taken into account in this study.

	VIDAS HBc IgM II positive
anti HIV Ab	0/19
anti EBV Ab	1*/10
anti HCV Ab	0/15
anti HAV IgM	0/15
anti CMV IgM	0/15
anti-nuclear Ab	0/15
Rheumatoid factors	1*/10
Pregnant women	0/20
anti HTLV Ab	2**/14
anti- <i>E.coli</i> Ab	0/10

*these samples were found to be positive with an HBs Ag screening test.

**these samples were found to be negative with an HBs Ag screening test.

RANGE OF EXPECTED VALUES

The reported incidence of hepatitis B cases in Europe is approximately 20/100,000, ranging from 1/100,000 in Scandinavian countries to 60/100,000 in Central Europe. In Europe, endemic cases increase North to South and West to East. In South-East Asia, China, Black Africa or South America, endemic prevalence can exceed 10%.

In cases of acute hepatitis, anti-HBc IgM titers are generally high (> 100 PEIU/mL), then progressively decrease over a 6-8 month period whether infection develops towards recovery or chronicity.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used and unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products. It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. MILICH D.R., Immune response to the hepatitis B virus: infection, animal models, vaccination, VIRAL HEPATITIS, 1997, 3, 63-103.
2. HOLLINGER F.B., Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2739-2807.
3. SJOGREN M. A, DUSKEIKO G. M., KEW M. C. AND SONG E. - Hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: correlation between IgM antibody to hepatitis core antigen, hepatitis B e antigen, and hepatitis B DNA. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1988, 39 (6), 582-585 (8 - 082).
4. BRUNETTO, M.R., CERENZIA M.T., OLIVERI F., PIAONTONI P., RANDONE A., CALVO P., MANZINI P., ROCCA G., GALLI C. and BONINO F., Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-HBc, Journal of Hepatology, 1993, 19, 431-436.
5. TREPO C., CAUSSE C. Hépatites virales: dépistage et suivi biologique - Feuilles de biologie, 1989, 30, 171: 79-89.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORYChange type categories :

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	09433F	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS WARNINGS AND PRECAUTIONS INSTRUCTIONS FOR USE
2016/05	09433G	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS
2017/05	09433H	Technical	CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.
Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS[®] HBc IgM II (HBCM)

IVD

VIDAS HBc IgM II yra automatizuotas kokybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, anti-hepatito B viruso šerdinio antigeno IgM (anti-HBc IgM) žmogaus serume ar plazmoje, (EDTA, citratas ir ličio heparinas) panaudojant ELFA technologiją (Enzyme Linked Fluorescent Assay), nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Hepatitis B yra atsakingas už ūmią ir chronišką hepatito infekciją. Ūmus hepatitis gali būti asimptomatinis ar turėti kintamus sunkius simptomus ir 0.1 - 0.5% atvejų progresuoti į aktyvų hepatitą. Chroniškumas pasireiškia nuo 5 iki 10% atvejų suaugusiems, tačiau iki 90% atvejų kūdikiams po perinatalinio perdavimo. Šiuo metu apie 300 milijonų žmonių visame pasaulyje yra chroniški viruso nešiotojai (1). Chroniškas hepatitis gali būti asimptomatinis ar inicijuoti įvairaus sunkumo kepenų pažeidimus, galinčius pasibaigti ciroze, iš kurių 5% atvejų išsivysto hepatocelulinė karcinoma (2). Hepatito B virusas gali būti perduodamas parenteraliniais ar perinataliniais būdais ar lytinio kontakto metu. Didžiausios rizikos asmenys yra sveikatos sistemos darbuotojai, narkomanai, asmenys danai keičiantys seksualinius partnerius, asmenys, kuriems perpilamas kraujas ar yra hemodializės pacientai, artimi draugai ar infekuoto asmens šeimos nariai bei infekuotos motinos naujagimiai (2).

KLINIKINĖ REIKŠMĖ

Anti-HBc IgM antikūnai yra netiesioginiai virusinės replikacijos žymėjimai, atspindintys užkrėstojo reakciją į intra-hepatinį HBc antigeną (3). Ūmaus hepatito diagnozė priklauso nuo HBs antigeno ir anti-HBc IgM nustatymo. Infekcijos lygis, bei raida, yra nustatomi naudojant ir kitus žymeklius, kurie taip pat nustatomi pacientams, kuriems yra reikalingas skyringas. Ūmaus hepatito atvejais, kai anti-HBc IgM titrai yra aukšti (> 100 PEIU/ml), infekcijai išsivysčius iki atsistatymo, ar chroniškumo, titrai progresyviai mažėja 6-8 mėnesio laikotarpyje. Tačiau, bendrieji anti-HBc antikūnai (ypatingai IgG) gali būti aptinkami ir po išgyjimo. HBs antigeno išraiška gali būti ribojama fulminantinio hepatito atveju (2). Chroniško hepatito atveju anti-HBc IgM buvimas atspindi hepatitinę citolizę, bei gali nurodyti aktyvią ligos fazę (4). Kai serume HBe Ag ir HBV DNA, anti-HBc IgM rezultatas yra teigiamas, tai yra žymus chroniško hepatito ženklas, o neigiamas rezultatas nebūtinai išskiria šią galimybę. Diagnozė yra nustatoma naudojant ir histologinį, ir serologinį kriterijų. Pacientams, su žymiu atsaku, anti-HBc IgM titravimas užtikrina priešvirusinio gydymo stebėjimo, pagal specifinį HBV.

Kokybiniai ir ultra-sensitivityiniai tyrimai užtikrina pacientų stebėjimą nuo tada, kai HBs Ag yra pastebimas anti-HBs Ab, titruojant anti-HBc IgM, bei sveikų nešiotųjų atskyrimą nuo pacientų, turinčių aktyvų chroninį hepatitą. Šie tyrimai taip pat yra naudingi chroninio hepatito ir priešvirusinei terapijai.

PRINCIPAS

VIDAS Anti-HBc Total II tyrimas yra Imunofermentinis fluorescencinis (ELFA) metodas, pagrįstas inhibicijos principu.

Kietos fazės antgalis (SPR[®]) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose.

Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo.

Po mėginio skiedimo etapo, serumas AgM susiriša su anti-μ grandinės antikūnais, padengtais vidinėje SPR antgalio pusėje. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

IgM antikūnai nukreipti prieš hepatito B viruso šerdies antigeną (HBc) susiriša su imunokompleksu, sudarytu iš rekombinanto HBc antigeno ir šarmine fosfataze žymėtu monokloniniu anti-HBc antikūnu. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

Fluorescencijos substratas, 4-metil-umbeliferil fosfatas, cirkuliuoja į SPR antgalį ir nustato surišto imunokomplekso kiekį. Konjuguotas fermentas katalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-metil-umbeliferoną), kurio fluorescencija matuojama prie 450 nm ilgio bangos.

Fluorescencijos intensyvumas yra matuojamas optinio skenerio ir yra atvirkščiai proporcingas anti-HBc antikūnų kiekiui mėginyje. Rezultatai instrumento yra analizuojami automatiškai, atitinkamai pagal kalibravimo kreivę išsaugomi atmintyje, ir atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS:

30 HBCM strypeliai	STR	Paruošti naudojimui.
30 HBCM SPR antgalis 1 x 30	SPR	Paruoštas naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta anti-μ antikūnu (ožio).
HBCM teigiama kontrolė 1 x 2 ml (skysta)	C1	Paruošta naudojimui. Žmogaus* serumas turintis anti HBc IgM antikūnų + 0.2 g/l gentamicino sulfato + 1 g/l natrio azido. Indeksas griežtai nustatytas ties 1. MLE duomenys nurodo pasiklovimo intervalą PEIU/mL (Paul Erlich Institute dalis mililitre) vienetais ("Control C1 (+) Dose Value Range").
Neigiama kontrolė 1 x 1,9 ml (skystis)	C2	Paruošta naudoti. Fosfatinis buferinis tirpalas + gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius + konservantai.
HBCM kalibratorius 2 x 1ml (liofilizuotas)	S1	Žmogaus* serumas turintis HBc IgM antikūnų + 0.2 g/l gentamicino sulfato + konservantai. Kalibratorius turi būti skiedžiamas 1 ml distiliuoto vandens (matuoti tiksliai). Leisti ištirpti mažiausiai 15 minučių ir tuomet sumaišyti kratikliu. Po praskiedimo kalibratorius gali būti saugojamas iki 1 mėnesio prie 2-8°C. Išpilstytas ir sušaldytas prie -25 ± 6°C, jis gali būti saugojamas iki 6 mėnesių. Venkite pakartotino užšaldymo ir atšildymo ciklų.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar • MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

*Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas rekombinantiniu HBc antigenu. Kiekvienas SPR yra identifiкуotas HBCM kodu. Iš pakuotės išimkite tik reikiamą SPR kiekį ir **atidare ją kruopščiai sandariai uždarykite**.

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Aštuoniuose šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

HBCM strypelio apibūdinimas:

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	Mėginio skiediklis: buferis, turintis Tween 20 (pH = 7.4) + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 1 g/l natrio azido (300 μl) + žmogaus kilmės produktai (400 μl).
3 - 4 - 5 - 8 - 9	Plovimo buferis: TRIS buferis (50 mmol/l) (pH = 7.4) + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (600 μl).
6	Konjugatas: šarmine fosfataze žymėti anti-HBc monokloniniai antikūnai (pelės) + 1 g/l natrio azido + neaktyvaus neigiamo žmogaus** serumo (300 μl).
7	HBc rekombinanto antigenas (<i>E. Coli</i>) + 1 g/l natrio azido + neaktyvaus neigiamo žmogaus** serumo (300 μl).
10	Optinė kiuvetė su substratu: 4 metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/l) + dietanolamino*** (DEA) (0.62 mol/l or 6.6 %) pH 9.2 + 1 g/l natrio azido (300 μl).

**Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniam antigenui, antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV -2 ir HCV. Tačiau, kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių

*** Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

**Pavojingumo frazė**

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetė su vienkartinio antgaliu dozuoti 1 ml ir 100 µl.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifines priemones ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite "Laboratory biosafety" instrukciją - 1993, 2-as leidimas, WHO Ženeva).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR antgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
- Nemaišykite reagentų (ar SPR antgalių) iš skirtingų gaminių serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengtų šių junginių susikaupimo.
- Optinė kiuvetė su substratu 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazės "H" ir atsargumo frazės "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipylusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukentksminius skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žr. vartotojo vadove, kaip valyti išsipylusius ant ar į instrumentą skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą reikia reguliariai valyti ir nukenksminti (žr. vartotojo vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS Anti- HBc IgM rinkinį prie 2-8°C.
- **Nesušaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas

Naudokite neužterštus serumus (sausai mėgintuvėliai, atskiriamasis gelis) ar plazmą (patvirtinti antikoagulantai: EDTA, ličio heparinas, citratas).

Nė vienas iš sekančių faktorių neturėjo įtakos šiam tyrimui:

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo: nuo 0 iki 320 µmol/l (monomeras)),
- lipemija (po lipidų įdėjimo: nuo 0 iki 5 mg/ml trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo: nuo 0 iki 560 µmol/l).

Rekomenduojama nenaudoti mėginių, kuriuose pastebėta hemolizė, ar lipemija, ir jei įmanoma, naudoti naują mėginį.

Nebandykite iš mėginio pašalinti komplementų.

Mėginio stabilumas

Mėginiai gali būti laikomi prie 2-8° C temperatūros užkimštuose mėgintuvėliuose ilgiausiai iki 7 dienų; jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, serumą ar plazmą užšaldykite prie -25 ± 6°C. Venkite pasikartojančio užšaldymo ir atšildymo.

Tyrimai, atlikti su 2 mėnesius užšaldytais mėginiais parodė, kad rezultatų kokybė dėl to nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Vėliau kalibravimas turi būti atliekamas kas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę kalibravimo kreivę ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žr. vartotojo vadovą). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną "HBCM" strypelį ir vieną "HBCM" SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. **Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai kruopščiai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Ant instrumento tyrimas žymimas "HBCM" kodu. Nurodykite atliekamų nustatymų skaičių. Standartas turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C2".
4. Jei reikia, mėginius centrifuguokite.
5. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklius (kad atskirtumėte serumą ar plazmą nuo gumulėlių) (5).
6. **Šiam tyrimui dozuokite 100 µl kalibratoriaus, kontrolės ar mėginio.**
7. Įstatykite "HBCM" SPR antgalius ir "HBCM" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
8. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta vartotojo vadove. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
9. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į reikiamą temperatūrą.
10. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 55 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
11. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis kiuvetės ir substrato prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas.

Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento, naudojant kalibravimo kreivę, kurios yra saugomos instrumente (4-parametrų logistinis modelis). Koncentracijos yra išreikštos PEIU/ml vienetais, pagal Paul Erlich'o Instituto anti-HBc IgM standartą (n°84).

Vertė (PEIU/ml)	Interpretacija
< 5	Neigama
≥ 5 and < 10	Abejotina *
≥ 10	Teigiama

* Patariama žiūrėti į anti-HBc IgM titrų evoliuciją šioje zonoje.

Tyrimo rezultatų interpretacija turi būti atliekama atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokius kitus atliktus tyrimus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Su kiekvienu VIDAS HBCT rinkiniu yra pateikiama viena teigiama ir viena neigiama kontrolė.

Šios kontrolės turi būti naudojamos tuoju pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1 ir C2. Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinų vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami įvertinant paciento istoriją ir kitų atliktų tyrimų rezultatus.

ATLIKIMAS

Tyrimai, atlikti naudojantis VIDAS Anti-HBc Total II rodė sekančius rezultatus

Tyrimo ribos

TVIDAS HBc IgM II rinkinio tyrimo ribos tęsiasi iki 200 PEIU/ml.

Jautrumas – specifiškumas klinikinei populiacijai.

Jautrumas ir specifiškumas buvo nustatyti palyginant 2 kitus anti-HBc IgM skryningo tyrimus. Galutinė interpretacija buvo paremta "2 iš 3" taisykle (2 testai, su vienoda interpretacija, pirmąja kito testo atžvilgiu). Serumai, kurie negali būti klasifikuojami pagal šią taisyklę, (teigiamas, abejotinas, ir neigiamas tyrimas) nebuvo įtraukti į atliktus skaičiavimus.

Mėginiai, rodę abejotinus rezultatus, naudojant VIDAS HBc IgM II rinkinį, nebuvo įtraukti į atliktus skaičiavimus

a. Jautrumas

Buvo tirti 247 mėginiai:

- 97 teigiami anti-HBc IgM mėginiai, su 5 mėginiais paimtais iš ūmiu hepatitu sergančių pacientų.
- 150 nuoseklių serumo mėginių, iš 20 subjektų, sergančių chronišku hepatitu B, iš kurių dauguma turėjo priešvirusinį gydymą.

	Serumas klasifikuojamas pagal 2/3 taisyklę*	
	Teigiamas	Neigiamas
VIDAS HBc IgM II Teigiamas	194	7**
VIDAS HBc IgM II Neigiamas	0	15

* 24 mėginiai davė rezultatus, kurie negalėjo būti interpretuojami tarp skirtingų technologijų ir 7 mėginiai davė abejotinus rezultatus. Visi šie rezultatai yra chroniško HBV nešiotų, su aktyvia virusine replikacija, sumažinta priešvirusine terapija.

** tolesni mėginiai chroniško HBV nešiotų, su aktyvia replikacija, sumažinta priešvirusine terapija. Keturiems iš šių pacientų nustatytas teigiamas HBV DNA.

santykis jautrumas su VIDAS HBc IgM II: 100% (Ribos prie 97.98% - 100%).

Iš 152 dokumentuotų mėginių, kurių HBV DNA, ar HBe Ag rezultatas buvo teigiamas, teigiamas anti-HBc IgM skryningo procentas, naudojant VIDAS instrumentą, buvo 79%. Naudojant kitus du rinkinius palyginimui, vertė buvo 65.8% ir 50.7%.

Iš 5 tirtų ūmaus hepatito atvejų, 4 pacientams buvo nustatytas didesnis, nei 200 PEIU/ml anti-HBc IgM titras, o vienam pacientui buvo nustatytas 95 PEIU/ml titras.

Chroniško hepatito atvejais, anti-HBc IgM titrų raida yra svarbi paciento stebėjimui (natūrali ar terapinė raida):

Pavyzdys: pacientas, sergantis chronišku hepatitu B su HBV replikacija, HBe Ag neigiamas:

Data	VIDAS HBc IgM II	Interpretacija	Kitas virusinis DNA žymuo
03/1996	43	Teigiama	ADN VHB +
Kovo pabaiga 1996: priešvirusinės terapijos pradžia			
05/1996	> 200	Teigiama	ADN VHB -
06/1996	115	Teigiama	Not tested
09/1996	13	Teigiama	Not tested
01/1997	6	Abejotina	ADN VHB -
07/1997	1	Neigiama	ADN VHB -

b. Specifiškumas

351 serumo pavyzdžiai, buvo tirti laboratorijoje virusinio hepatito diagnozei nustatyti.

	Serumas klasifikuotas pagal 2/3 taisyklę*	
	Teigiamas	Neigiamas
VIDAS HBc IgM II Teigiamas	20	14**
VIDAS HBc IgM II Neigiamas	0	297

* 3 mėginiai davė neinterpretuojamą rezultatą, o 17 mėginių davė abejotiną rezultatą, gautą, naudojant VIDAS HBc IgM II.

** Kitų žymenų ir ligos istorijų tyrimas parodė, kad 6 iš 14 "melagingai teigiamų" mėginių atitinka chroniško hepatito atvejus, su aktyvia replikacija (virusinio DNA nustatymas pagal DNA arba PCR).

Santykis jautrumas su VIDAS HBc IgM II specifiškumas klinikinėje populiacijoje: 95.50%

(95% pasiklovimo intervalas: 92.51% - 97.33%).

Kraujo donorų specifiškumas:

Buvo tirtas 601 kraujo donorų mėginys. Du mėginiai buvo teigiami, o vienas abejotino rezultato mėginys, pripažintas neigiamu, kartu su kitais dviem 2 anti-HBc IgM skryningo tyrimais.

Abejotinas rezultatas nebuvo įtrauktas į atliekamą apskaičiavimą.

Santykis jautrumas su VIDAS HBc IgM II rinkinio specifiškumas šiai populiacijai yra 99.67% (95% pasiklovimo intervalas: 98.77% - 99.91%).

Pacientų, su ūmiu hepatitu B, jautrumas:

VIDAS HBc IgM II reagentas aptiko anti-HBc IgM visuose 40 tirtų mėginių.

Tikslumas

Atkartojamumas tyrimo ribose (tikslumas tyrimo serijos ribose) ir atkartojamumas tarp atskirų tyrimų (bendras tikslumas) buvo skaičiuojami pagal NCCLS dokumento EP5-T2, leidimo 12-4 rekomendacijas.

Tikslumas buvo įvertinamas naudojant neigiamus mėginius, ir du teigiamus mėginius. Kiekvienas mėginys buvo tiriamas kartojant juos du kartus bei atliekant du tyrimus per 14 dienų, vienoje vietoje.

Jungtiniai rezultatai yra pateikiami žemiau:

Atkartojamumas tyrimo serijos ribose:

Mėginys	N	Vidutinis indeksas PEIU/ml	CV %
Neigiamas	56	3.98	3.36
Teigiamas nr. 1	56	49.54	3.22
Teigiamas nr. 2	56	112.34	3.10

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų:

Nustatytas bendras tikslumas atsižvelgiant į visus galimus nukrypimus.

Mėginys	N	Vidutinis indeksas PEIU/ml I	CV %
Neigiamas	56	3.98	3.36
Teigiamas nr. 1	56	49.54	4,35
Teigiamas nr. 2	56	112.34	5.01

KRYŽMINIS REAKTYVUMAS IR SANTYKINĖ INTERFERENCIJA**Potencialios interferencijos pavyzdžiai**

2 abejotini mėginiai nebuvo įtraukti į šį apskaičiavimą.

