

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:		
<ul style="list-style-type: none"> • 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	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	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[®] 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 asimptomatiškai, 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 antgalių (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 identifiukuotas 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 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: šarminė fosfataze žymėtas imuninis kompleksas (toksoplazmos antigenas RH Sabin štam, išauginta pelėse (12) - pelės monokloniniai anti-P30 antikūnai) + 0.9 g/l natrio azido + 0.02% gentamicino (400 μl).
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 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 antgalio dozuoti 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 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 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 nukenkšminus 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 nukenkšminti (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 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 "TXM" reagentų strypelį ir vieną "TXM" SPR antgalį kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolei ir kalibratoriui. **Įsitinkite, 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% pasiklovimo 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. Abejotinių rezultatų nebuvo aptikta.

Santykinis nėščių moterų, kurios turėjo kontaktą su toksoplazmoze nėštumo metu jautrumas yra **96.00%** (95% pasiklovimo 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, 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. 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
	Snaudoti iki
	Partijos kodas
	Dėl naudojimo žiūrėkite instrukcijas
	Turinys 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:	<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 LENTELE
		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.



 **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)

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:		
<ul style="list-style-type: none"> • 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).
- | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ol style="list-style-type: none"> 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. KOBUCH. Toxoplasmosis in pregnancy. The Lancet, 1994, 344, 950.
4. B. CARME, V. TIRARD-FLEURY. La toxoplasme 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 asimptominis, 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.

Šarminė 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 pasiklovimo 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 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 membraniniu ir citoplazminiu Toxoplasma antigenu. Kiekvienas SPR yra identifikuotas TXG 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.

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: šarminė 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 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.
- 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 (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Išsipyliusius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nuklenksminus 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 nuklenksminti (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 ≤ 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 paskutiniiais 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 imunofermenčiais 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 prieštarigų 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 iširtas naudojantis referentiniu metodu dėl nepakankamo mėginio kiekio.

Jungtiniai rezultatai ištyrus prieštarigus 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.

TIKĖTINŲ 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 praityje) 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. KOBUCH. 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 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	09065I	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELE
		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[®] 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-Methylumbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methylumbelliferone), 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:		
<ul style="list-style-type: none"> • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or <ul style="list-style-type: none"> • 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		Interpretation
Short protocol	Long protocol	
$i < 0.13$	$i < 0.10$	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 hazardfulness 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., 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. 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 AJ., 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
	<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 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)

IVD

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 (Imunofermeninis 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 – surišto 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 vakcinacijos 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 Imunofermeninis fluorescencinis (ELFA) metodas, kuris atliekamas automatizuota VIDAS sistema (žiūrėkite Naudotojo Instrukciją). Šis tyrimas gali būti atliekamas pagal 2 protokolus: HBL ilgas protokolus (90 minučių), HBS trumpas protokolus (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:		
<ul style="list-style-type: none"> • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. 		
ar		
<ul style="list-style-type: none"> • 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 antigeniui, 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 **krupščiai 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).
- **Mėginių 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.
- 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.
- 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 serumą (paprasti mėgintuvėliai, mėgintuvėliai su atskiriamuoju geliu, paprasti mėgintuvėliai su rutuliukais) ar plazmą surinktą su ličio heparinu.

Serumas ir plazma turi būti saugojami atskirti nuo krešulio. Mėginiai, turintys nešvarumų, turi būti valomi centrifuguojant.

Gauti rezultatai rodė, 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 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** (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 identifiktuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiktuota kaip "C1". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifiktuota 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 gražinkite 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 sekant:

$$i = \text{tyrimo vertė} = \text{paciento RFV} / \text{standarto RFV}$$
 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% pasiklovimo 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% pasiklovimo 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% pasiklovimo 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 iširti, 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 iširti, 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 panielių 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 panielių vienas mėginys anksčiau, 1 panylyje du mėginiai anksčiau). Viename panylyje viename mėginyje HBs Ag aptiktas vėliau.

Su ilgu protokolu, 14 kartų iš 32 tirtų panielių buvo aptinkamas anksčiau nei su palyginamuoju metodu (9 panielių vienas mėginys anksčiau, 5 panielių du mėginiai anksčiau).