	VIDAS HBc IgM II teigiamas
anti HIV Ab	0/19
anti EBV Ab	1*/10
anti HCV Ab	0/15
anti HAV IgM	0/15
anti CMV IgM	0/15
anti-nuclear Ab	0/15
Rheumatoid factors	1*/10
Pregnant women	0/20
anti HTLV Ab	2**/14
anti- <i>E.coli</i> Ab	0/10

*šie pavyzdžiai yra nustatyti teigiamais, atlikus HBs Ag skryningo tyrimą.

**šie pavyzdžiai yra nustatyti neigiamais, atlikus HBs Ag skryningo tyrimą.

TIKĖTINŲ VERČIŲ RIBOS

Nustatytų hepatito B atvejų Europoje skaičiaus riba yra apie 20/100,000, svyruojant nuo 1/100,000 Skandinavijos šalyse, iki 60/100,000 centrinėje Europoje. Europoje, endemijos atvejų skaičius didėja nuo šiaurės į pietus, ir nuo vakarų į rytus. Pietrytinėje Azijoje, Kinijoje, Afrikoje ir Pietų Amerikoje, endemijos paplitimas gali viršyti 10%. Ūmaus hepatito atvejais, anti-HBc IgM titrai yra dideli (> 100 PEIU/ml), o po 6-8 mėnesių, pasveikimo ar chroniškumo stadijoje, titrai palaipsniui mažėja.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdant infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. MILICH D.R., Immune response to the hepatitis B virus: infection, animal models, vaccination, VIRAL HEPATITIS, 1997, 3, 63-103.
2. HOLLINGER F.B., Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996, 2739-2807.
3. SJOGREN M. A., DUSKEIKO G. M., KEW M. C. AND SONG E. - Hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: correlation between IgM antibody to hepatitis core antigen, hepatitis B e antigen, and hepatitis B DNA. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1988, 39 (6), 582-585 (8 - 082).
4. BRUNETTO, M.R., CERENZIA M.T., OLIVERI F., PIANTONI P., RANDONE A., CALVO P., MANZINI P., ROCCA G., GALLI C. and BONINO F., Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-HBc, Journal of Hepatology, 1993, 19, 431-436.
5. TREPO C., CAUSSE C. Hépatites virales: dépistage et suivi biologique - Feuilles de biologie, 1989, 30, 171: 79-89.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	In Vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖKategorijų tipų keitimas

N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

Pastaba: *Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.*

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	09433F	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2016/05	09433G	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS
2017/05	09433H	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (30 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienas iš filialų ar vienas iš įmonių priklausantis prekių ženklai.
Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS® HIV DUO Quick (HIV6)

VIDAS HIV DUO Quick is an automated HIV infection screening test for use on the VIDAS family instruments, for the combined detection of anti-HIV-1 (groups M and O) and anti-HIV-2 total immunoglobulins and HIV-1 p24 antigen in human serum or plasma (lithium heparin or EDTA) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Human immunodeficiency viruses (HIV) are RNA retroviruses transmitted via sexual contact, parenteral and perinatal pathways or the placenta. HIV-1 and HIV-2 were respectively isolated in 1983 and 1985 in patients infected by AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome). Since then numerous genetic variants have been characterized. These mutations seemed to be without consequence for serological diagnosis until HIV-1 variants of group O (Outlier) were isolated, since they have only 50% homology at the *env* gene level with those of group M (Major). (1, 2, 3, 4, 5).

During 2007, 2.5 million individuals were newly infected by HIV. According to estimates, 33.2 million [30.6 – 36.1 million] people were living with HIV in 2007 (6).

Current diagnosis of HIV infection relies on the detection of anti-HIV serum antibodies using an ELISA method. However, there is a mean period of 3 weeks between contamination and the appearance of the first antibodies (7). During this period p24 antigen is present in most people infected by HIV-1 (8). Thus simultaneous detection of p24 antigenemia, anti-HIV-1 and anti-HIV-2 antibodies enables the time lapse between contamination and diagnosis of the infection to be decreased (9, 10). VIDAS HIV DUO Quick is an automated test based on the combined detection of HIV-1 p24 antigen and anti-HIV-1 and anti-HIV-2 total immunoglobulins, enabling a reduction of the seroconversion window.

Note: The use of VIDAS HIV DUO Quick does not rule out the obligation of using a second technique in countries where legislation requires the use of two different screening tests.

PRINCIPLE

The principle of the test combines 2 enzyme immunoassay reactions with a final fluorescent detection (ELFA).

The Solid Phase Receptacle (SPR®), serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and are pre-dispensed in the sealed reagent strips. All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR several times.

The upper part of the SPR is coated with monoclonal anti-p24 antibodies for the detection of p24 antigen. The lower part of the SPR enables the detection of anti-HIV-1 and anti-HIV-2 antibodies: it is coated with an HIV-1 gp160 protein, and HIV-1 group O and HIV-2 specific synthetic peptides.

During preliminary incubation, the sample, the biotinylated anti-p24 antibody (rabbit) in the strip and the biotinylated antigen (the same used in the solid phase) are cycled in and out of the SPR. Lysis of the virus occurs during incubation and the released p24 antigen binds to the monoclonal anti-p24 antibody coated on the SPR and is recognized by the biotinylated anti-p24 antibody. At the same time, the anti-HIV-1 and/or anti-HIV-2 antibodies bind to the gp160 and/or the peptides in the lower part of the SPR and are recognized by the biotinylated antigen. Two washing steps remove unbound components.

A second incubation with the biotinylated antigen in the strip (same used in the solid phase) is only performed in the lower part of the SPR. The biotinylated antigen binds to any anti-HIV antibody coated in the lower part of the SPR.

Any excess reagent is eliminated by washing.

A third incubation is performed with alkaline phosphatase-labeled streptavidin. During this step, the streptavidin binds to the biotinylated anti-p24 antibody, if it is present in the upper part of the SPR, and to the biotinylated antigen, if it is present in the lower part of the SPR.

Any excess reagent is eliminated by washing.

During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the presence of anti-HIV antibody and/or p24 antigen in the sample.

At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument in relation to the standard, and then printed out.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS:

60 HIV6 strips	STR	Ready-to-use.
60 HIV6 SPRs (2 x 30)	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with gp160 (HIV-1) protein, HIV-1 group O and HIV-2 specific synthetic peptides, and monoclonal anti-p24 antibodies.
HIV6 positive antibody control (1 x 2.0 ml) (lyophilized)	C1	Reconstitute with 2 ml of distilled water. Leave for 5 to 10 minutes and then mix. After reconstitution, stable for 2 months at 2-8°C. Human serum* with anti-HIV-1 antibody + TRIS (0.1 mol/l, pH 7.4) + protein and chemical stabilizers + preservatives. MLE data indicate the confidence interval for the antibody result (Control C1 (+) Test Value Range).
HIV6 negative control (1 x 1.3 ml) (liquid)	C2	Ready-to-use. Human serum** + TRIS (0.1 mol/l, pH 7.4) + protein and chemical stabilizers + preservatives.
HIV6 positive antigen control (1 x 2.0 ml) (lyophilized)	C3	Reconstitute with 2 ml of distilled water. Leave for 5 to 10 minutes and then mix. After reconstitution, stable for 2 months at 2-8°C. Human serum** with inactivated HIV-1 viral lysate + TRIS (0.1 mol/l, pH 7.4) + protein and chemical stabilizers + preservatives. MLE data indicate the confidence interval for the antigen result (Control C3 (+) Test Value Range).-
HIV6 standard (1 x 2.0 ml) (lyophilized)	S1	Reconstitute with 2 ml of distilled water. Leave for 5 to 10 minutes and then mix. After reconstitution, stable for 2 months at 2-8°C. Human serum* with anti-HIV-1 antibody + TRIS (0.1 mol/l, pH 7.4) + protein and chemical stabilizers + preservatives. MLE data indicate the confidence interval in "Relative Fluorescence Value (RFV)" ("Standard (S1) RFV Range").
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar code printed on the box label.		
1 Clip seal		
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs surface antigen and antibodies to HCV. This product has been heat inactivated (30 minutes at 56°C). However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

** This product has been tested and shown to be negative for HBs surface antigen, and antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with a gp160 protein and HIV-1 group O and HIV-2 specific synthetic peptides in the lower part, and monoclonal anti-p24 antibodies in the upper part. The antigens enable the capture of anti-HIV-1 and/or anti-HIV-2 antibodies, and the monoclonal antibodies enable the capture of HIV-1 p24 antigen.

Each SPR is identified by the HIV-6 code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **carefully reseal the pouch after opening using the clip seal provided with the kit.**

The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the VIDAS HIV DUO Quick strip:

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	HEPES buffer + biotin-labeled anti-p24 antibody (rabbit) + triton X100 + goat serum + protein and chemical stabilizers + 0.2 g/l gentamicin sulfate + 0.9 g/l sodium azide (300 µl).
3 - 5 - 6 - 8 - 9	Wash buffer: TRIS + protein and chemical stabilizers + 0.9 g/l sodium azide (600 µl).
4	HEPES buffer + gp160 protein and biotin-labeled synthetic peptides + skimmed milk + protein and chemical stabilizers + 0.2 g/l gentamicin sulfate + 0.9 g/l sodium azide (300 µl).
7	Tracer: alkaline phosphatase-labeled streptavidin + TRIS + skimmed milk + 2.5 g/l bovine albumin + triton X100 + protein and chemical stabilizers + 0.2 g/l gentamicin sulfate + 0.9 g/l sodium azide (400 µl).
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine (DEA*) (0.62 mol/l or 6.6%) pH 9.2 + 1 g/l sodium azide (300 µl).

* Signal Word: **DANGER**Hazard statement

H318 : Causes serious eye damage.

Precautionary statement

P280 :Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, refer to the Material Safety Data Sheet.

MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip to dispense 2 ml and 200 µl.
- Powderless, disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User's Manual.
- VIDAS family instrument.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - Latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the box label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.

- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (see the User's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS HIV DUO Quick kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **To maintain stability of the remaining SPRs, carefully reseal the pouch after use with the dessicant inside using the clip seal provided, and return the complete kit to 2-8°C.**

- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label. Refer to the kit composition table for special storage conditions.

SPECIMENS

Specimen type and collection:

Human serum or plasma (collected in lithium heparin or EDTA).

Do not use recalcified plasma.

It is recommended that each laboratory checks the compatibility of collection tubes used.

Do not inactivate specimens.

None of the following factors have been found to significantly influence this assay.

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin, up to 300 µmol/l (monomer)).
- triglyceride concentration (after spiking samples with up to 30 mg/ml of triglycerides)
- bilirubin concentration (after spiking samples with up to 200 mg/l of bilirubin).

However, it is recommended not to use samples that are clearly hemolyzed, lipemic or icteric and, if possible, to collect a new sample.

Specimen stability

Samples can be stored at 2-8 °C in stoppered tubes for up to 2 days. If longer storage is required, freeze the sera or plasma at -25 ± 6°C.

Avoid successive freezing and thawing.

A study performed on samples frozen for 2 months, showed that the quality of results is not affected.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the User's Manual.

Reading Master lot data

Before each new lot of reagents is used, enter the specifications (or factory master data) into the instrument using the master lot entry (MLE) data.

If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results.

Note: the master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User's Manual).

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.

The standard, identified by S1, must be tested in **duplicate** (see User's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "HIV6" strip and one "HIV6" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPRs have been removed.**
3. The test is identified by the "HIV6" code on the instrument. The standard must be identified by "S1", and tested in **duplicate**. If the positive controls are to be tested, they should be identified by "C1" and "C3". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
4. If necessary, clarify samples by centrifugation.
5. Mix the standard, controls and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet) in order to improve result reproducibility.
6. **For this test, the calibrator, control, and sample test portion is precisely 200 µl. The test portion is pipetted into the sample well, which is used as the reaction cuvette for this test.**
7. Insert the "HIV6" SPRs and "HIV6" strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
8. Initiate the assay as directed in the User's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
9. Restopper the vials and return them to 2–8°C after pipetting.
10. The assay will be completed within approximately 80 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
11. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in each Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after the substrate in the SPR has been incubated. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The test value is calculated by the instrument for each sample as follows:

$$\text{Test value} = \text{patient RFV} / \text{standard RFV}$$

This test value and the interpreted result are also included on the result sheet.

The test value is interpreted as follows:

Test value	Interpreted result
< 0.25	Negative
≥ 0.25	Positive

If the message "Invalid" is generated for the sample, the result is invalid. In this case, the sample should be retested. Samples with a negative test value are considered to be negative, within the performance limitations of the reagent. In cases of suspected primary infection, values ≤ 0.25 must be interpreted with caution.

Samples with a positive test value should be retested in duplicate:

- Non repeatable positive samples (two negative reactions for three tests) are considered to be negative, within the performance limitations of the reagent.
- Repeatable positive samples (at least two positive reactions for three tests) should be confirmed using additional techniques.

The additional tests can be analyzed by Western Blotting and/or using a second screening test for detection of anti-HIV antibodies, p24 antigen and/or determination of viral load.

It is strongly recommended to test a second sample collected a few days later, particularly in the presence of clinical symptoms and/or risk factors.

Note: country-specific requirements for HIV diagnostics must be taken into account if necessary.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed.

QUALITY CONTROL

A positive antibody control, a positive antigen control, and a negative control are included in each VIDAS HIV DUO Quick kit. These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1, C2 and C3.

Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

VIDAS HIV DUO Quick is an HIV infection screening test.

It should not be used as a specific test for the detection of HIV-1 p24 antigenemia. VIDAS HIV DUO Quick must not be used as a supplementary test for VIDAS HIV DUO Ultra.

This test has been validated for use with serum or plasma but not with other body fluids such as saliva, CSF or urine.

Since the use of recalcified plasma may generate false positive results, this type of sample must not be used.

Do not use a mixture of samples.

Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient history, and the results of any other tests performed.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS HIV DUO Quick gave the following results:

1. Specificity on a blood donor population:

5027 blood donor samples from 3 blood banks were tested.

VIDAS HIV DUO Quick	Final interpretation	
	Positive	Negative
Positive	0	6
Negative	0	5021

Specificity of the VIDAS HIV DUO Quick reagent on this population: 99.88%

(95% confidence interval: 99.74% - 99.95%).

2. Specificity on hospitalized patients:

Two false positive results were found for the 200 samples tested.

Specificity of the VIDAS HIV DUO Quick reagent on this population: 99.00%.

(95% confidence interval: 96.35% - 99.73%)

3. Specificity on high-risk behavior patients:

No false positive results were found for the 100 samples tested.

Specificity of the VIDAS HIV DUO Quick reagent on this population: 100.00%.

(95% confidence interval: 96.38% - 100.00%)

4. Diagnostic sensitivity:

A study was performed using 440 samples presumed to be HIV-1 positive and 122 HIV-2 positive. All of the samples were found to be positive.

Sensitivity of the VIDAS HIV DUO Quick reagent on this population: 100.00% (95% confidence interval: 99.29% - 100.00%).

In order to check the sensitivity of VIDAS HIV DUO Quick on non-B subtypes, 40 group M samples (4A, 14B, 3C, 3D, 3F, 3G, 3H, 3CRF01-AE and 4 CRF02-AG) and 10 group O samples were tested. All were found to be positive.

31 fresh samples with a positive status (collection < 24 hours) were tested and found to be positive with VIDAS HIV DUO Quick. 31 fresh samples with a negative status (collection < 24 hours) were tested and found to be negative with VIDAS HIV DUO Quick.

In order to check the sensitivity of VIDAS HIV DUO Quick on p24 antigen, at least 50 culture supernatants including different HIV-1 and HIV-2 subtypes and at least 50 p24 antigen-positive samples were tested. All were found to be positive.

5. Sensitivity on seroconversion panels

During different studies, 39 seroconversion panels were tested, demonstrating the early detection capabilities of VIDAS HIV DUO Quick.

The dilutions of the 3 HIV-1 samples and the 2 HIV-2 samples of the EFS 96 panel were found to be positive.

The sensitivity of VIDAS HIV DUO Quick, determined on the Ag HIV SFTS panel (subtype B), was estimated at 16.5 pg/ml of HIV-1 antigen. The sensitivity of VIDAS HIV DUO Quick, determined using the international standard NIBSC 90/636 was estimated at 0.5 IU/ml of HIV-1 antigen.

At least 40 early HIV seroconversion samples were tested. The results are conform with the state of the art.

6. Precision

Intra-assay and inter-assay reproducibility, determined at two different sites, were calculated according to the recommendations of NCCLS document EP5-T2, volume 12-4.

Site 1

Sample	n	Mean index	Intra-assay reproducibility %	Inter-assay reproducibility %
Low positive antigen	40	2.48	2.17	3.69
Low positive antibody	40	3.96	3.53	4.14

Site 2

Sample	n	Mean index	Intra-assay reproducibility %	Inter-assay reproducibility %
Low positive antigen	40	2.23	2.07	9.88
Low positive antibody	40	3.63	3.46	7.11

Global analysis

Sample	n	Mean index	Inter-assay reproducibility %
Low positive antigen	80	2.36	10.23
Low positive antibody	80	3.79	8.20

In this analysis, the reproducibility takes into account within-run variability, and between-run and between-site dispersion.

7. Cross-reactivity

134 HIV negative samples from patients whose physiological status may interfere with the VIDAS HIV DUO Quick assay, were tested. The following results were obtained:

	Positive VIDAS HIV DUO Quick results
anti-HAV + antibody	0/10
anti-HCV + antibody	0/10
anti-HBV + antibody	0/10
anti-Gag + antibody	0/13
anti-EBV + antibody	0/10
anti-HSV + antibody	0/10
anti-CMV + antibody	0/10
anti-nuclear + antibody	0/10
anti- <i>Toxoplasma gondii</i> + antibody	0/6
anti- <i>Treponema pallidum</i> + antibody	0/5
Vaccinated against influenza	0/10
Vaccinated against hepatitis B	0/10
Rheumatoid factor +	0/10
Children under 15 years of age	0/10

Spiking of HIV positive and HIV negative samples with increasing concentrations of biotin (0 to 2 mg/l) did not affect the VIDAS HIV DUO Quick result.

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. F.Barré-Sinoussi, J.C. Chermann, F.Rey et al. Isolation of T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). 20 May 1983. Science.Vol.220. page 868-871.
2. F.Clavel, D.Guétard, F.Brun-Vézinet et al. Isolation of a New human Retrovirus from West African Patients with AIDS. 18 July 1986. SCIENCE Vol 233 page 343-346.
3. R.de Leys, B.Vanderborgh, M Vanden Haesevelde and al. Isolation and Partial Characterization of an Unusual Human Immunodeficiency Retrovirus from Two Persons of West-Central African Origin. Journal of Virology. Mar.1990.p1207-1216.
4. M.Guyader, M.Emerman, P.Sonigo et al. Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. Nature. 16 april 1987. Vol 326 p.662-669.
5. M.Popovic, M.G.Sarngadharan, E. Read et al. Detection, Isolation, and Continuous Production of Cytopathic Retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and Pre-AIDS. Science. 4 May 1984. Vol.224. p 497-500.
6. World Health Organization, AIDS epidemic update. December 2007. p 1-60.

7. S.Kleinman, M.P.Busch, J.J.Korelitz et al. The Incidence/Window Period Model and its Use to Assess the Risk of Transfusion-Transmitted Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus Infection. *Transfusion Medecine Reviews*. July 1997. Vol 11, N°3 p.155-172.
8. M.Von Sydow, H.Gaines, A.Sönnernborg et al. Antigen detection in primary HIV infection. *British Medical Journal* vol.296. 23 January 1988. p.238-240.
9. A.Galetto-Lacour, S.Kinloch-de Loës, b.Hirschel et al. Primo-infection VIH: un diagnostic souvent évoqué mais posé tardivement. *Schwerz.Med Wochenschr* 1995: 125 n°8. p.341-346.
10. T.Meier, E.Knoll, M.Henkes et al. Evidence for a diagnostic window in fourth generation assays for HIV. *Journal of Clinical Virology* vol.23, 2001, p.113-116.

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

REVISION HISTORY

Change type categories :

N/A

Correction

Technical change

Administrative

Not applicable (First publication)

Correction of documentation anomalies

Addition, revision and/or removal of information related to the product

Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note:

Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.

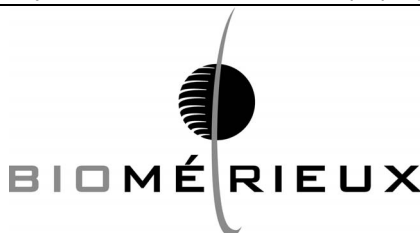
INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalog number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	12232E	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	12232F	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS INSTRUCTIONS FOR USE

BIOMERIEUX, the blue logo, SPR and VIDAS are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux or one of its subsidiaries or one of its companies.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



VIDAS® HIV DUO Quick (HIV6)

IVD

VIDAS HIV DUO Quick yra automatizuotas ŽIV infekcijos atrankinis tyrimas, skirtas naudojimui su VIDAS šeimos instrumentais, kombinuotam anti-ŽIV-1 (grupės M ir O) ir anti-ŽIV-2 bendrų imunoglobulinų ir ŽIV-1 p24 antigeno žmogaus serume ar plazmoje (ličio heparino ar EDTA) nustatymui, naudojant ELFA techniką (Imunofermentinis fluorescentinis metodas).

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Žmogaus imunodeficito virusai (ŽIV) yra RNR retrovirusai, perduodami seksualinio kontakto metu, parenteraliniu ir perinataliniu būdu ar per placentą. ŽIV-1 ir ŽIV-2 buvo atitinkamai išskirti 1983 ir 1985 metais iš pacientų, infekuotų AIDS (Igytas Imuninio Deficito Sindromas). Nuo to laiko buvo aprašyta eilė genetinių sukėlėjo variantų. Šios mutacijos, atrodo, neturėjo įtakos serologinei diagnostikai, kol nebuvo išskirtas ŽIV-1 O variantas (Outlier), kadangi jis buvo tik 50% homologiškas *env* geno lygmenyje su individais, priklausančiais M (Major) grupei (1, 2, 3, 4, 5).

Per 2007 metus naujai ŽIV buvo infekuota 2.5 milijono individų. Pagal apskaičiavimus, 33.2 milijono [30.6 – 36.1 milijono] žmonių ŽIV sirgo 2007 metais (6).

Šiuo metu ŽIV infekcijos diagnostika remiasi antikūnų prieš ŽIV nustatymu serume panaudojant ELISA metodą. Vis dėlto, yra 3 savaičių laikotarpis tarp užsikrėtimo ir pirmųjų antikūnų atsiradimo (7). Šio periodo metu, p24 antigenas yra aptinkamas daugumai žmonių, infekuotų ŽIV-1 (8). Taigi lygiagretus p24 antigenemijos ir antikūnų prieš ŽIV-1 ir ŽIV-2 nustatymas leidžia sumažinti laiko tarpą tarp užsikrėtimo momento ir diagnozės nustatymo (9, 10). VIDAS HIV DUO Quick yra automatizuotas tyrimas, paremtas ŽIV-1 p24 antigeno ir anti-ŽIV-1 ir anti-ŽIV-2 bendrų imunoglobulinų nustatymu, padedančiu sumažinti serokonversijos langą.

Pastaba: VIDAS HIV DUO Quick naudojimas neatmeta prievolės naudoti antrą metodą tose šalyse, kuriose įstatymais yra reikalaujama naudoti du skirtingus skринinginius tyrimus.

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas 2 imunofermentinių reakcijų panaudojimu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgalis (SPR®) tarnauja kaip kieta fazė reakcijai bei kaip išpilstymo priemonė tyrimui. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotuose reagentų strypeliuose. Visos tyrimo procedūros instrumento atliekamos automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į ir iš SPR antgalio.

Viršutinė SPR antgalio dalis padengta monokloniniais anti-p24 antikūnais p24 antigeno nustatymui. Apatinė SPR antgalio dalis gali aptikti anti-ŽIV-1 ir anti-ŽIV-2 antikūnus: ji padengta ŽIV-1 gp160 proteinu ir ŽIV-1 grupės O ir ŽIV-2 specifiniais sintetiniais peptidais.

Preliminaraus inkubavimo metu, mėginys, biotinilintas anti-p24 antikūnas (triušio) strypelyje ir biotinilintas antigenas (toks pats naudojamas kietoje fazėje) kelis kartus cirkuliuoja į ir iš SPR antgalio. Inkubavimo metu įvyksta viruso lizė ir atsipalaidavę p24 antigenai jungiasi prie monokloninių anti-p24 antikūnų, padengusių SPR antgalį ir yra atpažįstamas biotinilinto anti-p24 antikūno. Tuo pačiu metu anti-ŽIV-1 ir/ar anti-ŽIV-2 antikūnai jungiasi su gp160 ir/ar peptidų SPR antgalio apatinėje dalyje ir atpažįstami biotinilintų antigenų.

Du plovimo etapai pašalina nesujungtus komponentus.

Antras inkubavimas strypelyje su biotinilintu antigenu (toks pats naudojamas kietoje fazėje) atliekamas tik SPR antgalio apatinėje dalyje. Biotinilintas antigenas jungiasi su bet koku anti-ŽIV antikūnu, padengusiu SPR antgalio apatinę dalį.

Bet koks reagento perteklius pašalinamas plovimo metu.

Trečias inkubavimas atliekamas su šarmine fosfataze pažymėtu streptavidinu. Šio etapo metu, streptavidinas jungiasi prie biotinilinto anti-p24 antikūno, jei jis yra SPR antgalio viršutinėje dalyje ir prie biotinilinto antigeno, jei jis yra SPR antgalio apatinėje dalyje.

Bet koks reagento perteklius pašalinamas plovimo metu.

Paskutinio aptikimo etapo metu, substratas (4-Metil-umbeliferilfosfatas) cirkuliuoja į ir iš SPR antgalio. Konjugato fermentas kanalizuoja šį substratą į fluorescuojantį produktą (4-Metil-umbeliferoną), kurios fluorescencija matuojama prie 450 nm. Fluorescencijos intensyvumas proporcingas anti-ŽIV antikūnų ir/ar p24 antigenų buvimui mėginyje.

Tyrimo pabaigoje rezultatai automatiškai apskaičiuojami prietaiso, lyginant su standartu ir tada atspausdinami.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PARUOŠIMAS:

60 HIV6 strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 HIV6 SPR antgalių (2 x 30)	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalių vidinė pusė padengta gp160 (ŽIV-1) proteinu, ŽIV-1 grupė O ir ŽIV-2 specifiniais sintetiniais peptidais ir monokloniniais anti-p24 antikūnais.
HIV6 teigiama antikūno kontrolė (1 x 2.0 ml) (liofilizuota)	C1	Reagento paruošimui užpilkite 2 ml distiliuoto vandens. Palikite 5-10 min., po to sumaišykite. Po paruošimo stabilus 2 mėn. 2-8°C temperatūroje. Žmogaus serumas* su anti-ŽIV-1 antikūnais + TRIS (0.1 mol/l, pH 7.4) + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + konservantai. MLE duomenys nurodo pasiklivimo intervalą antikūno rezultatui ("Control C1 (+) Test Value Range").
HIV6 neigiama kontrolė (1 x 1.3 ml) (skysta)	C2	Paruošta naudojimui. Žmogaus serumas ** + TRIS (0.1 mol/l, pH 7.4) + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + konservantai.
HIV6 teigiama antigeno kontrolė (1 x 2.0 ml) (liofilizuota)	C3	Reagento paruošimui užpilkite 2 ml distiliuoto vandens. Palikite 5-10 min., po to sumaišykite. Po paruošimo stabilus 2 mėn. 2-8°C temperatūroje. Žmogaus serumas ** su išaktyvuotu ŽIV-1 viruso lizatu + TRIS (0.1 mol/l, pH 7.4) + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + konservantai. MLE duomenys nurodo pasiklivimo intervalą antigeno rezultatui ("Control C3 (+) Test Value Range").
HIV6 standartas (1 x 2.0 ml) (liofilizuotas)	S1	Reagento paruošimui užpilkite 2 ml distiliuoto vandens. Palikite 5-10 min., po to sumaišykite. Po paruošimo stabilus 2 mėn. 2-8°C temperatūroje. Žmogaus serumas* su anti-ŽIV-1 antikūnais + TRIS (0.1 mol/l, pH 7.4) + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + konservantai. MLE duomenys nurodo pasiklivimo intervalą "Relative Fluorescence Value (RFV)" ("Standard (S1) RFV Range") vienetais.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos:		
• MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu.		
ar		
• MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės		
1 spaustukas		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomérieux.com/techlib .		

* Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniam antigenui ir antikūnams prieš HCV. Šis produktas buvo išaktyvuotas karščiu (30 minučių prie 56°C). Vis dėlto, joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

** Šis produktas buvo ištirtas ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas HBs paviršiniam antigenui ir antikūnams prieš ŽIV-1, ŽIV-2 ir HCV. Kadangi joks egzistuojantis metodas negali visiškai garantuoti jų nebuvimo, šis produktas turi būti vertinamas kaip potencialiai infekcinis. Dėl to dirbant su produktu būtina imtis įprastų saugumo priemonių.

SPR antalis

Gamybos procese vidinis SPR antgalio paviršius padengiamas gp160 proteinu ir ŽIV-1 grupė O ir ŽIV-2 specifiniais sintetiniais peptidais apatinėje dalyje ir monokloniniais anti-p24 antikūnais viršutinėje dalyje. Antigenai gali surišti anti-ŽIV-1 ir/ar anti-ŽIV-2 antikūnus ir monokloniniai antikūnai gali surišti ŽIV-1 p24 antigeną. Kiekvienas SPR antgalis identifikuojamas ŽIV-6 kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR antgalių skaičių ir **kruopščiai ją uždarykite po atidarymo spaustuku, tiekiamu kartu su rinkiniu.**

Strypelis

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Šulinėliuose centrinėje strypelio sekcijoje yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

VIDAS HIV DUO Quick strypelio apibūdinimas:

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2	HEPES buferis + biotinu žymėti anti-p24 antikūnai (triušio) + triton X100 + ožkos serumas + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + 0.2 g/l gentamicino sulfato + 0.9 g/l natrio azido (300 µl).
3 - 5 - 6 - 8 - 9	Plovimo buferis: TRIS + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + 0.9 g/l natrio azido (600 µl).
4	HEPES buferis + gp160 baltymas ir biotinu žymėti sintetiniai peptidai + nugriebtas pienas + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + 0.2 g/l gentamicino sulfato + 0.9 g/l natrio azido (300 µl).
7	Konjugatas: šarminė fosfataze žymėtas streptavidinas + TRIS + nugriebtas pienas + 2.5 g/l jaučio albuminas + triton X100 + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + 0.2 g/l gentamicino sulfato + 0.9 g/l natrio azido (400 µl).
10	Nuskaitymo kiuvetė su substratu: 4-Metil-umbeliferilfosfatas (0.6 mmol/l) + dietanolaminas (DEA*) (0.62 mol/l ar 6.6 %) pH 9.2 + 1 g/l natrio azido (300 µl).

* Signalinis žodis: **PAVOJINGA**

Pavojingumo frazė

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazė

P280: Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Dėl išsamesnės informacijos prašome skaityti medžiagos saugos duomenų lapą.

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS IR VIENKARTINĖS PRIEMONĖS

- Pipetės su vienkartiniais antgaliais kalibruotos dozuoti po 2 ml ir 200 µl.
- Latekso pirštinės be talko.
- Kitas specifines priemones ir vienkartinės medžiagas galite rasti instrumento vartotojo vadove.
- VIDAS šeimos instrumentas.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Tik *in vitro* diagnostiniam naudojimui.
- Tik profesionaliam naudojimui.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (žiūrėkite *Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – paskutinį leidimą*).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos žinios apie gyvūnų kilmę ir/ar sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šį produktą vertinti kaip potencialiai infekcinį ir dirbant su juo imtis įprastų saugumo priemonių (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR atgalio jei maišelis yra pradurtas.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas ant dėžės etiketės.

- Nemaišykite reagentų (ar vienkartinio naudojimo priemonių) iš skirtingų gaminio serijų.
- Naudokite pirštines **be talko**, kadangi yra duomenų, jog talkas sukelia kai kurių imunofermentinių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengtų šių junginių susikaupimo.
- Substratas 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žiūrėkite Naudotojo Instrukciją dėl išsipyliusių skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentas turi būti reguliariai valomas ir nukenksminamas (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją).

LAIKYMO SĄLYGOS

- VIDAS HIV DUO Quick rinkinį laikykite prie 2-8°C.
- **Nesušaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Po rinkinio atidarymo patikrinkite, kad SPR pakuotė yra teisingai uždaryta ir nepažeista. Jei ne, nenaudokite SPR antgalių.
- **Po panaudojimo kruopščiai uždarykite pakuotę su viduje esančiu drėgmės sugėrėju, kad išlaikyti SPR antgalių stabilumą ir sugrąžinkite pilną rinkinį į 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės. Žiūrėkite į rinkinio sudėties lentelę dėl specialių laikymo sąlygų.

MĖGINIAI

Mėginių tipas ir surinkimas:

Žmogaus serumas ar plazma (surinkti su ličio heparinu ar EDTA).

Nenaudokite rekalcifikuotos plazmos.

Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų surinkimo mėgintuvėlių suderinamumą. Neišaktyvuokite mėginių.

Nė vienas iš sekančių faktorių neturėjo įtakos šiam tyrimui.

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo: iki 300 µmol/l) (monomeras).
- trigliceridų koncentracija (po trigliceridų įdėjimo iki 30 mg/ml trigliceridų)
- bilirubino koncentracija (po bilirubino įdėjimo iki 200 mg/l bilirubino).

Tačiau yra rekomenduojama nenaudoti mėginių, kurie yra aiškiai hemolizuoti, lipemiški ar ikteriški ir, jei įmanoma, surinkti naujus mėginius.

Mėginio stabilumas

Mėginiai gali būti laikomi 2-8°C temperatūroje užkimštuose mėgintuvėliuose iki 2 dienų. Jei yra reikalingas ilgesnis saugojimas, serumą ar plazmą užšaldykite iki -25 ± 6°C.

Venkite iš eilės kelių užšaldymų ir atšildymų.

Tyrimas, atliktas su virš 2 mėnesių užšaldytais mėginiais, parodė, kad rezultatų kokybė nebuvo paveikta.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Dėl pilnų instrukcijų žiūrėkite instrumento Naudojimo Instrukcijas.

MLE duomenų nuskaitymas

Prieš naudojant naują reagentų partiją, į instrumentą įveskite specifikacijas (ar gamyklinius duomenis) į instrumentą, naudodamiesi kalibravimo kreivės (MLE) duomenimis.

Jei ši operacija nėra atliekama prieš pradedant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kartą vienai partijai.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **neautomatiškai arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibravimas, naudojantis standartu pateikiamu rinkinyje, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos serijos reagentai, po to kai serijos duomenys buvo įvesti. Tada kalibravimas turi būti atliekamas kiekvienas 14 dienų. Ši operacija pateikia instrumentui specifinę signalo nukrypimus rinkinio naudojimo metu.

Standartas, nurodytas kaip S1, turi būti naudojamas tyrimui **dvigubu pakartojimu** (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Santykinė Fluorescencijos Vertė) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedūra

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Naudokite vieną "HIV6" strypelį ir vieną "HIV6" SPR antgalį kiekvienam tiriamam mėginiui, kontrolei ar standartui. **Įsitikinkite, kad pakuotė kruopščiai uždaryta spaustuku po to, kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Tyrimas instrumente yra identifikuojamas "HIV6" kodu. Standartas turi būti identifiкуotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C1" ir "C3". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiкуota kaip "C2".
4. Jei būtina, nuskaidrinkite mėginius centrifugavimu.
5. Standartų, kontrolių ir mėginių sumaišymui naudokite Vortekso tipo kratiklį (serumas atskirtas nuo ląstelių) tam, kad pagerinti rezultatų atkuriamumą.
6. **Šiam tyrimui, standarto, kontrolės ir mėginio tiriamoji dalis yra 200 µl. Tiriamoji dalis yra dozuojama į mėginio šulinėlį, kuris šiam tyrimui tarnauja kaip reakcijos kiuvetė.**
7. Įstatykite "HIV6" SPR antgalius ir "HIV6" strypelius į instrumentą. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
8. Paleiskite tyrimą kaip nurodyta Naudojimo Instrukcijoje. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
9. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į reikiamą temperatūrą.
10. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 80 minučių. Po to, kai tyrimas yra atliktas išimkite SPR antgalius ir strypelius iš instrumento.
11. Panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Kai tyrimas baigtas, rezultatai įvertinami kompiuteriu automatiškai. Fluorescencija kiekvienam tiriamajam mėginiui Reagentų Strypelio matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis substrato kiuvetės prieš SPR antgalio įvedimą į substratą nuskaitymas. Antrasis nuskaitymas vyksta, kai substratas buvo inkubuotas SPR antgalyje. Santykinė Fluorescencijos Vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape. Prietaisas kiekvienam mėginiui sekančiai apskaičiuoja tyrimo vertę:

Tyrimo vertė = paciento RFV / standarto RFV

Ši tyrimo vertė ir interpretacijos rezultatai yra pateikiama rezultatų lape.

Tyrimo vertė interpretuojama sekančiai:

Tyrimo vertė	Rezultatų interpretavimas
< 0.25	Neigiamas
≥ 0.25	Teigiamas

Jei mėginiui sukurama "Neteisingas" žinutė, rezultatas yra neteisingas. Šiuo atveju, mėginį reikia ištirti dar kartą. Mėginiai, kurių tyrimo vertės yra neigiamos vertinamos kaip neigiamos, reagento atlikimo apribojimų ribose. Įtariamoms pirminės infekcijos atveju, vertės $\approx$ 0.25 turi būti interpretuojamos atsargiai.

Mėginiai, kurių tyrimo vertė yra teigiama turi būti tiriamos antrą kartą:

- Nekartojami teigiami mėginiai (trims tyrimams dvi neigiamos reakcijos) vertinami kaip neigiami, reagento atlikimo apribojimų ribose.
- Kartojami teigiami mėginiai (mažiausiai dvi teigiamos reakcijos trims tyrimams) turi būti patvirtinti naudojant papildomą techniką.

Papildomi tyrimai gali būti analizuojami Western Blot ir/ar naudojant antrą skrinimo testą anti-ŽIV antikūnų, p24 antigenų nustatymui ir/ar virusų kiekio nustatymui.

Griežtai rekomenduojama ištirti antrą mėginį, surinktą kelias dienas vėliau, ypač klinikinių simptomų metu ir/ar esant rizikos faktoriams.

Pastaba: jei reikia turi būti atsižvelgiama į specifinius šalies ŽIV diagnostikos reikalavimus.

Tyrimo rezultatų interpretacija turi būti įvertinama atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokių kitų tyrimų rezultatus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kiekviename VIDAS HIV DUO Quick rinkinyje yra teigiama antikūno kontrolė, teigiama antigeno kontrolė ir neigiama kontrolė. Šios kontrolės turi būti atliekamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiamomis kontrolėmis. Instrumentas kontrolių vertes sugebės patikrinti tik tuomet, jei jos yra nurodytos kaip C1, C2 ir C3.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės vertė nukrypsta nuo tikėtinų vertės.

Pastaba

Tai yra naudotojo atsakomybė ar atlikti Kokybės Kontrolę, priklausomai pagal taikomus vietinius priimtinius reikalavimus.

METODO APRIBOJIMAI

VIDAS HIV DUO Quick yra ŽIV infekcijos skринinginis tyrimas. **Jis neturi būti naudojamas kaip specifinis tyrimas ŽIV-1 p24 antigenemijos nustatymui. VIDAS HIV DUO Quick neturi būti naudojamas kaip papildomas tyrimas su VIDAS HIV DUO Ultra.**

Šis tyrimas patvirtintas tik naudojimui su serumu ar plazma, bet ne su kitais kūno skysčiais tokiais kaip seilės, CSF ar šlapimas.