7. HBs Ag mutantų jautrumas

Buvo sėkmingai iširtas 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	N	Trumpas protokolas		Ilgas protokolas	
		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	N	Trumpas protokolas		Ilgas protokolas	
		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 imunofermenčiu 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. 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 AJ., 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-BRULÉ 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 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:	<i>Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formataavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.</i>

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	11728I	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELE
		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 priklausantys prekių ženklai.

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

VIDAS[®] HCG (HCG)

IVD

VIDAS HCG is an automated quantitative test for use on the VIDAS family instruments, for the quantitative measurement of human Chorionic Gonadotropin in human serum or plasma (lithium heparin or EDTA) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Human Chorionic Gonadotropin (hCG) is a glycoprotein with a molecular weight of 40,000 daltons. Two polypeptide subunits, alpha and beta, form hCG. Approximately 30% of the weight of hCG is comprised of glycans (hexoses, sialic acid). Structurally, hCG is similar to the three pituitary hormones LH, FSH and TSH. The alpha subunit (92 amino acids), is practically identical for these four hormones. The beta subunit, composed of 145 amino acids and 5 oligosaccharide groups, contains a unique amino acid sequence which gives biological and immunological specificity to hCG. (1, 2). However, only the alpha-beta dimer is biologically active. (3, 4, 5, 6).

hCG is mainly biosynthesized by the placental syncytiotrophoblast. The level of serum hCG will steadily increase and peak during the first three months of pregnancy. The level then decreases until the 16th week of pregnancy when it stabilizes until pregnancy term. The physiologic function of hCG in pregnancy is to maintain the gestational yellow body and to foster progesterone and estrogen production during the first three months of pregnancy. hCG also plays a role in the differentiation of the fetal genital tract. Assaying for hCG is an essential element in the diagnosis and follow-up of pregnancy (ectopic pregnancy, hydatidiform mole, etc.) (7, 8).

hCG can also be produced by certain tumor tissues, mainly those of trophoblastic origin (choriocarcinoma, etc.). In this context, hCG represents a biological marker of considerable clinical significance, both for prognosis and therapeutic monitoring. (9).

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 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.

Firstly, the sample is taken and transferred into the well containing alkaline-phosphatase labeled anti-hCG antibody. The sample/conjugate mixture is cycled in and out of the SPR several times to increase the reaction speed. The antigen binds to antibodies coated on the SPR and to the conjugate forming a "sandwich".

Then, the remaining free hCG sites are saturated by cycling the conjugate in the fifth well of the strip in and out 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 antigen 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) – RECONSTITUTION OF REAGENTS:

60 HCG strips	STR	Ready-to-use.
60 HCG SPRs 2 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with monoclonal anti-HCG immunoglobulins (mouse).
HCG control 1 x 2 ml (lyophilized)	C1	Reconstitute with 2 ml of distilled water. Wait for 5 to 10 minutes. Mix. Stable after reconstitution for 14 days at 2-8°C or until the expiration date on the kit at -25 ± 6°C. 5 freeze/thaw cycles are possible. Human serum* + human hCG + preservatives. MLE data indicate the confidence interval in "mIU/ml" (milli-international units per milliliter) ("Control C1 Dose Value Range").
HCG calibrator 2 x 2 ml (lyophilized)	S1	Reconstitute with 2 ml of distilled water. Wait for 5 to 10 minutes. Mix. Stable after reconstitution for 14 days at 2-8°C or until the expiration date on the kit at -25 ± 6°C. 5 freeze/thaw cycles are possible. Calf serum + human hCG + preservatives. MLE data indicate the concentration in mIU/mL ("Calibrator (S1) Dose Value") and the confidence interval in "Relative Fluorescence Value ("Calibrator (S1) RFV Range").
HCG diluent 2 x 25 ml (liquid)	R1	Ready-to-use. Calf serum + 1 g/l sodium azide.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test:		
<ul style="list-style-type: none"> • 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-hCG immunoglobulins (mouse). Each SPR is identified by the HCG 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 HCG strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2 - 3 - 4	Empty wells.
5	Conjugate: Alkaline phosphatase-labeled monoclonal anti-hCG immunoglobulins (mouse) + 1 g/l sodium azide (600 µl).
6 - 7	Wash buffer: Sodium phosphate (0.01 mol/l) pH 7.4 + 1 g/l sodium azide (600 µl).
8	Wash buffer: diethanolamine DEA* (1.1 mol/l or 11.5%) pH 9.8 + 1 g/l sodium azide (600 µl).
9	Empty well.
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 2 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 wash buffer in well 8 contains a harmful agent (11.5% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- Due to the extremely high concentrations of hCG found in certain samples, it is recommended that the utmost care be taken when pipetting or handling samples, in order to avoid contamination.
- 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 HCG kit at 2-8°C.
- **Do not freeze the SPRs, strips and diluent.**
- **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:

Serum ou plasma (lithium heparin or EDTA).

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

- hemolysis (after spiking samples with hemoglobin (monomer): 0 to 300 µmol/l),
- lipemia (after spiking samples with lipids: 0 to 2 g/l equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: 0 to 513 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 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.

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 "HCG" strip and one "HCG" 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 "HCG" code on the instrument. The calibrator must be identified by "S1", and tested in **duplicate**. If the control is to be tested, it should be identified by "C1".
4. Mix the 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 "HCG" SPRs and "HCG" 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 30 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) and the concentrations are expressed in mIU/ml (1st IRP 75/537). Samples with hCG concentrations greater than 1,500 mIU/ml should be reassayed after diluting by 1/20 or 1/200 with the HCG diluent (R1).

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

QUALITY CONTROL

A control is included in each VIDAS[®] HCG 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

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

LIMITATIONS OF THE METHOD

- This kit has not been validated within the context of Down syndrome screening.
- Low concentrations of hCG may indicate pregnancy, however, the hCG values obtained should be used for diagnosis in association with additional information obtained by the physician (questions, symptoms, clinical observations, other examinations, etc.).
- Since hCG levels in serum increase rapidly during the initial stages of pregnancy, the result can be confirmed by a second assay on a sample collected 48 hours later.
- Certain malignant pathologies, notably disorders of trophoblastic origin and germinal tumors produce similar levels of hCG to those observed in pregnancy. It is therefore recommended to refer to medical information. Likewise, recent injections of hCG used in therapeutic procedures can generate high concentrations.
- Positive results with VIDAS HCG have been reported in patients treated with retinoic acid derivatives, in particular isotretinoin. In this case, results should be confirmed using another sample, or another technique.
- 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 a clinically healthy population with no tumoral pathologies, the following values were found :

- men: < 3 mIU/ml
- cyclic women: < 4 mIU/ml
- menopausal women: < 13 mIU/ml
- pregnant women:

Week of amenorrhoea	Mean (mIU/ml)	Limits (mIU/ml)
4 - 5	7 400	1 500 - 23 000
5 - 6	32 800	3 400 - 135 300
6 - 7	52 000	10 500 - 161 000
7 - 8	74 000	18 000 - 209 000
8 - 9	100 000	37 500 - 219 000
9 - 10	105 000	42 800 - 218 000
10 - 11	96 000	33 700 - 218 700
11 - 12	75 300	21 800 - 193 200
12 - 13	66 700	20 300 - 166 100
13 - 14	65 900	15 400 - 190 000
2 nd trimester (14-26)	26 150	2 800 - 176 100
3 rd trimester (26-39)	27 200	2 800 - 144 400

These figures are given as a guide; it is recommended that each laboratory establishes its own reference values from a rigorously selected population.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS HCG gave the following results:

Measurement range

The measurement range of the VIDAS HCG kit is: 2-1500 mIU/ml.

Detection limit

Defined as the smallest concentration of hCG which is significantly different from the zero concentration with a probability of 95% : ≤ 2 mIU/ml.

Hook effect

The hook effect was tested using hCG concentrations up to 1 000 000 mIU/ml. No hook effect was found at the tested concentrations.

Precision

Within-run reproducibility:

Five samples were tested 30 times in the same run.

Sample	1	2	3	4	5
Mean concentration (mIU/ml)	16.6	71.8	257.0	334.0	1211.0
CV %	6.8	4.3	4.6	4.8	5.4

Between-run reproducibility

Five samples were tested singly in 24 different runs over a 9-week period.