Kadangi rekalcifikuotos plazmos naudojimas gali sukelti klaidingai teigiamus rezultatus, negalima naudoti šio mėginio tipo.

Nenaudokite sumaišytų mėginių.

Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus, nukreiptus prieš reagento komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į paciento istoriją ir bet kokių kitų atliktų tyrimų rezultatus.

Atlikimas

Studijos, atliktos naudojantis VIDAS HIV DUO Quick parodė sekančius rezultatus:

1. Specifiškumo studija su kraujo donorų populiacija:

Buvo tiriami 5027 kraujo donorų mėginiai iš 3 kraujo bankų.

VIDAS HIV DUO Quick	Galutinė interpretacija	
	Teigiama	Neigiama
Teigiama	0	6
Neigiama	0	5021

VIDAS HIV DUO Quick reagento specifiškumas šioje populiacijoje: 99.88 %
(95% pasiklovimo intervalas: 99.74% - 99.95%).

2. Specifiškumo studija su hospitalizuotais pacientais:

Iš 200 tirtų mėginių buvo rasti du klaidingai teigiami rezultatai.

VIDAS HIV DUO Quick reagento specifiškumas šioje populiacijoje: 99.00%.

(95% pasiklovimo intervalas: 96.35% - 99.73%)

3. Specifiškumo studija su aukštos pagal elgesį grupės pacientais:

Iš 100 tirtų mėginių nebuvo rasta klaidingai teigiamų rezultatų.

VIDAS HIV DUO Quick reagento specifiškumas šioje populiacijoje: 100.00%.

(95% pasiklovimo intervalas: 96.38% - 100.00%)

4. Diagnostinis jautrumas:

Studija buvo atlikta tiriant 440 mėginių, kurie kaip buvo nuspręsta yra ŽIV-1 teigiami ir 122 ŽIV-2 teigiami. Visi šie mėginiai buvo aptikti esantys teigiami.

VIDAS HIV DUO Quick reagento jautrumas šioje populiacijoje: 100.00% (95% pasikiojimo intervalas: 99.29% - 100.00%).

Tam, kad patikrinti VIDAS HIV DUO Quick jautrumą su ne-B subtipais, buvo tirti 40 M grupės mėginiai (4A, 14B, 3C, 3D, 3F, 3G, 3H, 3CRF01-AE ir 4 CRF02-AG) ir 10 O grupės mėginių. Visi buvo aptikti teigiami.

Buvo tiriamas 31 šviežias mėginys su teigiamu statusu (surinkta per < 24 valandas) ir nustatyta, kad jie yra teigiami naudojant VIDAS HIV DUO Quick. 31 šviežias mėginys su neigiamu statusu (surinkta per < 24 valandas) buvo ištirti, ir nustatyta, kad jie yra neigiami su VIDAS HIV DUO Quick.

VIDAS HIV DUO jautrumo su p24 antigenų patikrinimui, buvo ištirta mažiausiai 50 kultūrų supernatantų, įskaitant skirtingus ŽIV-1 ir ŽIV-2 potipius ir mažiausiai 50 p24 antigenų teigiamų mėginių. Nustatyta, kad jie visi yra teigiami.

5. Jautrumo studija serokonversiniuose paneliuose

Skirtingų tyrimų metu buvo tirti 39 serokonversiniai paneliai, demonstruojantys ankstyvas VIDAS HIV DUO Quick aptikimo galimybes.

3 ŽIV-1 mėginių ir 2 ŽIV-2 mėginių EFS 96 panelių praskiedimai buvo aptikti teigiami.

VIDAS HIV DUO Quick jautrumas, nustatytas ant Ag ŽIV SFTS panelio (subtipas B), buvo apskaičiuotas 16.5 pg/ml ŽIV-1 antigeno.

jautrumas, nustatytas naudojant tarptautinį standartą NIBSC 90/636, buvo įvertintas prie 0.5 IU/ml ŽIV-1 antigeno.

Buvo tirama mažiausiai 40 ankstyvos ŽIV serokonversijos mėginių. Rezultatai yra patvirtinti.

6. Tikslumas

Atkartojamumas to paties tyrimo serijos ribose ir tarp atskirų tyrimų serijų buvo tikrinamas dviejose skirtingose ribose ir skaičiuojamas pagal NCCLS dokumento EP5-T2, leidimas 12-4.

Riba 1

Mėginys	n	Vidutinis indeksas	Atkartojamumas to paties tyrimo serijos ribose %	Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų %
Žemas teigiamas antigenas	40	2.48	2.17	3.69
Žemas teigiamas antikūnas	40	3.96	3.53	4.14

Site 2

Mėginys	n	Vidutinis indeksas	Atkartojamumas to paties tyrimo serijos ribose %	Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų %
Žemas teigiamas antigenas	40	2.23	2.07	9.88
Žemas teigiamas antikūnas	40	3.63	3.46	7.11

Globali analizė

Mėginys	n	Vidutinis indeksas	Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų %
Žemas teigiamas antigenas	80	2.36	10.23
Žemas teigiamas antikūnas	80	3.79	8.20

Šios analizės metu, atkartojamumas atsižvelgia į tyrimo variabiliškumą, dispersiją tarp tyrimų ir tarp ribų.

7. Kryžminis reaktyvumas

Buvo tiriami pacientų, kurių fiziologinė būklė gali trukdyti VIDAS HIV DUO Quick tyrimo atlikimui, 134 ŽIV neigiami mėginiai. Buvo gauti sekantys rezultatai:

	Teigiami VIDAS HIV DUO Quick rezultatai
anti-HAV + antikūnas	0/10
anti-HCV + antikūnas	0/10
anti-HBV + antikūnas	0/10
anti-Gag + antikūnas	0/13
anti-EBV + antikūnas	0/10
anti-HSV + antikūnas	0/10
anti-CMV + antikūnas	0/10
anti-nuclear + antikūnas	0/10
anti- <i>Toxoplasma gondii</i> + antikūnas	0/6
anti- <i>Treponema pallidum</i> + antikūnas	0/5
Vakcinuoti prieš gripą	0/10
Vakcinuoti prieš hepatitą B	0/10
Reumatoidinis faktorius +	0/10
Vaikai mažiau nei 15 metų amžiaus	0/10

Pildant ŽIV teigiamus ir ŽIV neigiamus mėginius su didėjančiomis biotino koncentracijomis (nuo 0 iki 2 mg/l) nepaveikė VIDAS HIV DUO Quick rezultatų.

ATLIEKŲ UTILIZAVIMAS

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus kaip ir kitas išmetamas medžiagas, vykdamas infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras. Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai bet kokių galiojančių taisyklių.

LITERATŪRA

1. F.Barré-Sinoussi, J.C. Chermann, F.Rey et al. Isolation of T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). 20 May 1983. Science.Vol.220. page 868-871.
2. F.Clavel, D.Guébard, F.Brun-Vézinet et al. Isolation of a New human Retrovirus from West African Patients with AIDS. 18 July 1986. SCIENCE Vol 233 page 343-346.
3. R.de Leys, B.Vanderborgh, M.Vanden Haesevelde and al. Isolation and Partial Characterization of an Unusual Human Immunodeficiency Retrovirus from Two Persons of West-Central African Origin. Journal of Virology. Mar.1990.p1207-1216.
4. M.Guyader, M.Emerman, P.Sonigo et al. Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. Nature. 16 april 1987. Vol 326 p.662-669.
5. M.Popovic, M.G.Sarngadharan, E. Read et al. Detection, Isolation, and Continuous Production of Cytopathic Retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and Pre-AIDS. Science. 4 May 1984. Vol.224. p 497-500.
6. World Health Organization, AIDS epidemic update. December 2007. p 1-60.
7. S.Kleinman, M.P.Busch, J.J.Korelitz et al. The Incidence/Window Period Model and its Use to Assess the Risk of Transfusion-Transmitted Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus Infection. Transfusion Medicine Reviews. July 1997. Vol 11, N°3 p.155-172.

8. M.Von Sydow, H.Gaines, A.Sönnnerborg et al. Antigen detection in primary HIV infection. British Medical Journal vol.296. 23 January 1988. p.238-240.
9. A.Galetto-Lacour, S.Kinloch-de Loës, b.Hirschel et al. Primo-infection VIH : un diagnostic souvent évoqué mais posé tardivement. Schweiz.Med Wochenschr 1995 : 125 n°8. p.341-346.
10. T.Meier, E.Knoll, M.Henkes et al. Evidence for a diagnostic window in fourth generation assays for HIV. Journal of Clinical Virology vol.23, 2001, p.113-116.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ**Kategorijų tipų keitimas**

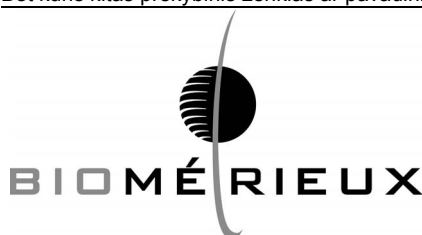
N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

Pastaba: *Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.*

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	12232E	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PARUOŠIMAS ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	12232F	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PARUOŠIMAS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

BIOMERIEUX, mėlynasis logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, artimiausiu metu registruotini ir/ar registruoti prekybiniai ženklai, priklausantys bioMérieux, vienam iš filialų ar kompanijų.

Bet kuris kitas prekybinis ženklas ar pavadinimas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.



bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



Quality Control VIDAS[®] (QCV)



Automated test for use on the VIDAS[®] system to detect abnormal operation of the VIDAS and mini VIDAS instrument pipette mechanisms and optical systems.

SUMMARY AND EXPLANATION

Quality Control VIDAS (QCV) is used to detect abnormal operation of pipette mechanisms which may affect the results of biological tests. It is also intended for checking that the optical system is capable of measuring high fluorescence levels.

The QCV test must be run at least once a month in each position of the VIDAS and mini VIDAS instruments, or any time that one of the above-mentioned instrument problems is suspected.

PRINCIPLE

The test corresponds to successive aspirations/dilutions of fluorescent substrate (4-Methyl-umbelliferone) solutions which are standardized and have varying levels of concentration. The aspirations are performed at different speeds to check pump aspiration capability.

The results obtained at the end of the test correspond to:

- a fluorescence ratio "Test Value 1" (TV1 for mini VIDAS) for checking that the pipette mechanism is operating correctly,
- a fluorescence reading (Reading 3 for VIDAS and R3 for mini VIDAS) for checking that the optical system is intact.

The values obtained must be within the acceptable range defined later in this package insert.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS):

60 QCV Strips	STR	Ready-to-use.
60 QCV SPRs (2 x 30)	SPR	Ready-to-use.
1 Package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib		

DESCRIPTION

The SPR[®]:

The SPR is used as a pipetting device and is identified by the code QCV. **Only remove the required number of SPRs from the pouch.**

The strip:

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The last well is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the QCV strip:

Wells	Reagents
1	Empty well: no sample is needed for this test.
2	400 µL of 4-Methyl-umbelliferone solution (100 µmol/L) in CHES buffer (20 mmol/L, pH 9.6) + 0.9 g/L sodium azide.
3	Empty well.
4	400 µL of 4-Methyl-umbelliferone solution (0.6 µmol/L) in CHES buffer (20 mmol/L, pH 9.6) + 0.9 g/L sodium azide.
5 - 6	600 µL of 4-Methyl-umbelliferone solution (0.6 µmol/L) in CHES buffer (20 mmol/L, pH 9.6) + 0.9 g/L sodium azide.
7	Empty well.
8 - 9	400 µL of 4-Methyl-umbelliferone solution (26 µmol/L) in CHES buffer (20 mmol/L, pH 9.6) + 0.9 g/L sodium azide.
10	Optical cuvette with substrate: 300 µL of 4-Methyl-umbelliferone (0.6 µmol/L) in CHES buffer (20 mmol/L, pH 9.6) + 0.9 g/L sodium azide.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. **Caution: the strips are photosensitive and must be kept in their box to be protected from light.**
2. Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
3. Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.

4. It is recommended to wear gloves as if handling biological tests.

STORAGE

- Store the VIDAS QCV kit at 2 - 8°C. Do not freeze reagents. **Store all unused reagents in their box at 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label. Do not use the reagents after the expiration date.

INSTRUCTIONS FOR USE

Your instrument should be checked **at least once a month** using the VIDAS QCV test, and each time abnormal operation of the pipette mechanism or optical system is suspected.

It is essential to perform the VIDAS QCV test on all the positions to ensure that the whole instrument has been checked.

It is essential to archive patient work lists and their results on a monthly basis in order to track results obtained between two QCV tests.

1. Remove necessary components from the kit and return all unused components to storage at 2-8°C.

2. Create the work list: type QCV and indicate the number of tests to be run.
3. Load the reagent strips and SPRs into the instrument (**Note:** no desiccant is needed in the SPR pouch). Be sure to close all SPR® doors and tray covers.
4. Run the test (see User's Manual). All steps will be performed automatically by the instrument. The test will be completed in approximately 20 minutes.
5. **After the test is completed, print the results and analyze them as instructed later in this package insert. Once interpretation of results has been validated, dispose of the used SPRs and strips into an appropriate recipient.**

RESULTS AND INTERPRETATION

The first reading is performed at the beginning of the assay to check that the reagent is intact:

reading 1 for VIDAS
R1 for mini VIDAS

The second reading is taken after successive aspirations which are performed at different speeds; they are used to check the ability of the pump to pipette properly:

reading 2 for VIDAS
R2 for mini VIDAS

The third reading is taken after a small quantity of highly concentrated substrate is pipetted. This operation is performed to check that the optical system is capable of measuring high fluorescence levels:

reading 3 for VIDAS
R3 for mini VIDAS

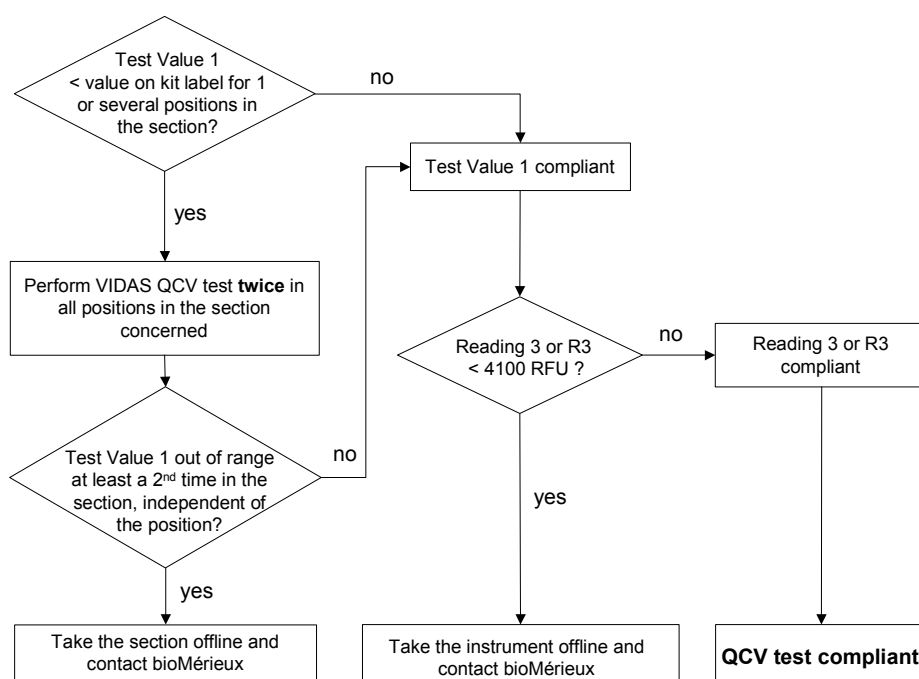
When the test is completed, the computer automatically calculates Test Value 1 and 2 (**TV1** and **TV2** for mini VIDAS) using the 3 fluorescence readings. The calculations appear on a report.

VIDAS: Test Value (TV1) = $\frac{\text{reading 2}}{\text{reading 1}}$ Test Value (TV2) = $\frac{\text{reading 3}}{\text{reading 1}}$

mini VIDAS: TV1 = $\frac{R2}{R1}$ TV2 = $\frac{R3}{R1}$

The values for reading 3 (R3 for mini VIDAS) and Test Value 1 (TV1 for mini VIDAS) must be within the acceptable ranges indicated below (see diagram):

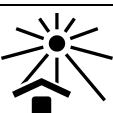
- **Acceptable range for Test Value 1 (TV1 for mini VIDAS):** the Test Value 1 for each position must be **≥ the value indicated on the kit label**. If the result of a particular position is outside the range, two new VIDAS QCV tests must be run successively in all the positions in the section concerned (for VIDAS and mini VIDAS). If at least one other non-compliant result is produced in the same section, independent of the position, take the section offline and contact bioMérieux.
- **Acceptable range for reading 3 (R3 for mini VIDAS):** reading 3 for each position must be **≥ 4100 RFU**. If the result of a particular position is outside the range, take the instrument offline and contact bioMérieux.



LIMITATIONS OF THE METHOD

- VIDAS QCV may produce an invalid result when the reading 1 or R1 value is < 200 RFU. In this case, perform the test again using a new QCV strip from a new lot (if possible).
- VIDAS QCV should only be used to diagnose problems with the instrument pipette mechanism or optical system. It is not a calibrator.
- VIDAS QCV does not diagnose temperature problems or leakages.
- VIDAS QCV should only be used to test the instrument.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
	Catalogue number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limitation
	Use by
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Protect from light

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

BIOMERIEUX, the blue logo, SPR and VIDAS are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



 **bioMérieux SA**
Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

RCS LYON 673 620 399
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



Quality Control VIDAS[®] (QCV)

IVD

Automatinis tyrimas skirtas naudojimui su VIDAS[®] sistema neteisingo VIDAS ir mini VIDAS instrumentų pipetų mechanizmo ir optinės sistemos veikimo nustatymui.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Quality Control VIDAS (QCV) yra naudojamas neteisingo pipetės mechanizmo veikimo, kuris gali turėti poveikį biologinio tyrimo rezultatams, nustatymui. Taip pat jis skirtas optinės sistemos patikrinimui ar ši gali matuoti aukštas fluorescencijos vertes.

QCV tyrimas turi būti atliekamas mažiausiai kartą per mėnesį kiekvienai VIDAS ir mini VIDAS instrumento pozicijai ar bet kuriuo metu, kai aukščiau minėtiems instrumentams įtariama problema.

PRINCIPAS

Tyrimas atitinka nuoseklų fluorescentinio substrato (4-Metil-umbeliferono) tirpalo įsiurbimą/skiedimą. Kuris yra standartizuotas ir turi kintamus koncentracijos kiekius. Įsiurbimas yra atliekamas skirtingu greičiu, kad patikrinti įsiurbimo pompų galimybes.

Gauti rezultatai, gaunami tyrimo pabaigoje, atitinka:

- Fluorescencijos santykį „Test Value 1“ (TV1 - mini VIDAS) patikrinant pipetės mechanizmo tikslumą,
- fluorescentinį nuskaitymą (nuskaitymas 3 – VIDAS ir R3 – mini VIDAS) optinės sistemos patikrinimui.