Sample	1	2	3	4	5
Mean concentration (mIU/ml)	17.4	71.7	253.0	334.0	1152.0
CV %	8.7	5.1	4.3	4.8	5.0

Specificity

The percentage of cross-reactivity is determined by calculating the ratio of the tested compound concentration over the hCG concentration, for a signal of 1,000 RFV. The results obtained are the following :

Tested compound	cross-reactivity (%)
hCG	100
hCG β - subunit	2.3
hCG α - subunit	0.3
LH	0.1
FSH	0.1
TSH	0.07

Another study performed by addition of 10,000 mIU/ml of LH or 12,500 mIU/ml of FSH to a sample containing 1,356 mIU/ml of hCG did not show any interference.

Accuracy

Dilution test

Three samples were diluted in the HCG diluent (R1) and tested singly in three runs. The ratio of the mean concentration measured over the expected concentration is expressed as a mean recovery percentage.

Sample	Dilution factor	Expected concentration (mIU/ml)	Mean measured concentration (mIU/ml)	Mean recovery percentage
1	1/1	168.19	168.19	100.0
	1/2	84.09	77.44	92.1
	1/4	42.05	36.61	87.1
	1/8	21.02	19.00	90.4
	1/16	10.51	8.30	79.0
	1/32	5.26	4.25	80.8
2	1/1	564.56	564.56	100.0
	1/2	282.28	327.42	116.0
	1/4	141.14	130.12	92.2
	1/8	70.57	64.62	91.6
	1/16	35.29	29.91	84.8
	1/32	17.64	14.33	81.2
3	1/1	1251.04	1251.04	100.0
	1/2	625.52	656.25	104.9
	1/4	312.76	322.58	103.1
	1/8	156.38	165.99	106.1
	1/16	78.19	74.96	95.9
	1/32	39.09	34.51	88.3

Comparison with other test methods

73 serum samples were assayed in parallel using VIDAS HCG and another commercially available kit. The allometric curve equation obtained is the following:
 $Y = 0.95 X - 18$ with a correlation coefficient of 0.99.

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. PIERCE J.G. et al., "Glycoprotein hormones: structure and function". Ann.Rev.Biochem., 1981, 50, 465-495.
2. RUFFIE A., RUEDAS E., HCG et sous-unités : intérêt clinique. Contracept. Fertil. Sex., 1995, 23, 2, 97-100.
3. NORMAN R.J. et al., "Measurement of human chorionic gonadotrophin (hCG): indications and techniques for the clinical laboratory". Ann.Clin.Biochem., 1990, 27, 183-194.
4. ODELL W.D. et al., " Pulsatile secretion of chorionic gonadotropin during the normal menstrual cycle". J.Clin.Endocrinol.Met., 1989, 69, 528-532.
5. OZTURK M et al., "Physiological studies of human chorionic gonadotropin (hCG), α hCG, and β hCG as measured by specific monoclonal immunoradiometric assays". Endocrinol., 1987, 120, 549-558.
6. WASS M. et al., "Human Chorionic gonadotrophin". In Hormones in Blood, Academic Press, 3rd Edition, 1983, 179-193.
7. SCHOLLER R. et al., "Surveillance hormonale de la grossesse". Encycl., Med.,Chir; Paris, Obstétrique, 5015 A 10, 11-1180.
8. SCHOLLER R. et al., "Colloque sur les actualités en immunoanalyse", 1987, 225-233, Bordeaux 2-4 Décembre, 1987.
9. FEINSTEIN M.C. et al., "hCG et ses sous-unités comme marqueurs tumoraux". J.Steroid. Biochem, 1989, 33, 771-775.

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	06038P	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	06038Q	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS INSTRUCTIONS FOR USE

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[®] HCG (HCG)

IVD

VIDAS HCG yra automatizuotas tyrimas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais kiekybiškai nustatyti žmogaus choriono gonadotropiną žmogaus serume arba plazmoje (ličio heparino ar EDTA) ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) metodu.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Žmogaus chorioninis gonadotropinas (hCG) yra glikoproteinas su 40,000 daltonų molekuline mase. Du polipeptidiniai subvienetai, alfa ir beta, suformuoja hCG. Apie 30% hCG svorio yra glikanai (heksozės, sialinės rūgštys). Struktūriškai, hCG yra panašus į tris hipofizio hormonus LH, FSH ir TSH. Alfa subvienetas (92 amino rūgštys), yra beveik identiškas visuose keturiuose hormonuose. Beta subvienetas, sudarytas iš 145 amino rūgščių ir 5 oligosacharido grupių, turi unikalią amino rūgšties grandinę, kuri suteikia biologinį ir imunologinį hCG specifiškumą. (1, 2). Tačiau, alfa – beta dimeras yra biologiškai aktyvus (3, 4, 5, 6).