Gautos vertės turi patekti į pakuotės aprašyme pateikiamas ribas.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ):

60 QCV strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 QCV SPR antgaliai (2 x 30)	SPR	Paruošti naudojimui.
1 pakuotės aprašymas, pateikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib		

APRAŠYMAS

SPR[®]:

SPR[®] yra naudojamas kaip dozavimo priemonė ir identifikuojama kodu QCV. **Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR antgalių skaičių.**

Strypelis:

Strypelis susideda iš 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra bar kodas, kuris pirmiausia nurodo tyrimo kodą, rinkinio serijos numerį ir galiojimo laiką. Paskutinė kiekvieno strypelio duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Viduriniuose šulinėliuose strypelio centre yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

QCV strypelio apibūdinimas:

Šulinėliai	Reagentai
1	Tuščias šulinėlis: šiam tyrimui mėginys nėra reikalingas.
2	400 µl 4-Metil-umbeliferono tirpalo (100 µmol/l) CHES buferyje (20 mmol/l, pH 9.6) + 0.9 g/l natrio azido.
3	Tuščias šulinėlis.
4	400 µl 4-Metil-umbeliferono tirpalo (0.6 µmol/l) CHES buferyje (20 mmol/l, pH 9.6) + 0.9 g/l natrio azido.
5 - 6	600 µl 4-Metil-umbeliferono tirpalo (0.6 µmol/l) CHES buferyje (20 mmol/l, pH 9.6) + 0.9 g/l natrio azido.
7	Empty well.
8 - 9	400 µl 4-Metil-umbeliferono tirpalo (26 µmol/l) CHES buferyje (20 mmol/l, pH 9.6) + 0.9 g/l natrio azido.
10	Optinė kiuvetė su substratu: 300 µl 4-Metil-umbeliferono (0.6 µmol/l) CHES buferyje (20 mmol/l, pH 9.6) + 0.9 g/l natrio azido.

SPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. **Dėmesio: strypeliai yra jautrūs šviesai ir turi būti laikomi savo dėžutėje apsaugoti nuo šviesos.**
2. Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas etiketėje.
3. Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švinu ar variu ir gali sudaryti sprogus metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad išvengti šių junginių susikaupimo.

4. Rekomenduojama naudoti vienkartinės pirštines kaip dirbant su biologiniais tyrimais.

SAUGOJIMAS

- Laikykite VIDAS QCV rinkinį prie 2 - 8°C. Nesušaldykite reagentų. **Visus nepanaudotus reagentus laikykite prie 2-8°C.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki galiojimo datos, nurodytos ant etiketės. Žiūrėkite į rinkinio sudėties lentelę dėl specialių laikymo sąlygų.

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Instrumentas turi būti tikrinamas **mažiausiai vieną kartą per mėnesį** naudojant VIDAS QCV tyrimą ir kiekvieną kartą kai įtariamas pipečių mechanizmo ir optinės sistemos gedimas.

Svarbu VIDAS QCV tyrimą atlikti visoms pozicijoms, užtikrinant, kad visas instrumentas buvo patikrintas. Svarbu archyvuoti pacientų duomenis ir rezultatus kiekvieną mėnesį, siekiant patikrinti duomenis tarp dviejų QCV tyrimų.

1. Išimkite reikiamus komponentus iš rinkinio ir nenaudojamus grąžinkite į rinkinį ir laikykite prie 2 - 8°C.
2. Sukurkite darbinį sąrašą QCV ir nurodykite atliekamų tyrimų skaičių.

3. Įdėkite reagentų strypelius ir SPR antgalius į instrumentą (**Pastaba:** drėgmės sugėrėjas SPR pakuotėje nėra reikalingas). Įsitikinkite, kad SPR® durelės ir stalčiukas uždaryti.
4. Paleiskite tyrimą (žiūrėkite Naudojimosi Instrukciją). Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 20 minučių.
5. **Po to kai tyrimas atliekamas, atspausdinkite rezultatus ir patikrinkite juos kaip nurodyta toliau šiame pakuotės aprašyme. Kai rezultatų interpretacija atlikta, panaudotus SPR antgalius ir strypelius išmeskite į atitinkamą indą.**

REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

Pirmasis nuskaitymas yra atliekamas tyrimo pradžioje, jog patikrinti ar **nuskaitymas 1, skirtas VIDAS R1 - skirta mini VIDAS**

Antrasis nuskaitymas yra atliekamas po kelių įtraukimų, atliekamų skirtingu greičiu; tai yra atliekama pipetės pompoms tinkamumui nustatyti: **nuskaitymas 2, skirtas VIDAS R2 - skirta mini VIDAS**

Trečiasis nuskaitymas yra atliekamas po nedidelio kiekio didelės koncentracijos substrato dozavimo. Ši operacija nustato ar optinė sistema gali išmatuoti dideles fluorescencijos vertes: **nuskaitymas 3, skirtas VIDAS R3 - skirta mini VIDAS**

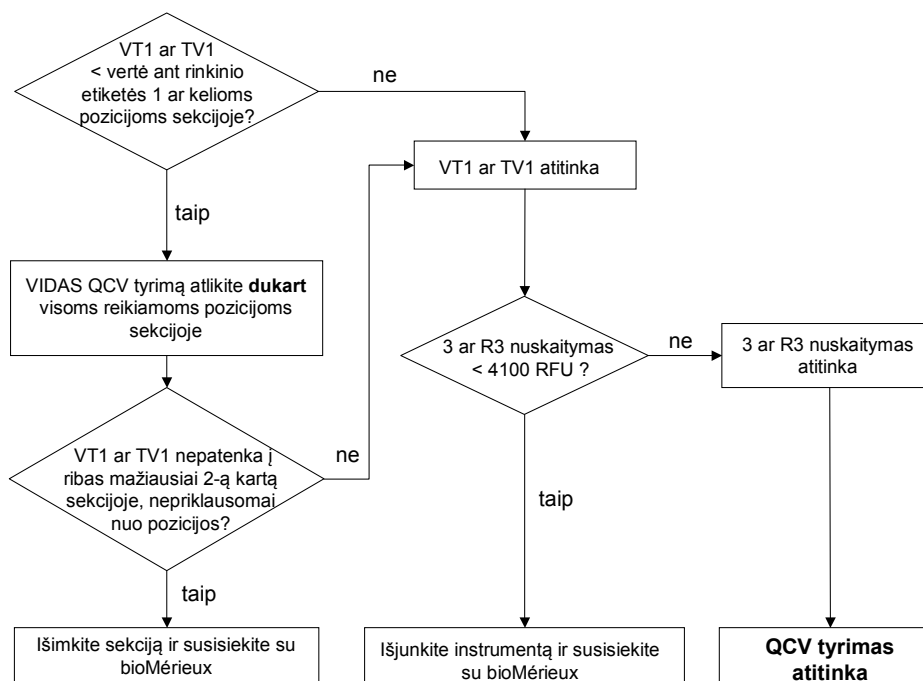
Kai tyrimas yra baigtas, kompiuteris automatiškai skaičiuoja tyrimo 1 ir 2 vertes (TV2, skirta mini VIDAS), naudojant 3 fluorescencijos nuskaitymus. Skaičiavimai pateikiami ataskaitoje.

VIDAS: Tyrimo vertė (TV1) = $\frac{\text{Nuskaitymas 2}}{\text{nuskaitymas 1}}$ Tyrimo vertė (TV2) = $\frac{\text{nuskaitymas 3}}{\text{nuskaitymas 1}}$

mini VIDAS: TV1 = $\frac{R2}{R1}$ TV2 = $\frac{R3}{R1}$

Vertės 3 nuskaitymui (R3, skirta mini VIDAS) ir tyrimo vertė 1 kiekvienai pozicijai vertės turi patekti į priimtinas ribas, nurodytas žemiau (žr. lentelę):

- Tyrimo vertės 1 priimtinos ribos** (TV1 - mini VIDAS): tyrimo vertė 1 kiekvienai pozicijai turi būti $\geq$ **vertei, nurodomai ant rinkinio etiketės**. Jei atitinkamos pozicijos rezultatas nepatenka į ribas, iš eilės pakartotinai turi būti atliekami du VIDAS QCV tyrimai visoms reikiamoms sekcijos pozicijoms (VIDAS ir mini VIDAS). Jei yra mažiausiai vienas neatitinkantis rezultatas toje pačioje sekcijoje nepriklausomai nuo pozicijos, išimkite sekciją ir susisiekite su bioMérieux.
- Nuskaitymo 3 priimtinos ribos** (R3 mini VIDAS): 3 nuskaitymas kiekvienai pozicijai turi būti $\geq$ **4100 RFU**. Jei tam tikros pozicijos rezultatas nepatenka į priimtinas ribas, išjunkite instrumentą ir susisiekite su bioMérieux.



METODO APRIBOJIMAI

- VIDAS QCV gali rodyti klaidingą rezultatą, kai 1 ar R1 nuskaitymo vertė yra < 200 RFU. Tokiu atveju, tyrimą atlikite iš naujo naudodami naują QCV strypelį iš skirtingos partijos (jei įmanoma).
- VIDAS QCV turi būti naudojama diagnozuoti pipetės mechanizmo ir optinės sistemos problemas. Tai nėra kalibratorius.
- VIDAS QCV nedidina temperatūros problemų ar skysčio nutekėjimų.
- VIDAS QCV turi būti naudojamas tik instrumento patikrinimui.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	In vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Pagaminta
	Temperatūriniai apribojimai
	Snaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo informacijos ieškokite instrukcijoje
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Saugoti nuo šviesos

BIOMERIEUX, mėlynasis logotipas, SPR ir VIDAS, yra naudojami, registruoti ir/ar laukiantys registravimo prekybiniai ženklai, priklausantys bioMérieux ar vienam iš filialų ar kompanijų.
Bet kuris kitas pavadinimas ar prekybinis ženklas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.

VIDAS® PTH (1-84) (PTH)

IVD

Intended Use

VIDAS® PTH (1-84) (PTH) is a third generation automated quantitative assay for use on the VIDAS® family of instruments, for the quantitative measurement of the biologically active parathyroid hormone PTH (1-84) in human serum or plasma using the ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) technique.

Used in conjunction with other laboratory findings and clinical assessments, this assay is intended for use as follows:

- As an aid in the diagnosis of hyper or hypoparathyroidism.
- As an aid for the monitoring of calcium homeostasis in patients with chronic kidney disease.

Summary and Explanation

Parathyroid hormone (PTH) is the main hormone involved in calcium and phosphorus homeostasis. PTH is formed in the parathyroid glands (essentially four, located on the back of the thyroid gland) and secreted as an 84 amino-acid peptide [1-84 according to the universal numbering convention beginning with the N-terminus] when the extracellular calcium concentration decreases.

The main function of the PTH is to maintain the ionized calcium level within a narrow range by a powerful hypercalcemic effect, by stimulating calcium release from bone and distal tubular reabsorption of calcium by the kidney, and by increasing renal production of 1,25-dihydroxyvitamin D-3 (calcitriol) which stimulates intestinal calcium absorption.

PTH increases urine phosphate levels and decreases serum phosphate levels. PTH stimulates bone remodeling by mobilizing osteoblasts, thus justifying its use in osteoporosis treatment to reduce the risk of vertebral fractures.

The secretion of PTH is promoted by low calcium concentrations and high phosphate concentrations, and is inhibited by high calcium concentrations and low phosphate concentrations. It is also inhibited by calcitriol, PTH (7-84) fragment, and magnesium deficiency.

In the bloodstream, the half-life of PTH (1-84) does not exceed 4 minutes. PTH is rapidly degraded by the liver into non-(1-84) C-terminal fragments, essentially (7-84) and (53-84) with long half-lives, and which are eliminated by the kidneys. These fragments accumulate in the blood when the kidneys fail to function.

Parathyroid gland disorders lead to either hyperparathyroidism (primary, secondary or tertiary) or hypoparathyroidism. Apart from bone fragility⁽¹⁾ or nephrolithiasis, the associated symptoms may not be very specific, and asymptomatic parathyroid disorder may be unexpectedly detected during a routine blood test⁽²⁾.

This biological assay contributes in determining a patient's status regarding the function of the parathyroid glands as normal or hyper- or hypoparathyroidism, when interpreted with other biological parameters (such as calcium, phosphate, vitamin D) and clinical signs.

PTH measurement is indicated when performing a differential diagnosis for hypercalcemia or hypocalcemia. It enables the diagnosis of primary or secondary hyperparathyroidism⁽³⁾, and the diagnosis of hypoparathyroidism⁽⁴⁾ mainly after parathyroid surgery. It is also prescribed for patients with chronic kidney disease, in particular in the follow-up of dialysis patients⁽⁵⁾.

In case of kidney failure, medical monitoring is guided by the KDOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative) and KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) recommendations.

In non-kidney disorders, PTH levels in blood are one of the results of routine biological tests investigated by a healthcare specialist (for example: Endocrinology, Rheumatology, Geriatrics, Metabolic Diseases).

Principle

The assay principle combines a 2-step sandwich enzyme immunoassay method with a final fluorescence detection (ELFA). VIDAS® PTH (1-84) is a third generation assay traced to the WHO International Standard for Parathyroid Hormone 1-84, recombinant, coded 95/646.

The single-use Solid Phase Receptacle (SPR) serves as the solid phase as well as the pipetting device. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed single-use reagent strips.

All of the assay steps are performed automatically by the instrument. The reaction medium is cycled in and out of the SPR device several times.

The sample is collected and then diluted in a suitable diluent. The mixture is cycled in and out of the SPR device several times. This operation enables PTH to bind with the capture antibodies fixed to the interior wall of the SPR device.

Unbound components are eliminated during washing steps.

The conjugate mixture is cycled in and out of the SPR device several times. This operation enables the conjugate to bind with the immune complexes that are fixed to the interior wall of the SPR device and to form a sandwich. Unbound components are eliminated during washing steps.

During the final detection step, the substrate (4-Methylumbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR device. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone), the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of the fluorescence is proportional to the concentration of PTH in the sample.

At the end of the assay, the results are automatically calculated and reported in pg/mL by the instrument according to the calibration curve stored in memory. The results can then be printed out.

Content of the Kit (30 tests)

30 PTH Strips ^(a)	STR	Ready-to-use.
30 PTH Solid Phase Receptacles 1 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of SPR device coated with mouse monoclonal anti-PTH immunoglobulins (specific to the N-terminal (1-6) fragment).
PTH Calibrator ^(b) 1 x 4.4 mL (liquid)	S1	Ready-to-use. Buffer containing recombinant PTH (1-84) + Stabilizer of animal origin + preservative. MLE (Master Lot Entry) data indicate the acceptable range in "Relative Fluorescence Value" ("Calibrator (S1) RFV Range").
PTH Control ^(b) 1 x 2.3 mL (liquid)	C1	Ready-to-use. Buffer containing recombinant PTH (1-84) + Stabilizer of animal origin + preservative. MLE data indicate the acceptable range in pg/mL ("Control C1 Dose Value Range").
Specifications for the factory master data required to calibrate the assay: MLE barcode printed on the box label.		
1 package insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com .		



^(a) DANGER
P305 + P351 + P338

WARNING



EUH208 / H317 / H318 / P261 / P280 / P302 + P352 /



^(b) WARNING

EUH208 / H317 / P261 / P280 / P302 + P352

Hazard statements

EUH208: Contains 2-methyl-2H-isothiazolin-3-one. May produce an allergic reaction.

H317: May cause an allergic skin reaction.

H318: Causes serious eye damage.

Precautionary statements

P261: Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray.

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information, consult the Safety Data Sheet.

The SPR device

The interior of the SPR device is coated during production with mouse monoclonal anti-PTH N-ter (1-6) fragment immunoglobulins. Each SPR device is identified by the "PTH" code.

Only remove the required number of SPR devices from the pouch and carefully reseal the pouch after opening.

Reagent Strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled foil seal. The label comprises a barcode which mainly indicates the assay code, kit lot number, and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the VIDAS® PTH (1-84) (PTH) strip

Well	Reagents
1	Sample well: dispense 300 µL of calibrator, control, or sample.
2	Sample diluent: Buffer + Protein stabilizer of animal origin + preservative (300 µL).
3	Empty well.
4 - 5	Wash buffers: Buffer + preservative (600 µL).
6	Conjugate: Buffer containing anti-(7-84) PTH antibodies + Stabilizer of animal origin + preservative (400 µL).
7 - 8	Wash buffers: Buffer + preservative (600 µL).
9	Empty well.
10	Reading cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/L) + diethanolamine (DEA) (0.62 mol/L or 6.6%, pH 9.2) + 1 g/L sodium azide (300 µL).

Materials and Disposables Required but Not Provided

- Single-use pipette and/or micropipettes to dispense the appropriate volumes.
- Powderless disposable gloves.
- For other specific materials and disposables, please refer to the Instrument User Manual.
- Instruments of the VIDAS® family.

Warnings and Precautions

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only, by qualified laboratory personnel, in clinical laboratories.**
- This kit does not contain products of human origin.
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (do not ingest; do not inhale).
- Handle all patient specimens as potentially infectious material and follow the usual safety precautions.
- Although the PTH (1-84) recombinant proteins present in the S1 Calibrator and C1 Control are inactive, handle the tubes as potentially infectious products.
- Do not use the SPR devices if the pouch is pierced or if the dot sealing a SPR device has come unstuck.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the box label.

- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- VIDAS® PTH (1-84) assay reagents are only for use with the instruments of the VIDAS® family.
- Use powderless gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- Refer to the hazard statements “H” and precautionary statements “P” indicated above.
- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent or a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the User Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The instrument should be regularly cleaned and decontaminated (refer to the User Manual for user and preventive maintenance operations).

Storage Conditions

- Store the VIDAS® PTH (1-84) kit at +2°C/+8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at +2°C/+8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPR devices.
- **After use, carefully reseal the pouch with the desiccant inside to maintain stability of the SPR devices, and return the complete kit to +2°C/+8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the box label.

Samples

Sample type and collection

Human serum or plasma.

Types of tubes validated:

- Plastic tube with clot activator
- Plastic tube with clot activator and separation gel
- Plastic tube with lithium heparin
- Plastic EDTA tube

It is recommended to validate collection tubes before use as some contain substances which interfere with test results.

Note: Blood sampling tube results may vary from one manufacturer to another depending on the materials and additives used.

It is the responsibility of each laboratory to validate the type of sample tube used and to follow the manufacturer's recommendations for use.

Sample Preparation

The current WHO/DIL/LAB/99.1 document provides recommendations for sample preparation. ⁽⁶⁾

For use of sample tubes, refer to the tube manufacturer's recommendations for use.

The pre-analytical step, including the preparation of blood samples, is an essential first step when performing medical analyses. In accordance with Good Laboratory Practice, this step is performed under the responsibility of the laboratory manager.

Insufficient clot time can result in the formation of fibrin with micro-clots that are invisible to the naked eye. The presence of fibrin, red blood cells, or suspended particles can lead to erroneous results.

Samples containing suspended fibrin particles or erythrocyte stroma should be centrifuged before testing.

For serum samples, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation. Some specimens, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy, may exhibit increased clotting times.

Sample stability

Samples (serum and plasma) can be stored in closed primary tubes at +18°C/+25°C for up to 8 hours and at +2°C/+8°C for up to 48 hours. If longer storage is required, freeze the serum or plasma at -19°C/-31°C.

A study performed on samples frozen for 6 months at -19°C/-31°C showed that the quality of results is not affected. Three freeze/thaw cycles were validated.

Sample-related interference

None of the following factors have been found to significantly influence this assay:

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin, up to 5 g/L (monomer)),
- lipemia (after spiking samples with lipids, up to 30 g/L equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin, up to 0.3 g/L).

It is recommended not to use hemolyzed, lipemic, icteric samples, and, if possible, to collect a new sample.

Refer to the section **PERFORMANCE – Study of drugs and other potentially interfering substances** for the compounds tested.

Instructions for Use

For complete instructions, see the Instrument User Manual.

Reading VIDAS® PTC (Protocol Test Change) data and MLE data**When using the assay for the first time:**

With the external instrument barcode reader, **scan the barcodes (PTC and MLE) in the following order:**

1. According to the instrument used, scan the PTC barcode(s) downloadable from www.biomerieux.com. This reading allows VIDAS® PTC protocol data to be transferred to the instrument software for its update.
2. Scan the MLE data on the box label.

When opening a new lot of reagents:

With the external instrument barcode reader, scan the MLE data on the box label before performing the test.

Note: The master lot data need only be entered once for each lot.

It is possible to enter MLE data **manually or automatically** depending on the instrument (refer to the User Manual).