hCG daugiausia yra sintetinamas placentos sincitiotrofoblaste. Serume esančio hCG lygis pastoviai didės ir pasieks aukščiausią tašką per tris nėštumo mėnesius. Tada lygis mažės iki 16 – os nėštumo savaitės ir stabilizuosis iki nėštumo pabaigos. HCG fiziologinė funkcija nėštumo metu yra išlaikyti gestacinius geltonuosius kūnelius ir skatinti progesterono ir estrogeno gaminimą per tris pirmuosius nėštumo mėnesius. hCG taip pat diferencijuoja vaisiaus genitalinę sistemą. hCG tyrimas yra svarbus elementas diagnozuojant nėštumą ir jo tęstinumą (negimdinis nėštumas, *mola hydatidiforma*, ir t.t.) (7, 8).

hCG gali būti gaminamas tam tikruose navikiniuose audiniuose, ypač trofoblastinės kilmės (choriokarcinoma,...). Šiame kontekste hCG yra svarbus klinikinės reikšmės žymuo dėl prognozių ir terapinio monitoringo (9).

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas vieno etapo imunofermentiniu sumuštinio metodu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgali (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.

Pirmiausia, mėginys yra pernešamas į šulinėlį, turintį šarmine fosfataze žymėtą anti-hCG antikūną. Mėginio/konjugato mišinys kelis kartus cirkuliuoja į SPR antgalį ir iš jo tam, kad padidinti reakcijos greitį. Antigenas susiriša su antikūnais, padengtais ant SPR antgalio ir konjugatu, sudarydamas "sumuštinį".

Tada, likusios laisvos hCG vietos yra saturuojamos cirkuliuojant konjugatą į penktąjį strypelio šulinėlį, į iš SPR antgalio. Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo metu.

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

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS:

60 HCG strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 HCG SPR antgalių 2 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta monokloniniais anti-HCG imunoglobulinais (pelės).
HCG kontrolė 1 x 2 ml (liofilizuota)	C1	Praskieskite su 2 ml distiliuoto vandens. Palaukite nuo 5 iki 10 minučių. Sumaišykite. Po praskiedimo stabili 14 dienų priet 2-8°C arba iki galiojimo datos pabaigos prie -25 ± 6°C. Leidžiami 5 užšaldymo/atšildymo ciklai. Žmogaus serumas* + žmogaus hCG + konservantai. MLE duomenys nurodo pasiklivimo intervalą "mIU/mL" vienetais (mikro-tarptautiniai vienetai mililitre) ("Control C1 Dose Value Range").
HCG kalibratorius 2 x 2 ml (liofilizuotas)	S1	Praskieskite su 2 ml of distiliuoto vandens. Palaukite nuo 5 iki 10 minučių. Sumaišykite. Po praskiesimo stabilus 14 dienų prie 2-8°C temperatūros ar iki galiojimo laiko pabaigos prie - 25 ± 6°C. Leidžiami 5 užšaldymo-atšildymo ciklai. Jaučio serumas + žmogaus hCG + konservantai. MLE duomenys nurodo koncentraciją mIU/mL vienetais ("Calibrator (S1) Dose Value") ir pasiklivimo intervalą „Relative Fluorescence Value (RFV)" ("Calibrator (S1) RFV Range").
HCG skiediklis 2 x 25 ml (skystas)	R1	Paruoštas naudojimui. Jaučio serumas + 1 g/l natrio azidas.
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 procese jo vidinis paviršius buvo padengtas anti-hCG imunoglobulinais (pelės). Kiekvienas SPR yra identifikuotas HCG kodu. Iš pakuotės išimkite tik reikiamą SPR kiekį ir **atidare ją kruopščiai sandariai uždarykite**.

Strypeliai

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.