Calibration

The calibrator is traceable to the WHO International Standard 95/646 for PTH (1-84).⁽⁷⁾

Calibration, using the Calibrator provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the MLE data have been entered, and then every **84 days**. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf life of the kit.

The Calibrator identified by S1 must be tested in **duplicate** (refer to the User Manual). The Calibrator value must be within the set RFV (Relative Fluorescence Value) range. If this is not the case, recalibrate using S1.

Caution: The assay Calibrator (S1) and Control (C1) are ready-to-use reagents made liquid by the addition of a tension-active stabilizer. When pipetting the 300 µL calibration and calibration control portion, make sure that the entire 300 µL volume is dispensed out of the pipet tip.

Kit controls

One Control is included in each VIDAS® PTH (1-84) (PTH) kit. This Control must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered.

Each calibration must also be checked using this Control. The instrument will only be able to check the control value if it is identified by C1.

Results cannot be validated if the control value deviates from the expected values.

Note: The aim of the VIDAS® PTH (1-84) Quality Control (C1) is to validate calibrations. The use of the VIDAS® PTH (1-84) Quality Control (C1) as an Internal Quality Control is under the customer's responsibility.

Procedure

1. **Remove the kit from storage at +2°C/+8°C and take out the required reagents. Carefully reseal the SPR pouch and return the kit to +2°C/+8°C. The reagents can be used immediately.**

2. Use one "PTH" strip and one "PTH" SPR device for each sample, control, or calibrator to be tested. Make sure the SPR pouch has been carefully resealed after the required Solid Phase Receptacles have been removed.
3. The test is identified by the "PTH" code on the instrument. The calibrator must be identified by "S1" and tested in duplicate. The control identified by "C1" must be tested singly.
4. Mix the calibrator, control, and samples using a vortex-type mixer (for serum or plasma separated from the pellet).
5. For optimal results, refer to all the paragraphs in the **SAMPLES** section.
6. Before pipetting, ensure that the samples, calibrator, control, and diluent are free of bubbles.
7. **For this test, the calibrator, control, and sample test portion is 300 µL.**
8. Insert the "PTH" Solid Phase Receptacles and "PTH" strips into the instrument. Check to make sure that the color labels with the assay code on the Solid Phase Receptacles and the Reagent Strips match.
9. Initiate the assay as directed in the User Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument.
10. Close the vials and return them to the required temperature after pipetting.
11. The assay will be completed within approximately **24 minutes**. After the assay is completed, remove the Solid Phase Receptacles (SPR) and strips from the instrument.
12. Dispose of the used Solid Phase Receptacles (SPR) and strips into an appropriate recipient.

Quality Control

Additional quality controls can be performed in accordance with local regulations or requirements related to accreditation, as well as requirements defined in the laboratory's quality control procedure.

Note: It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any applicable local regulations.

Results and Interpretation

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR device is introduced into the substrate.

The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme bound to the interior of the SPR device. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result. This calculation appears on the result sheet.

The results are automatically calculated by the instrument using calibration curves which are stored by the instrument (predefined mathematical model) and are expressed as pg/mL.

Interpretation of test results should be made taking into consideration the patient's clinical history, and the results of any other tests performed.

The instrument displays the VIDAS® PTH (1-84) (PTH) assay results from 4.0 to 1500.0 pg/mL.

Sample dilution

Samples with VIDAS® PTH (1-84) concentrations greater than 1500.0 pg/mL must be retested after 1/2 dilution (dilution factor = 2) in saline solution (1 volume of sample + 1 volume of saline solution) in order to obtain a result within the measurement range.

The dilution must be performed manually on the VIDAS®, MINI VIDAS®, and VIDAS® 3 instruments.

If the dilution factor (= 2) was entered when the Work List was created, the result is calculated automatically. If the dilution factor was not entered, multiply the result by the dilution factor to obtain the sample concentration.

Limitations of the Method

- Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's clinical history and the results of any other tests performed.
- Refer to the section **PERFORMANCE – Study of drugs and other potentially interfering substances** for the compounds tested.
- Any results that do not correspond to the patient's clinical history may be due to inadequate instrument maintenance (see the Instrument User Manual).

Reference Values

These results are given as a guide. It is recommended that each laboratory establish its own reference values from a rigorously selected population.

Reference values were determined in a clinical study using 491 samples from apparently healthy individuals. The population was divided into 3 groups, depending on the vitamin D status. For each group, a 95% reference value range (or reference interval, according to CLSI EP28-A3c Guideline) was determined, as well as for the total of the apparently healthy population as described below:

	N	Median (in pg/mL)	PTH (1-84) reference interval (in pg/mL)	90% CI* of the Lower reference limit (in pg/mL)	90% CI of the Upper reference limit (in pg/mL)
Healthy population	491	20.8	9.2 - 44.6	[8.7 ; 9.7]	[42.5 ; 46.7]

Healthy population by Vitamin D level	N	Median (in pg/mL)	PTH (1-84) reference interval (in pg/mL)	90% CI of the Lower reference limit (in pg/mL)	90% CI of the Upper reference limit (in pg/mL)
Deficient ≤ 20 ng/mL	176	21.5	8.9 - 45.3	[8.0 ; 9.9]	[42.1 ; 48.8]
Insufficient > 20 and < 30 ng/mL	213	20.7	8.8 - 47.8	[7.6 ; 9.9]	[41.6 ; 57.3]
Normal ≥ 30 ng/mL	102	21.3	9.6 - 47.3	[8.7 ; 10.6]	[41.6 ; 54.1]

* CI: Confidence Interval.

According to the KDIGO guidelines, the PTH concentration of the patients treated by dialysis should be maintained within two and nine times the upper normal limit of the assay.

Performance

Studies performed using the VIDAS® PTH (1-84) (PTH) assay gave the following results.

Measurement range

The measurement range (or analytical measuring interval, according to CLSI EP36-Ed1 Guideline) is the range of values corresponding to the acceptable performance limits (precision and linearity).

The measurement range of the VIDAS® PTH (1-84) (PTH) assay is 4.0 to 1500.0 pg/mL.

Linearity

Linearity was evaluated according to CLSI EP06-A recommendations. The VIDAS® PTH (1-84) assay is linear between 4.0 and 1500.0 pg/mL.

Detection limits

Limit of Blank (LoB)	0.8 pg/mL
Limit of Detection (LoD)	2.2 pg/mL
Limit of Quantitation (LoQ)	4.0 pg/mL

LoB, LoD and LoQ values were determined according to CLSI EP17-A2 recommendations.

The Limit of Blank (LoB) is the concentration below which 95% of analyte-free samples are found.

The Limit of Detection (LoD) is the lowest concentration of analyte in a sample that can be distinguished from the analyte-free sample with a probability of 95% (observed result greater than the LoB with a 95% probability).

The Limit of Quantitation (LoQ) is the lowest concentration of analyte that can be detected and measured with an acceptable level of precision. All results under 4.0 pg/mL are printed ≤ 4.0 pg/mL. For the VIDAS® PTH (1-84) assay, the acceptable level of precision corresponds to within-lot precision fixed at 20% CV.

Hook effect

The assay uses a 2-step immunoassay sandwich method. Hook effect can therefore be excluded by design.

Precision

A precision study was performed according to CLSI EP05-A3 recommendations. A panel of human samples representing 6 concentration levels in the measurement interval was analyzed on the VIDAS® instrument to include the following main sources of variability: repeatability, run, day, calibration, and lot.

Repeatability (within-run precision), intermediate precision (total within-lot) and within-laboratory precision (between-lot within-instrument) were estimated for each sample. The values obtained are reported in the following table, as a guide.

Sample	Concentration level (pg/mL)	Repeatability		Intermediate precision		Within-laboratory	
		Standard deviation (pg/mL)	CV (%)	Standard deviation (pg/mL)	CV (%)	Standard deviation (pg/mL)	CV (%)
Sample 1	14.7	0.9	6.0	1.1	7.3	1.2	7.9
Sample 2	46.3	2.8	6.1	3.0	6.5	5.7	12.4
Sample 3	106.7	4.0	3.8	5.1	4.8	5.6	5.2
Sample 4	299.0	10.3	3.4	13.1	4.4	16.2	5.4
Sample 5	590.0	15.3	2.6	25.4	4.3	30.7	5.2
Sample 6	1130.1	42.5	3.8	51.1	4.5	62.4	5.5

These results are an indicator showing the ability to monitor chronic kidney disease patients in the routine mode.

Analytical specificity

The analytical specificity of the VIDAS® PTH (1-84) (PTH) assay was established by testing cross-reactive compounds according to CLSI document EP7-A2 recommendations. Cross-reactivity was evaluated by spiking serum samples with cross-reactive compounds (about 50 pg/mL and about 400 pg/mL of PTH).

The results of this study are reported in the following table.

Tested substance	Tested concentration (pg/mL)	Cross-reactivity %
PTH (7-84)	100 000	0.11%
PTH (1-34)	100 000	0.04%
PTH (13-34)	100 000	0.0004%
PTH (39-68)	100 000	0.0004%
PTH (44-68)	100 000	0.009%
PTH (39-84)	100 000	0.002%
PTH (53-84)	100 000	0.006%
Calcitonin	100 000	0.005%
Osteocalcin	100 000	0.014%
C-telopeptid	100 000	0.023%

Study of drugs and other potentially interfering substances

Potential interference by commonly used drugs and other substances was studied according to CLSI EP7-A2 recommendations. No significant interference was detected up to the maximum concentrations tested.

Tested drug	Maximum concentration	Tested drug	Maximum concentration
Acetaminophen	35 mg/dL	Etidronate	105 mg/dL
Acetylsalicylic acid	65 mg/dL	Ibuprofen	50 mg/dL (242.5 µmol/dL)
Alendronate	8 mg/dL	Lanthanum chloride	40 mg/dL
Alfacalcidol	2.5 µg/mL	Magnesium chloride	40 mg/dL
Aluminum sulfate	40 mg/dL	Pamidronate	18 mg/dL

Tested drug	Maximum concentration	Tested drug	Maximum concentration
Biotin	2 µg/mL	Risedronate	6 mg/dL
Calcitriol	1 ng/mL	Salicylic acid	60 mg/dL
Calcium acetate	40 mg/dL	Vitamin D2	1800 ng/mL
Calcium citrate	40 mg/dL	Vitamin D3	240 ng/mL

Tested substance	Maximum concentration
Bilirubin (unconjugated)	0.3 g/L (510 µmol/L)
Cholesterol	4.21 g/L
Hemoglobin	5 g/L (310 µmol/L)
Human Albumin	60 g/L
Human Anti Mouse Antibodies (HAMA)	2 µg/mL
Lipids (intralipids)	30 g/L
Rheumatoid factor	800 IU/mL

Method comparison

The comparison studies were performed according to CLSI EP09-A3 recommendations.

All the intended populations covering the measuring interval from 4.0 to 1500.0 pg/mL have been tested with VIDAS® PTH (1-84) (PTH) assay. Among the 215 patients enrolled, the following populations were represented:

- Adenoma
- Bone disorder
- Dialysis
- Non parathyroidian hypercalcemia
- Parathyroidectomy
- Renal failure stage 3
- Renal failure stage 4
- Renal failure stage 5
- Renal transplanted
- Apparently healthy population with $20 < \text{Vit D} < 30 \text{ ng/mL}$
- Apparently healthy population with $\text{Vit D} \geq 30 \text{ ng/mL}$

The comparison of the VIDAS® PTH (1-84) assay (Y) with another commercially available PTH (1-84) immunoassay (X) gave the following results:

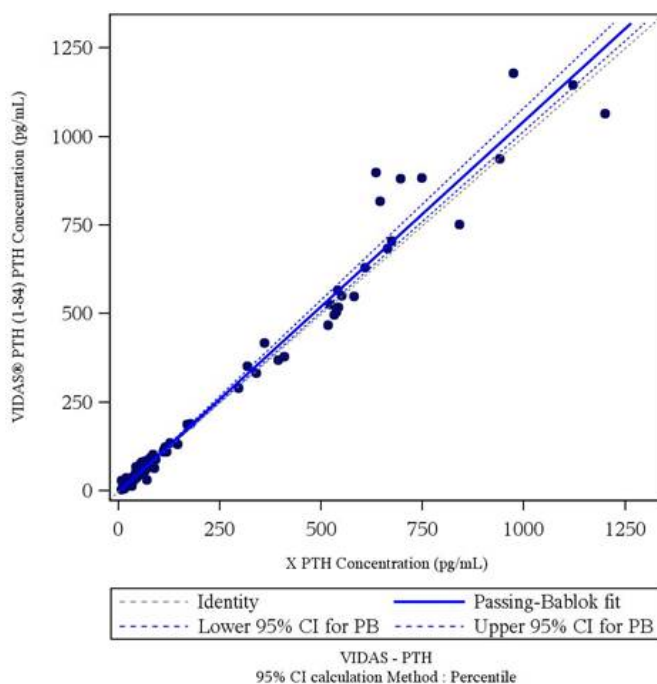
Number of samples tested: 215

Samples tested between 4.1 pg/mL and 1179.4 pg/mL for the VIDAS® PTH (1-84) (PTH) assay.

Samples tested between 6.68 pg/mL and 1200.00 pg/mL for the other commercially available immunoassay.

Equation for Passing-Bablok regression: $Y = 1.0460 X - 2.2489$

Correlation Coefficient: 0.9889



Monitoring performance

A total number of 21 patients were enrolled with 3 different time points. In conclusion a total of 63 samples were collected and tested with VIDAS® PTH (1-84) (PTH) assay (Y) and another commercially available PTH (1-84) immunoassay (X).

According to the KDIGO guidelines, the PTH concentration of the patients treated by dialysis should be maintained within two and nine times the upper normal limit of the assay. For information, the highest reference value established in a clinical study was 44.6 pg/mL, meaning an interval of PTH values between 89.2 and 401.4 pg/mL. Correspondence was defined by a concordant interpretation between both methods.

The global (all subjects and time points mixed) frequency and percent of concordant interpretation between the 2 assays regarding the KDIGO criterion was calculated.

Criteria	% Concordance
Concordant interpretation between the 2 assays regarding the KDIGO criterion	88.89 %

Waste Disposal

Dispose of used or unused reagents, as well as any other contaminated disposable materials, following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced, according to their nature and degree of hazardousness, and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

Literature References

1. Camacho PM *et al.* – American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis - 2016. – *Endocrine Practice* – 2016 September; 22 (Suppl 4): 1-42.
2. Khan AA *et al.* – Primary hyperparathyroidism: review and recommendations on evaluation, diagnosis, and management. A Canadian and international consensus. – *Osteoporos Int.* – 2017; 28: 1-19.
3. Wilhelm SM *et al.* – The American Association of Endocrine Surgeons Guidelines for Definitive Management of Primary Hyperparathyroidism. – *JAMA Surg.* – 2016 Oct; 151 (10): 959-68.
4. Bollerslev J *et al.* – European Society of Endocrinology Clinical Guideline: Treatment of chronic hypoparathyroidism in adults. – *European Journal of Endocrinology* – 2015; 173, G1-20.

5. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). – *Kidney International Supplements* – 2017 July; 7 (1): 1-59.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION, USE OF ANTICOAGULANTS IN DIAGNOSTIC, LABORATORY INVESTIGATIONS, 2002, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Parathyroid Hormone 1-84, human, recombinant (1st International Standard) - WHO_BS_09.2115.

Index of Symbols

Symbol	Meaning
	Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limit
	Use by date
	Batch code
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Date of manufacture

Limited Warranty

bioMérieux warrants the performance of the product for its stated intended use provided that all procedures for usage, storage and handling, shelf life (when applicable), and precautions are strictly followed as detailed in the instructions for use (IFU).

Except as expressly set forth above, bioMérieux hereby disclaims all warranties, including any implied warranties of merchantability and fitness for a particular purpose or use, and disclaims all liability, whether direct, indirect or consequential, for any use of the reagent, software, instrument and disposables (the "System") other than as set forth in the IFU.

Revision History

Change type categories

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user

Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release Date	Part Number	Change Type	Change Summary
2018-10	050049-01	N/A	Not applicable (First publication)

Release Date	Part Number	Change Type	Change Summary
2018-12	050049-02	Correction	PERFORMANCE - Method comparison
2019-11	050049-03	Technical	Content of the Kit (30 tests) / Warnings and Precautions
2022-02	050049-04	Technical change	Materials and Disposables Required but Not Provided

BIOMERIEUX, the BIOMERIEUX logo, SPR and VIDAS are used, pending, and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries or one of its companies.

CLSI is a trademark belonging to Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.

VIDAS[®] PTH (1-84) (PTH)

Paskirtis

VIDAS[®] PTH (1-84) (PTH) yra trečiosios kartos automatizuotas kiekybinis tyrimas, skirtas atlikti su VIDAS[®] grupės instrumentais, siekiant nustatyti biologiškai aktyvaus parathormono PTH (1-84) kiekį žmogaus serume arba plazmoje taikant fermentinio fluorescencijos tyrimo (angl. „Enzyme Linked Fluorescent Assay“ (ELFA)) technologiją.

Naudojamas kartu su kitomis laboratorijos išvadomis ir klinikiniais įvertinimais, šis tyrimas skirtas atlikti kaip:

- Kaip pagalbinė priemonė nustatyti hiperparatiroidizmą arba hipoparatiroidizmą.
- Kaip pagalbinė priemonė stebėti kalcio homeostazės pacientuose, kurie serga lėtinėmis inkstų ligomis.

Santrauka ir paaiškinimas

Parathormonas (PTH) yra pagrindinis kalcio ir fosforo homeostazių hormonas. PTH susidaro prieskydinėse liaukose (daugiausia keturiose, esančiose skydliaukės gale) ir yra išskiriamas kaip 84 amino rūgšties peptidas (1-84 pagal universalią numeravimo tvarką pradedant N galu), kai sumažėja ekstraląstelinė kalcio koncentracija.

PTH pagrindinė funkcija yra palaikyti jonizuoto kalcio kiekį siaurame hiperkalceminio poveikio intervale skatinant kalcio išskyrimą iš kaulų ir inkstų distalinę vamzdinę kalcio reabsorbciją ir didinant 1,25-dihidroksivitamino D-3 (kalcitriolis), kuris skatina žarnyno kalcio absorbciją, gamybą inkstuose.

PTH padidina fosfatų kiekį šlapime ir sumažina fosfatų kiekį serume. PTH skatina kaulų remodeliavimą sutelkdamas osteoblastus, tokiu būdu pagrįsdamas savo naudojimą gydant osteoporozę, kad būtų sumažinta slankstelių lūžių rizika.

PTH išskyrimą sukelia mažos kalcio koncentracijos ir didelės fosfatų koncentracijos; PTH išskyrimą slopina aukštos kalcio koncentracijos ir mažos fosfatų koncentracijos. Išskyrimą taip pat slopina PTH (7-84) fragmentas kalcitriolis ir magnio trūkumas.

Kraujotakoje PTH (1-84) pusperiodis neviršija 4 minučių. Kepenys greitai suardo PTH į ne (1-84) C galo fragmentus, ypač (7-84) ir (53-84), kuriems būdingi ilgi pusperiodžiai, ir inkstai juos pašalina. Šie fragmentai kaupiasi kraujyje, kai sutrinka inkstų veikla.

Dėl prieskydinių liaukų sutrikimų išsivysto hiperparatiroidizmas (pirminis, antrinis arba tretinis) arba hipoparatiroidizmas. Be kaulų trapumo⁽¹⁾ arba gimdos kaklelio uždegimo, susiję simptomai gali būti labai specifiniai, o asimptominis prieskydinių liaukų veiklos sutrikimas gali būti netikėtai nustatytas atlikus įprastą kraujo tyrimą⁽²⁾.

Šis biologinis rinkinys padeda nustatyti, ar paciento prieskydinės liaukos veikia normaliai, ar jam yra išsivystęs hiperparatiroidizmas arba hipoparatiroidizmas, kai aiškinamas atsižvelgiant į kitus biologinius parametrus (pavyzdžiui, kalcis, fosfatas, vitaminas D) ir klininius požymius.

PTH matavimas rodomas, kai nustatoma hiperkalcemijos arba hipokalcemijos diferencinė diagnozė. Jis suteikia galimybę nustatyti pirminį arba antrinį hiperparatiroidizmą⁽³⁾ ir hipoparatiroidizmą⁽⁴⁾ daugiausia po to, kai atliekama prieskydinės liaukos operacija. Šį hormoną taip pat išrašo pacientams, kurie serga lėtinėmis inkstų ligomis, ypač pacientams, kuriems atliekama dializė⁽⁵⁾.

Sutrikus inkstų veiklai, medicininis stebėjimas vykdomas pagal KDOQI („Kidney Disease Outcomes Quality Initiative“) ir KDIGO („Kidney Disease: Improving Global Outcomes“) rekomendacijas.

Jei inkstų veikla nėra sutrikusi, PTH kiekis kraujyje nustatomas, kai sveikatos priežiūros specialistas, pvz., endokrinologas, reumatologas, geriatras, metabolinių ligų specialistas, atlieka įprastus biologinius tyrimus.

Principas

Tyrimo principas pagrįstas 2 etapų imunofermentiniu „sumuštinio“ metodu su galutiniu fluorescencijos aptikimu (ELFA). VIDAS[®] PTH (1-84) yra trečiosios kartos tyrimas pagal PSO tarptautinį standartą dėl rekombinantinio parathormono 1-84, kodas 95/646.

Vienkartinio naudojimo kietosios fazės mėgintuvėlis (SPR) naudojamas kaip kietoji fazė ir kaip lašinimo priemonė. Tyrimo reagentai yra iš karto paruošti naudojimui ir išpilstyti sandariai užklijuotose vienkartinėse reagentų juostelėse.

Instrumentas automatiškai atlieka visas tyrimo procedūras. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR priemonę ir iš jos.

Mėginys yra paimamas ir tada atskiedžiamas tinkamu skiedikliu. Mišinys kelis kartus cirkuliuoja į SPR priemonę ir iš jos. Ši operacija suteikia galimybę PTH susirišti su aptiktais antikūnais, prisitvirtinusiais prie vidinės SPR priemonės sienelės. Neprisijungę komponentai pašalinami atliekant plovimo veiksmus.

Konjugato mišinys kelis kartus cirkuliuoja į SPR priemonę ir iš jos. Ši operacija suteikia galimybę konjugatui susirišti su imuniniu kompleksu, kuris yra prisitvirtinęs prie vidinės SPR priemonės sienelės, ir suformuoti „sumuštinį“. Neprisijungę komponentai pašalinami atliekant plovimo veiksmus.

Paskutinėje nustatymo stadijoje substratas (4-metilumbeliferil fosfatas) cirkuliuoja į SPR priemonę ir iš jos. Konjuguotas fermentas katalizuoja šio substrato hidrolizę iki fluorescuojančio produkto (4-metil-umbeliferono), kurio fluorescencija yra matuojama prie 450 nm ilgio bangos. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas PTH koncentracijai mėginyje.

Tyrimo pabaigoje rezultatai pagal atmintyje išsaugotą kalibravimo kreivę yra automatiškai apskaičiuojami instrumente ir išreiškiami pg/ml. Rezultatus galima išspausdinti.

Rinkinio turinys (30 testų)

30 PTH juostelių ^(a)	STR	Paruošti naudojimui.
30 PTH kietosios fazės mėgintuvėlių 1 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR priemonės vidus yra padengtas pelės monokloniniais anti-PTH imunoglobulinais (specifiniais N galo (1–6) fragmentui).
PTH kalibratorius ^(b) 1 x 4,4 ml (skystas)	S1	Paruošti naudojimui. Buferinis tirpalas, kurio sudėtyje yra rekombinantinio PTH (1-84), gyvūninės kilmės stabilizatoriaus ir konservanto. MLE (pagrindinės partijos įrašas) duomenys nurodo pagal santykinę fluorescencijos vertę (RFV) priimtą intervalą (kalibratoriaus (S1) RFV vertė).
PTH kontrolės medžiaga ^(b) 1 x 2,3 ml (skysta)	C1	Paruošti naudojimui. Buferinis tirpalas, kurio sudėtyje yra rekombinantinio PTH (1-84), gyvūninės kilmės stabilizatoriaus ir konservanto. MLE duomenys nurodo pagal pg/ml priimtą intervalą (kontrolės medžiagos C1 dozės verčių intervalas).
Toliau nurodytos gamyklinių duomenų specifikacijos, reikalingos tyrimui kalibruoti: Dėžutės etiketėje yra išspausdintas MLE brūkšninis kodas.		
1 pakuotės informacinis lapelis, esantis rinkinyje arba kurį galima atsisiųsti iš svetainės www.biomerieux.com .		



(a) PAVOJINGA
P305 + P351 + P338

ĮSPĖJIMAS



EUH208 / H317 / H318 / P261 / P280 / P302 + P352 /



(b) ĮSPĖJIMAS

EUH208 / H317 / P261 / P280 / P302 + P352

Pavojingumo frazės

EUH208: sudėtyje yra 2-metil-2H-izotiazolin-3-ono. Gali sukelti alerginę reakciją.

H317: gali sukelti alerginę odos reakciją.

H318: Smarkiai pažeidžia akis.

Atsargumo frazės

P261: Stengtis neįkvėpti dulkių/dūmų/dujų/rūko/garų/aerolio.

P280: mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P302 + P352: PATEKUS ANT ODO: Nuplauti dideliu kiekiu muilo ir vandens.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

Išsamesnės informacijos žr. saugos duomenų lapę.

SPR priemonė

SPR priemonės vidus gamybos metu buvo padengtas pelės monokloniniais anti-PTH N-ter (1–6) fragmento imunoglobulinais. Kiekviena SPR priemonė identifikuota kodu „PTH“.

Iš maišiuo išimkite tik reikiamą SPR priemonių skaičių ir atidarę atidžiai uždarykite maišiuą.

Reagentų juostelės

Juostelę sudaro 10 šulinėlių, padengtų folija su etikete. Etiketėje yra brūkšninis kodas, kuris nurodo tyrimo kodą, rinkinio partijos numerį ir galiojimo datą. Pirmojo šulinėlio folija yra perforuota, kad būtų galima į ją įpilti bandinį. Paskutinė kiekvienos juostelės duobelė yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Centrinės juostelės sekcijos šulinėliuose yra įvairūs tyrimui reikalingi reagentai.

VIDAS® PTH (1-84) (PTH) juostelių aprašas

Šulinėlis	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis: įlašinkite 300 µl kalibratoriaus, kontrolės medžiagos arba mėginio.
2	Mėginio skiediklis: buferinis tirpalas, gyvūninės kilmės baltymų stabilizatorius, konservantas (300 µl).
3	Tuščias šulinėlis.
4 - 5	Buferių plovimas: buferinis tirpalas ir konservantas (600 µl).
6	Konjugatas: buferinis tirpalas, kurio sudėtyje yra anti-(7-84) PTH antikūnų, gyvūninės kilmės stabilizatoriaus ir konservanto (400 µl).
7 - 8	Buferių plovimas: buferinis tirpalas ir konservantas (600 µl).
9	Tuščias šulinėlis.
10	Kiuvetės su substratu nuskaitymas: 4-metil-umbeliferil fosfatas (0,6 mmol/l) + dietanolaminas (DEA) (0,62 mol/l arba 6,6 %) pH 9,2) + 1 g/l natrio azido (300 µl).

Reikalingos, bet nepateikiamos priemonės ir vienkartinės medžiagos

- Vienkartinė pipetė ir (arba) mikropipetės, skirtos reikiams kiekiams dozuoti.
- Vienkartinės pirštines be talko
- Informaciją apie kitas konkrečias medžiagas ir vienkartinės priemonės žr. instrumento naudotojo vadove.
- VIDAS® šeimos instrumentai.

Išpėjimai ir atsargumo priemonės

- Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai.
- Skirta tik profesionaliam kvalifikuotų laboratorijos darbuotojų naudojimui klinikinėse laboratorijose.
- Šiame rinkinyje nėra žmogaus kilmės produktų.
- Šio rinkinio sudėtyje yra gyvūninės kilmės produktų. Certifikuota informacija apie gyvūnų kilmę ir (arba) sanitarinę būklę negali visiškai garantuoti perduodamų patogeninių sukėlėjų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šiuos produktus laikyti galimai užkrečiamais ir dirbant su jais imtis įprastų atsargumo priemonių (nenuryti, neįkvėpti).
- Visus pacientų mėginius tvarkykite kaip galimai infekcines medžiagas ir laikykitės įprastų saugos reikalavimų.
- Nors PTH (1-84) rekombinantiniai baltymai S1 kalibratoriuje ir C1 kontrolės medžiagoje yra neaktyvūs, vamzdelius tvarkykite kaip galimai infekcinius gaminius.
- Nenaudokite SPR priemonių, jei maišiukas perdurtas arba jei SPR priemonę sandarinantis taškas atsiklijavęs.
- Nenaudokite matomai sugadintų strypelių (pažeista folija ar plastikas).
- Nenaudokite reagentų, pasibaigus jų galiojimo laikui, kuris nurodytas dėžės etiketėje.

- Nemaišykite reagentų (ar vienkartinį medžiagų) iš skirtingų partijų.
- VIDAS® PTH (1-84) tyrimo reagentai skirti naudoti tik su VIDAS® grupės instrumentais.
- Naudokite pirštines be talko, nes yra duomenų, kad talkas iškraipo kai kurių imunofermentinių tyrimų rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švino ar vario santechnika ir gali sudaryti sprogius metalų azidus. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido, patenka į kanalizacijos sistemą, būtina jį nuplauti dideliu vandens kiekiu, kad būtų išvengta šių junginių susikaupimo.
- Skaitykite aukščiau pateiktas pavojaus frazes H ir atsargumo frazes P.
- Išsipykę skysčiai turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenksminus skystu detergentu arba buityje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5 % natrio hipochlorito. Žr. naudotojo vadovą, jei norite sužinoti, kaip valyti ant instrumento išsipyliusius ar į jį patekusius skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą būtina reguliariai valyti ir nukenksminti (žr. naudotojo ir prevencinių techninės priežiūros veiksmų vadovą).

Laikymo sąlygos

- Laikykite VIDAS® PTH (1-84) rinkinį +2 °C / +8 °C temperatūroje.
- **Neužšaldykite reagentų.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite +2 °C / +8 °C temperatūroje.**
- Atidarę rinkinį patikrinkite, ar SPR maišukas yra tinkamai užsandarintas ir nepažeistas. Jei ne, nenaudokite SPR priemonių.
- **Panaudoję kruopščiai uždarykite maišuką su viduje esančiu desikantu, kad būtų išlaikytas SPR priemonių stabilumas, ir grąžinkite visą rinkinį į +2 °C / +8 °C temperatūrą.**
- Jei laikoma rekomenduojamomis sąlygomis, visi komponentai yra stabilūs iki dėžutės etiketėje nurodytos galiojimo datos.

Mėginiai

Mėginio tipas ir ėmimas

Žmogaus serumas arba plazma.

Aprobuoti mėgintuvėlių tipai:

- Plastikinis mėgintuvėlis su krešėjimo aktyvatoriumi
- Plastikinis mėgintuvėlis su krešėjimo aktyvatoriumi ir skiriamuoju geliu
- Plastikinis mėgintuvėlis su ličio heparinu
- Plastikinis EDTA mėgintuvėlis

Rekomenduojama kiekvienai laboratorijai pasitvirtinti naudojamus mėgintuvėlius, nes kai kuriuose yra medžiagų, paveikiančių tyrimų rezultatus.

Pastaba. Įvairių gamintojų kraujo ėmimo mėgintuvėlių rezultatai gali skirtis, atsižvelgiant į naudotas medžiagas ir priedus.

Kiekvienos laboratorijos atsakomybė ratifikuoti naudojamo mėgintuvėlio tipą ir laikytis gamintojų rekomendacijų.

Mėginio paruošimas

Rekomendacijos dėl mėginių paruošimo pateikiamos šiame dokumente WHO/DIL/LAB/99.1. ⁽⁶⁾

Informaciją apie mėgintuvėlių naudojimą žr. mėgintuvėlių gamintojo naudojimo rekomendacijose.

Prieštyriminis etapas, įskaitant kraujo mėginių paruošimą, yra pagrindinis pirmasis žingsnis atliekant medicininę analizę. Pagal gerą laboratorijos praktiką, šį veiksmą laboratorijos vadovas atlieka prisiimdamas visą atsakomybę.

Dėl per trumpo krešėjimo laiko gali susiformuoti fibrino mikrotrombų, nematomų plika akimi. Dėl fibrino, raudonųjų kraujo kūnelių ar susidariusių dalelių, rezultatai gali būti klaidingi.

Mėginiai, turintys suspenduotų fibrino dalelių ar eritrocitų stromų, prieš tyrimą turi būti centrifuguojami.

Prieš centrifuguodami serumo mėginius, įsitikinkite, kad krešėjimas baigėsi. Kai kurie mėginiai, ypač pacientų, gydomų antikoagulantais ar trombolitais, gali krešėti ilgiau.

Mėginio stabilumas

Mėginiai (serumas ir plazma) gali būti laikomi uždarytuose pirminiuose mėgintuvėliuose iki 8 valandų +18 °C / +25 °C temperatūroje arba iki 48 valandų +2 °C / +8 °C temperatūroje. Jei reikia saugoti ilgiau, užšaldykite serumą arba plazmą -19 °C / -31 °C temperatūroje.

Tyrimo, atlikto su 6 mėnesius -19 °C / -31 °C temperatūroje šaldytais mėginiais, rezultatai parodė, jog rezultatų kokybė nebuvo paveikta. Buvo patikrinti trys atšaldymo ir atšildymo ciklai.

Su mėginiu susiję trukdžiai

Nustatyta, kad nė vienas iš toliau nurodytų veiksnių neturėjo įtakos šiam tyrimui:

- hemolizė (po mėginių su hemoglobinu įdėjimo, iki 5 g/l (monomeras)),
- lipemija (po mėginių su lipidais įdėjimo, iki 30 g/l trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po mėginių su bilirubinu įdėjimo, iki 0,3 g/l).

Rekomenduojama nenaudoti hemolizuotų, lipeminių, geltos paveiktų mėginių ir, jei įmanoma, paimti naują mėginį.

Tiriami komponentai pateikti skyriuje **VEIKIMAS. Vaistų ir kitų galimai trukdančių medžiagų tyrimas.**

Naudojimo instrukcijos

Visas instrukcijas galite rasti instrumento naudotojo vadove.

VIDAS® tyrimo protokolo pakeitimo (PTC) duomenų ir MLE duomenų skaitymas

Kai tyrimą naudojate pirmą kartą:

Naudodami išorinį instrumento brūkšninių kodų skaitytuvą, **nuskaitykite brūkšninius kodus (PTC ir MLE) toliau nurodyta tvarka:**

1. Priklausomai nuo naudojamo instrumento, nuskaitykite iš svetainės www.biomerieux.com atsisiųstą (-us) PTC brūkšninį (-ius) kodą (-us). Šis nuskaitymas suteikia galimybę VIDAS® PTC protokolo duomenis perkelti į instrumento programinę įrangą jos atnaujinimui.
2. Nuskaitykite MLE duomenis, esančius ant dėžutės etiketės.

Kai atidarote naują reagentų partiją:

Prieš pradėdami tyrimą, būtina išoriniu instrumento brūkšninių kodų skaitytuvu nuskaityti ant dėžutės etiketės esančius MLE duomenis.

Pastaba. Kalibravimo kreivės duomenis vienai partijai galima įvesti vieną kartą.

Atsižvelgiant į prietaisą, MLE duomenis galima įvesti **rankomis arba automatiškai** (žr. naudotojo vadovą).

Kalibravimas

Kalibratorius yra atsekamas pagal PSO tarptautinį standartą 95/646 dėl PTH (1-84).⁽⁷⁾

Kalibravimas, naudojant rinkinyje pateiktą kalibratorių, turi būti atliekamas kiekvieną kartą, kai atidaromi naujos partijos reagentai ir įvedus MLE duomenis, ir vėliau kas **84 dienas**. Ši operacija pateikia instrumentui specifines kalibravimo kreives ir kompensuoja galimus mažus tyrimo signalo nukrypimus naudojant rinkinį.

Kalibratorius, nurodytas kaip S1, turi būti ištirtas **du kartus** (žr. naudotojo vadovą). Kalibratoriaus vertė turi būti nurodytose santykinės fluorescencijos vertės (RFV) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo naudodami S1.

PERSPĖJIMAS. Tyrimo kalibratorius (S1) ir kontrolės medžiaga (C1) yra paruošti naudoti reagentai, pagaminti iš skysčio, pridėdami aktyvų įtempimo stabilizatorių. Lašindami 300 µL kalibravimo ir kalibravimo kontrolės skysčio įsitikinkite, kad iš pipetės galiuko išlašinsite visą 300 µL tūrį.

Rinkinio kontrolės medžiagos

Viena kontrolės medžiaga pridėta prie kiekvieno VIDAS® PTH (1-84) (PTH) rinkinio. Šią kontrolės medžiagą reikia naudoti iškart atidarius rinkinį, kad reagentų savybės nepakistų.

Kiekvienas kalibravimas taip pat turi būti patikrinamas pagal šią kontrolės medžiagą. Instrumentas kontrolės medžiagos vertę galės patikrinti tik tokiu atveju, jei ji identifikuota kaip C1.

Rezultatai nėra priimtini, jei kontrolės medžiagų vertės nukrypsta nuo tikėtinų verčių.

Pastaba. VIDAS® PTH (1-84) kokybės kontrolė (C1) skirta patvirtinti kalibravimus. Naudotojas yra atsakingas už VIDAS® PTH (1-84) kokybės kontrolės (C1) kaip vidaus kokybės kontrolės atlikimą.

Procedūra

1. **Paimkite rinkinį iš laikymo +2 °C/+8 °C temperatūroje vietos ir išimkite reikiamus reagentus. Kruopščiai sandariai uždarykite SPR maišelį ir padėkite rinkinį +2 °C / +8 °C temperatūroje. Reagentus galima naudoti iškart.**
2. Kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolės medžiagai ir kalibratoriui naudokite vieną PTH juostelę ir vieną PTH SPR priemonę. Įsitikinkite, kad sandariai uždarėte SPR maišiuką, kai iš jo išėmėte reikiamus kietosios fazės mėgintuvėlius.
3. Instrumente tyrimas yra identifikuojamas pagal PTH kodą. Kalibratorius turi būti identifiкуotas kaip S1 ir tiriamas du kartus. Kontrolės medžiaga turi būti identifiкуota kaip C1 ir tiriama vieną kartą.
4. Kalibratoriui, kontrolės medžiagai ir mėginiams (nuo granulių atskirtam serumui arba plazmai) maišyti naudokite sukurinę maišyklę.
5. Norėdami gauti optimalius rezultatus, žr. visas skyriaus **MĖGINIAI** pastraipas.
6. Prieš lašindami pipete įsitikinkite, kad mėginiuose, kalibratoriuje, kontrolės medžiagoje ir skiediklyje nėra burbuliukų.
7. **Atliekant šį tyrimą, kalibratoriaus, kontrolės medžiagos ir mėginio bandinio dozė yra 300 µl.**
8. Į instrumentą įdėkite PTH kietosios fazės mėgintuvėlius ir PTH juosteles. Įsitikinkite, kad ant kietosios fazės mėgintuvėlių ir reagentų juostelių priklijuotos spalvotos etiketės su tyrimo kodu sutampa.
9. Paleiskite tyrimą, kaip nurodyta naudotojo vadove. Visus tyrimo etapus instrumentas atlieka automatiškai.
10. Įlašinę pipete užkimškite flakonus ir padėkite juos reikiamos temperatūros vietoje.
11. Tyrimas bus atliktas maždaug per **24 minutes**. Kai tyrimas bus baigtas, iš instrumento išimkite kietosios fazės mėgintuvėlius (SPR) ir juosteles.
12. Išmeskite panaudotus kietosios fazės mėgintuvėlius (SPR) ir juosteles į tinkamą talpyklą.