HCG strypelio aprašymas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2 - 3 - 4	Tušti šulinėliai.
5	Konjugatas: šarminė fosfataze žymėti monokloniniai anti-hCG imunoglobulinai (pelės) + 1 g/l natrio azido (600 µl).
6 - 7	Plovimo buferis: natrio fosfatas (0.01 mol/l, pH 7.4) + 1 g/l natrio azido (600 µl).
8	Plovimo buferis: dietanolaminas DEA* (1.1 mol/l or 11.5 %) pH 9.8 + 1 g/l natrio azido (600 µl).
9	Tuščias šulinėlis.
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 PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetė su vienkartinio antgaliu paskirstyti 2 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 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 imunofementinių 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 8 šulinėlyje turi kenksmingo reagento (11.5% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Substratas, esantis 10 šulinėlyje turi dirginančio reagento (6.6% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- Dėl ypatingai aukštų hCG koncentracijų tam tikruose mėginiuose, yra rekomenduojama su didžiausiu atsargumu dozuoti mėginius tam, kad išvengtų jų užteršimo.
- 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 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 HCG rinkinį prie 2-8°C.
- **Nesušaldykite reagentų ar skiediklio.**
- **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. Žiūrėkite į rinkinio sudėties lentelę dėl specialių laikymo sąlygų.

MĖGINIAI**Mėginio tipas ir surinkimas:**

Serumas ar plazma (ličio heparinatas ar EDTA).

Nė vienas iš sekančių faktorių neturėjo įtakos šiam tyrimui.

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo (monomeras): nuo 0 iki 300 μmol/l),
- lipemija (po lipidų įdėjimo: nuo 0 iki 2 g/l trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo: nuo 0 iki 513 μmol/l).

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

Mėginio stabilumas:

Mėginius galima laikyti 2-8°C temperatūroje užkimštuose mėgintuvėliuose iki 7 dienų; jeigu reikia saugoti ilgiau, serumą ar plazmą užšaldykite -25 ± 6°C temperatūroje. Venkite tolimesnio 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 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** (žiūrėkite vartotojo vadovą). Standartinė vertė turi būti nurodytose RFV (Relative Fluorescence Value) ribose. Jei taip nėra, kalibruokite iš naujo.

Procedure

1. Iš šaldytuvo išimkite reikiamus reagentus ir leiskite jiems sušilti iki kambario temperatūros išlaikant mažiausiai 30 minučių.
2. Kiekvienam mėginiui, kontrolei ar kalibratoriui tirti naudokite vieną "HCG" juostelę ir vieną "HCG" SPR. **Įsitikinkite, kad pakuotė sandariai kruopščiai uždaryta po to kai buvo išimti SPR antgaliai.**
3. Ant instrumento tyrimas žymimas "HCG" kodu. Standartas turi būti identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip "C1".
4. Sūkuriniu maišytuvu sumaišykite kontrolinius tirpalus ir mėginius (kad serumas ar plazma būtų atskirti nuo gumulėlių).

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

6. Į instrumentą įdėkite "HCG" SPRs ir "HCG" juosteles. Būtinai patikrinkite, ar spalvinės etiketės su tyrimo kodu ant SPR ir reagento juostelių sutampa.
7. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta vartotojo vadove. Visi tyrimo etapai instrumento yra atliekami automatiškai.
8. Po dozavimo užkimškite buteliukus ir grąžinkite juos į reikiamą temperatūrą.
9. Tyrimas bus baigtas apytiksliai per 30 minučių. Baigus tyrimą iš instrumento išimkite SPR ir juosteles.
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 (Relative Fluorescence Value) paskaičiuojama atimant foninio nuskaitymo rezultatus iš galutinių rezultatų. Šie skaičiai pateikiami rezultatų lape.

rezultatai yra automatiškai apskaičiuojami instrumento, naudojantis kalibravimo kreivėmis, kurios išsaugotos atmintyje (4-parametru logaritminiu modeliu), o koncentracija yra išreiškiama mIU/ml vienetais (1^{as} IRP 75/537).

Mėginiai, kurių hCG koncentracija didesnė kaip 1,500 mIU/ml turi būti tiriami pakartotinai po praskiedimo su hCG skiedikliu, santykiu 1/20 arba 1/200 (R1).