Kokybės kontrolė

Papildomą kokybės kontrolę galima atlikti laikantis vietinių taisyklių arba reikalavimų, susijusių su akreditavimu, taip pat laboratorijos kokybės valdymo procedūroje nustatytų reikalavimų.

Pastaba. Naudotojas atsakingas už kokybės kontrolę pagal taikomus vietinius reikalavimus.

Rezultatai ir interpretavimas

Kai tyrimas baigtas, rezultatai analizuojami kompiuteriu automatiškai. Kiekvieno tiriamo mėginio fluorescencija reagentų juostelės matavimo kiuvetėje matuojama du kartus. Pirmasis nuskaitymas yra foninis substrato kiuvetės nuskaitymas prieš SPR priemonės įvedimą į substratą.

Antrasis nuskaitymas vyksta po to, kai substratas buvo inkubuotas su fermentu, pririštu prie SPR priemonės vidaus. Santykinė fluorescencijos vertė (RFV) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiavimai pateikiami rezultatų lape.

Instrumente rezultatai yra apskaičiuojami automatiškai, naudojantis kalibravimo kreivėmis, kurios išsaugomos instrumente (pagal iš anksto apibrėžtą matematinį modelį), ir išreiškiami pg/ml.

Tyrimų rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į pacientės klinikinę istoriją ir kitų tyrimų rezultatus.

Instrumente rodomi VIDAS® PTH (1-84) (PTH) tyrimo rezultatai nuo 4,0 iki 1500,0 pg/ml.

Mėginio skiedimas

Mėginiai su VIDAS® PTH (1-84) koncentracijomis, kurios didesnės nei 1500,0 pg/ml, turi būti dar kartą ištirti po atskiedimo santykiu 1/2 (skiedimo koeficientas = 2) fiziologiniu tirpalu (1 tūris mėginio + 1 tūris fiziologinio tirpalo), kad būtų gautas rezultatas pagal matavimo intervalą.

Skiedimą reikia atlikti rankiniu būdu naudojant VIDAS®, MINI VIDAS® ir VIDAS® 3 instrumentus.

Jeigu skiedimo koeficientas (= 2) buvo įvestas kuriant darbų sąrašą, rezultatas apskaičiuojamas automatiškai. Jeigu skiedimo koeficientas nebuvo įvestas, padauginkite rezultatą iš skiedimo koeficiento, kad gautumėte mėginio koncentraciją.

Metodo apribojimai

- Interferencija gali būti aptinkama su tam tikrais serumais, turinčiais antikūnus prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami įvertinant pacientės klinikinę istoriją ir kitų atliktų tyrimų rezultatus.
- Tiriama komponentai pateikti skyriuje **VEIKIMAS. Vaistų ir kitų galimai trukdančių medžiagų tyrimas.**

- Rezultatai gali neatitikti pacientės klinikinės istorijos dėl netinkamos prietaiso techninės priežiūros (žr. prietaiso naudotojo vadove).

Atskaitos vertės

Šie rezultatai yra pateikiami tik kaip nuoroda. Rekomenduojama kiekvienai laboratorijai individualiai nusistatyti referentines vertes, atsižvelgiant į kruopščiai pasirinktą populiaciją.

Referentinės vertės buvo nustatytos atlikus klinikinį tyrimą, kurio metu buvo naudotas 491 mėginys iš akivaizdžiai sveikų žmonių. Populiacija buvo padalyta į 3 grupes pagal vitamino D kiekį. Buvo nustatyta 95 % kiekvienos grupės referentinių verčių intervalo (arba referentinio intervalo pagal CLSI EP28-A3c rekomendacijas) ir visos akivaizdžiai sveikos populiacijos vertės, kaip aprašyta toliau.

	N	Mediana (pg/ml)	PTH (1-84) referentinis intervalas (pg/ml)	90 % CI* apatinės referentinės ribos (pg/ml)	90 % CI viršutinės referentinės ribos (pg/ml)
Sveika populiacija	491	20,8	9,2 - 44,6	[8,7 ; 9,7]	[42,5 ; 46,7]

Sveika populiacija pagal vitamino D kiekį	N	Mediana (pg/ml)	PTH (1-84) referentinis intervalas (pg/ml)	90 % CI apatinės referentinės ribos (pg/ml)	90 % CI viršutinės referentinės ribos (pg/ml)
Trūkumas ≤ 20 ng/ml	176	21,5	8,9 - 45,3	[8,0 ; 9,9]	[42,1 ; 48,8]
Nepakankamumas > 20 ir < 30 ng/ml	213	20,7	8,8 - 47,8	[7,6 ; 9,9]	[41,6 ; 57,3]
Normalus ≥ 30 ng/ml	102	21,3	9,6 - 47,3	[8,7 ; 10,6]	[41,6 ; 54,1]

* CI: pasiklivimo intervalas.

Pagal KDIGO gaires, pacientams, kuriems atliekama dializė, PTH koncentracija turi būti išlaikoma nuo dviejų iki devynių kartų didesnė nei tyrimo viršutinė normali riba.

Efektyvumas

Tyrimų, atliktų naudojantis VIDAS® PTH (1-84) (PTH) tyrimu, rezultatai pateikti žemiau.

Matavimo diapazonas

Matavimo intervalas (arba analitinis matavimo intervalas pagal CLSI EP36-Ed1 gaires) yra verčių intervalas, atitinkantis priimtinas veikimo ribas (glaudumo ir tiesiškumo).

VIDAS® PTH (1-84) (PTH) tyrimo matavimo intervalas yra nuo 4,0 iki 1500,0 pg/ml.

Linijiskumas

Tiesiškumas įvertintas pagal CLSI EP06-A rekomendacijas. VIDAS® PTH (1-84) tyrimas yra tiesinis tyrimas nuo 4,0 iki 1500,0 pg/ml.

Aptikimo ribos

Tuščio mėginio riba (LoB)	0,8 pg/ml
Aptikimo riba (LoD)	2,2 pg/ml
Kiekybinio įvertinimo riba (LoQ)	4,0 pg/ml

LoB, LoD ir LoQ vertės buvo nustatytos pagal CLSI EP17-A2 rekomendacijas.

Tuščio mėginio riba (LoB) yra koncentracija, kurios nesiekia 95 % mėginių be analizės.

Aptikimo riba (LoD) yra mažiausia analizės koncentracija mėginyje, kurį galima atskirti nuo mėginio be analizės esant 95 % tikimybei (stebimas rezultatas yra didesnis nei LoB esant 95 % tikimybei).

Kiekybinio įvertinimo riba (LoQ) yra mažiausia analizės koncentracija, kurią galima aptikti ir kiekybiškai įvertinti esant priimtinam rezultatų glaudumo lygiui. Rezultatai, kuriuose vertės yra mažesnės nei 4,0 pg/ml, yra atspausdinami. $\leq 4,0$ pg/ml. VIDAS® PTH (1-84) tyrimo priimtinas rezultatų glaudumo lygis atitinka partijos rezultatų glaudumą, kuris nustatytas ties 20 % CV.

Kablio efektas

Tyrimui atlikti naudojamas 2 etapų imunologinio tyrimo „sumuštinio“ metodas. Todėl kablo efektą galima sąmoningai pašalinti.

Preciziškumas

Glaudumo tyrimas buvo atliekamas pagal CLSI EP05-A3 rekomendacijas. Atrinkti 6 koncentracijų (matavimo intervale) žmogaus mėginiai buvo analizuojami VIDAS® instrumentu, siekiant įtraukti nurodytus pagrindinius kintamumo šaltinius: pakartojamumą, tyrimą, dieną, kalibravimą ir partiją.

Apskaičiuotas kiekvieno mėginio pakartojamumas (tyrimo vykdymo rezultatų glaudumas), tarpinis glaudumas (bendras partijos rezultatų glaudumas) ir laboratorijos rezultatų glaudumas (skirtingų partijų, bet to paties instrumento rezultatų glaudumas). Šį tyrimą atliekant gautos vertės toliau pateiktoje lentelėje pateikiamos kaip gairės.

Mėginys	Koncentracijos lygis (pg/ml)	Atkartojamumas		Tarpinis glaudumas		Laboratorijoje	
		Standartinis nuokrypis (pg/ml)	VK, %	Standartinis nuokrypis (pg/ml)	VK, %	Standartinis nuokrypis (pg/ml)	VK, %
1 mėginys	14,7	0,9	6,0	1,1	7,3	1,2	7,9
2 mėginys	46,3	2,8	6,1	3,0	6,5	5,7	12,4
3 mėginys	106,7	4,0	3,8	5,1	4,8	5,6	5,2
4 mėginys	299,0	10,3	3,4	13,1	4,4	16,2	5,4
5 mėginys	590,0	15,3	2,6	25,4	4,3	30,7	5,2
6 mėginys	1130,1	42,5	3,8	51,1	4,5	62,4	5,5

Šie rezultatai yra rodiklis, nurodant, kokia yra galimybė stebėti pacientus, sergančius lėtinėmis inkstų ligomis, įprastu režimu.

Analitinis specifiškumas

VIDAS® PTH (1-84) (PTH) tyrimo analitinis specifiškumas buvo nustatytas tiriant kryžminio reaktyvumo junginius pagal CLSI dokumento EP7-A2 rekomendacijas. Kryžminis reaktyvumas buvo vertinamas į serumo mėginius įdėjus kryžminio reaktyvumo junginių (apie 50 pg/ml ir apie 400 pg/ml PTH).

Šio tyrimo rezultatai pateikiami tolesnėje lentelėje.

Ištirta medžiaga	Tirta koncentracija (pg/ml)	Kryžminis reaktyvumas %
PTH (7-84)	100 000	0,11%
PTH (1-34)	100 000	0,04%
PTH (13-34)	100 000	0,0004%
PTH (39-68)	100 000	0,0004%
PTH (44-68)	100 000	0,009%
PTH (39-84)	100 000	0,002%
PTH (53-84)	100 000	0,006%
Kalcitoninas	100 000	0,005%
Osteokalcinas	100 000	0,014%
C galo telopeptidas	100 000	0,023%

Vaistų ir kitų galimai trukdančių medžiagų tyrimas

Galimos įprastai vartojamų vaistų ir kitų medžiagų interferencijos buvo ištirtos pagal CLSI EP7-A2 rekomendacijas. Iki ištirtų didžiausių koncentracijų nenustatyta reikšmingų trukdžių.

Tirtas vaistas	Didžiausia koncentracija	Tirtas vaistas	Didžiausia koncentracija
Acetaminofenas	35 mg/dl	Etidronatas	105 mg/dl
Acetilsalicilo rūgštis	65 mg/dl	Ibuprofenas	50 mg/dl (242,5 μmol/dl)

Tirtas vaistas	Didžiausia koncentracija	Tirtas vaistas	Didžiausia koncentracija
Alendronatas	8 mg/dl	Lantano chloridas	40 mg/dl
Alfakalcidolis	2,5 µg/ml	Magnio chloridas	40 mg/dl
Aluminio sulfatas	40 mg/dl	Pamidronatas	18 mg/dl
Biotinas	2 µg/ml	Rizedronatas	6 mg/dl
Kalcitriolis	1 ng/ml	Salicilo rūgštis	60 mg/dl
Kalcio acetatas	40 mg/dl	Vitaminas D2	1800 ng/ml
Kalcio citratas	40 mg/dl	Vitaminas D3	240 ng/ml

Ištirta medžiaga	Didžiausia koncentracija
Bilirubinas (nekonjuguotas)	0,3 g/l (510 µmol/l)
Cholesterolis	4,21 g/l
Hemoglobinas	5 g/l (310 µmol/l)
Žmogaus albuminas	60 g/l
Žmogaus anti-pelės antikūnai (HAMA)	2 µg/ml
Lipidai (intralipidai)	30 g/l
Reumatoidinis faktorius	800 IU/ml

Metodų palyginimas

Lyginamieji tyrimai buvo atliekami pagal CLSI EP09-A3 rekomendacijas.

Visos numatytos populiacijos matavimo intervale nuo 4,0 iki 1500,0 pg/ml buvo ištirtos naudojant VIDAS® PTH (1-84) (PTH) tyrimą. Iš 215 pacientų buvo gautos žemiau nurodytos populiacijos:

- Adenoma
- Kaulų ligos
- Dializė
- Neparatiroidinė hiperkalcemija
- Paratiroidektomija
- 3 stadijos inkstų nepakankamumas
- 4 stadijos inkstų nepakankamumas
- 5 stadijos inkstų nepakankamumas
- Inkstų transplantacija
- Akivaizdžiai sveikų asmenų populiacija su $20 < \text{vit. D} < 30 \text{ ng/ml}$
- Akivaizdžiai sveikų asmenų populiacija su $\text{vit. D} \geq 30 \text{ ng/ml}$

VIDAS® PTH (1-84) tyrimą (Y) palyginus su kitu komerciniu PTH (1-84) imunologiniu tyrimu (X) gauti toliau pateikti rezultatai.

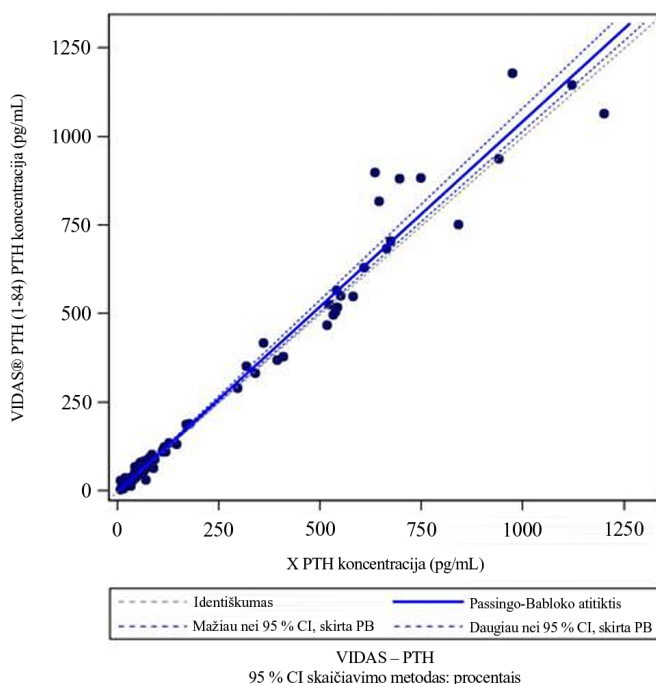
Tirtų mėginių skaičius: 215

Mėginiai nuo 4,1 pg/ml iki 1179,4 pg/ml ištirti naudojant VIDAS® PTH (1-84) (PTH) tyrimą.

Mėginiai nuo 6,68 pg/ml iki 1200,0 pg/ml ištirti naudojant kitus komercinius imunologinius tyrimus.

„Passing-Bablok“ regresijos lygtis: $Y = 1,0460 X - 2,2489$

Koreliacijos koeficientas: 0,9889



Veikimo stebėjimas

Trimis skirtingais laikais iš viso buvo tiriamas 21 pacientas. Iš viso buvo paimti 63 mėginiai, kurie buvo ištirti naudojant VIDAS® PTH (1-84) (PTH) tyrimą ir kitą komercinį PTH (1-84) imunologinį tyrimą (X).

Pagal KDIGO gaires, pacientams, kuriems atliekama dializė, PTH koncentracija turi būti išlaikoma nuo dviejų iki devynių kartų didesnė nei tyrimo viršutinė normali riba. Klinikinio tyrimo metu nustatyta didžiausia referentinė vertė buvo 44,6 pg/ml, kuri reiškia PTH verčių intervalą nuo 89,2 iki 401,4 pg/ml. Atitikimas buvo nustatytas atlikus dviejų metodų atitikimo interpretaciją.

Pagal KDIGO kriterijų buvo apskaičiuotas visuotinis (visų subjektų ir laikų) 2 tyrimų atitikimo interpretacijos dažnis ir procentas.

Kriterijai	% atitikimas
2 tyrimų atitikimo interpretacija pagal KDIGO kriterijų	88,89 %

Atliekų šalinimas

Utilizuokite panaudotus ar nepanaudotus reagentus ir kitas išmetamas medžiagas vykdydami infekcinių ar potencialiai infekcinių produktų utilizavimo procedūras.

Tai yra kiekvienos laboratorijos atsakomybė elgtis su atliekomis ar nutekamaisiais vandenimis, susidariusiais dėl jų prigimties ir pavojingumo laipsnio bei vertinti juos ir elgtis su jais (ar vertinti juos ir elgtis su jais su jais praeityje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

Literatūros nuorodos

1. Camacho PM *et al.* – American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis - 2016. – *Endocrine Practice* – 2016 September; 22 (Suppl 4): 1-42.
2. Khan AA *et al.* – Primary hyperparathyroidism: review and recommendations on evaluation, diagnosis, and management. A Canadian and international consensus. – *Osteoporos Int.* – 2017; 28: 1-19.
3. Wilhelm SM *et al.* – The American Association of Endocrine Surgeons Guidelines for Definitive Management of Primary Hyperparathyroidism. – *JAMA Surg.* – 2016 Oct; 151 (10): 959-68.
4. Bollerslev J *et al.* – European Society of Endocrinology Clinical Guideline: Treatment of chronic hypoparathyroidism in adults. – *European Journal of Endocrinology* – 2015; 173, G1-20.

5. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). – *Kidney International Supplements* – 2017 July; 7 (1): 1-59.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION, USE OF ANTICOAGULANTS IN DIAGNOSTIC, LABORATORY INVESTIGATIONS, 2002, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION, Parathyroid Hormone 1-84, human, recombinant (1st International Standard) - WHO_BS_09.2115.

Simbolių lentelė

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	In Vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

Ribotoji garantija

„bioMérieux“ garantuoja, kad gaminyje veiks pagal nurodytą naudojimo paskirtį, jei bus griežtai laikomasi visų naudojimo, laikymo ir tvarkymo procedūrų bei atsižvelgiama į eksploataavimo trukmę (jei taikoma) ir atsargumo priemones, išdėstytas naudojimo instrukcijose.

Išskyrus pirmiau aiškiai išreikštą garantiją, „bioMérieux“ šiuo dokumentu atsisako visų garantijų, įskaitant bet kokias numanomas perkamumo arba tinkamumo konkrečiam tikslui ar naudojimo paskirčiai garantijas, ir atsisako tiek tiesioginės, tiek netiesioginės, tiek šalutinės atsakomybės už reagentų, programinės įrangos, instrumentų ir vienkartinį medžiagų („sistema“) naudojimą naudojimo instrukcijose nenurodytais tikslais.

Peržiūrų istorijos lentelė

Pakeitimo tipo kategorijos

Net.	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Pataisymas	Dokumentų klaidų pataisymas
Techninis pakeitimas	Su produktu susijusios informacijos papildymas, pakeitimas ir (arba) pašalinimas
Administracinis reikalavimas	Naudotojui pastebimų netechninių pakeitimų atlikimas

Pastaba. Nedideli tipografiniai, gramatikos ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukti į laidos istoriją.

Leidimo data	Dalies numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2018-10	050049-01	Net.	Netaikoma (pirmoji publikacija)
2018-12	050049-02	Korekcijos	VEIKSMINGUMAS – metodų palyginimas
2019-11	050049-03	Techninis pakeitimas	Rinkinio turinys (30 testų) / Įspėjimai ir atsargumo priemonės
2022-02	050049-04	Techninis pakeitimas	Reikalingos, bet nepateikiamos priemonės ir vienkartinės medžiagos

BIOMERIEUX, BIOMERIEUX logotipas, SPR ir VIDAS yra naudojami, laukiantys registracijos ir (arba) registruotieji bioMérieux arba vienam iš filialų ar vienai iš įmonių priklausančios prekės ženklai.

CLSI yra „Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.“ priklausantis prekės ženklas.

Bet kuris kitas pavadinimas ar prekybinis ženklas yra atitinkamo turėtojo nuosavybė.