Jeigu nebuvo įrašytas skiedimo koeficientas, kai buvo skurtas darbų sąrašas (žr. naudotojo vadovą), kad gautumėte mėginio koncentraciją, rezultatą padauginkite iš skiedimo koeficiento.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kontrolė yra pateikiama kiekviename VIDAS[®] hCG rinkinyje.

Ši kontrolė turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiama kontrole. Instrumentas kontrolės vertę sugebės patikrinti tik tuomet, jei ji nurodoma kaip C1.

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

- Šis rinkinys nėra patvirtintas dėl Dauno sindromo skrinimo.
- Žemos hCG koncentracijos gali indikuoti nėštumą, tačiau atliekant diagnozę, turi būti atsižvelgiama į gautas hCG vertes, bei į gydytojo pateiktą papildomą informaciją (simptomai, klinikinis stebėjimas, kiti tyrimai ir t.t.).
- Kadangi hCG lygis serume padidėja per pirmuosius nėštumo mėnesius, rezultatas gali būti patvirtintas dar kartą ištyrus mėginį po 48 valandų.
- Tam tikros piktybinės patologijos, ypač trofoblastinės kilmės susirgimai ir embrioniniai navikai sukelia panašų hCG lygį. Todėl, yra rekomenduojama atsižvelgti į medicininę paciento informaciją. Panašiai, hCG injekcijos, naudojamos terapinėse procedūrose, gali sukelti aukštą koncentraciją.
- Teigiami VIDAS HCG rezultatai buvo pastebėti pas pacientus, gydytus retinoinės rūgšties derivatais, ypač isotretinoinu. Šiuo atveju, rezultatai turi būti patvirtinti ištyrus kitą mėginį, ar naudojant kitą technologiją.
- 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, bei kitų atliktų tyrimų rezultatus.

TIKĖTINŲ VERČIŲ RIBOS

Kliniškai sveikoje populiacijoje be jokių navikinių patologijų, buvo gautos tokios vertės:

- vyrai: < 3 mIU/ml
- moterys, iki menopauzės: < 4 mIU/ml
- moterys, menopauzės metu: < 13 mIU/ml
- nėščios moterys:

Amonorėjos savaitė	Vidutinė (mIU/ml)	Ribos (mIU/ml)
4 - 5	7 400	1 500 - 23 000
5 - 6	32 800	3 400 - 135 300
6 - 7	52 000	10 500 - 161 000
7 - 8	74 000	18 000 - 209 000
8 - 9	100 000	37 500 - 219 000
9 - 10	105 000	42 800 - 218 000
10 - 11	96 000	33 700 - 218 700
11 - 12	75 300	21 800 - 193 200
12 - 13	66 700	20 300 - 166 100
13 - 14	65 900	15 400 - 190 000
2-as trimesteras (14-26)	26 150	2 800 - 176 100
3-ias trimesteras (26-39)	27 200	2 800 - 144 400

Preciziškumas

Atkartojamumas to pačio tyrimo serijos ribose:

Buvo tirti penki mėginiai 30 kartų toje pačioje tyrimų serijoje.

Mėginys	1	2	3	4	5
Vidutinė koncentracija (mIU/ml)	16.6	71.8	257.0	334.0	1211.0
CV %	6.8	4.3	4.6	4.8	5.4

Šie skaičiai yra pateikiami tik kaip nuoroda ir yra rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija nusistatytų savo referentines vertes iš kruopščiai atrinktos populiacijos.

ATLIKIMAS

Tyrimai, atlikti naudojantis VIDAS HCG rodė sekančius rezultatus:

Matavimo ribos

VIDAS HCG rinkinio matavimo ribos siekia nuo 2 iki 1500 mIU/ml.

Aptikimo riba

Nustatyta kaip mažiausia hCG koncentracija, kuri reikšmingai skyrėsi nuo nulio su tikimybe 95 % yra: **≤ 2 mIU/ml.**

Kablio efektas

Joks kablio efektas nepastebėtas hCG koncentracijai esant iki 1 000 000 mIU/ml.

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų:

Atskirai buvo tirti penki mėginiai 24 skirtingose tyrimo serijose 9 savaitių laikotarpyje.

Mėginys	1	2	3	4	5
Vidutinė koncentracija (mIU/ml)	17.4	71.7	253.0	334.0	1152.0
CV %	8.7	5.1	4.3	4.8	5.0

Specifiškumas

Kryžminių reakcijų procentas yra apskaičiuotas pagal tirtų elementų koncentracijos santykį su hCG koncentracija, signalui, esančiam ties 1,000 RFV verte. Gauti rezultatai yra pavaizduoti lentelėje:

Tirti elementai	% kryžminių reakcijų
HCG	100
HCG β - subvienetas	2.3
HCG α - subvienetas	0.3
LH	0.1
FSH	0.1
TSH	0.07

Kitas tyrimas buvo atliktas pridodant 10,000 mIU/ml LH ar 12,500 mIU/ml FSH į mėginį, turintį 1,356 mIU/ml hCG. Tyrimo rezultatai neparodė jokios interferencijos.

Tikslumas**Skiedimo tyrimas**

Trys mėginiai buvo skiesti HCG skiedikliu (R1) ir tirti atskirai 3 serijose. Išmatuotas vidutinės koncentracijos ir tikėtinos koncentracijos santykis išreikštas kaip vidutinis atstatymo procentas.

Mėginys	Skiedimo faktorius	Tikėtina vidutinė koncentracija (mIU/ml)	Išmatuota vidutinė koncentracija (mIU/ml)	Vidutinis atstatymo procentas (%)
1	1/1	168.19	168.19	100.0
	1/2	84.09	77.44	92.1
	1/4	42.05	36.61	87.1
	1/8	21.02	19.00	90.4
	1/16	10.51	8.30	79.0
	1/32	5.26	4.25	80.8
2	1/1	564.56	564.56	100.0
	1/2	282.28	327.42	116.0
	1/4	141.14	130.12	92.2
	1/8	70.57	64.62	91.6
	1/16	35.29	29.91	84.8
	1/32	17.64	14.33	81.2
3	1/1	1251.04	1251.04	100.0
	1/2	625.52	656.25	104.9
	1/4	312.76	322.58	103.1
	1/8	156.38	165.99	106.1
	1/16	78.19	74.96	95.9
	1/32	39.09	34.51	88.3

Palyginimas su kitų testų metodais

Buvo tirti 73 serumo mėginiai, paraleliai naudojant VIDAS HCG ir kitą komerciškai įsigytą rinkinį. Gauta alometrinė kreivės lygtis:
 $Y = 0.95 X - 18$, kai santykio koeficientas yra 0.99.

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. PIERCE J.G. et al., "Glycoprotein hormones: structure and function". Ann.Rev.Biochem., 1981, 50, 465-495.
2. RUFFIE A., RUEDAS E., HCG et sous-unités: intérêt clinique. Contracept. Fert. Sex., 1995, 23, 2, 97-100.
3. NORMAN R.J. et al., "Measurement of human chorionic gonadotrophin (hCG): indications and techniques for the clinical laboratory". Ann.Clin.Biochem., 1990, 27, 183-194.
4. ODELL W.D. et al., " Pulsatile secretion of chorionic gonadotropin during the normal menstrual cycle". J.Clin.Endocrinol.Met., 1989, 69, 528-532.
5. OZTURK M et al., "Physiological studies of human chorionic gonadotropin (hCG), α hCG, and β hCG as measured by specific monoclonal immunoradiometric assays". Endocrinol., 1987, 120, 549-558.
6. WASS M. et al., "Human Chorionic gonadotrophin". In Hormones in Blood, Academic Press, 3rd Edition, 1983, 179-193.

7. SCHOLLER R. et al., "Surveillance hormonale de la grossesse". Encycl., Med.,Chir; Paris, Obstétrique, 5015 A 10, 11-1180.
8. SCHOLLER R. et al., "Colloque sur les actualités en immunoanalyse", 1987, 225-233, Bordeaux 2-4 Décembre, 1987.
9. FEINSTEIN M.C. et al., "hCG et ses sous-unités comme marqueurs tumoraux". J.Steroid. Biochem, 1989, 33, 771-775.

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	06038P	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELĖ
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	06038Q	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PRASKIEDIMAS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

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[®] Ferritin (FER)

VIDAS Ferritin is an automated quantitative test for use on the VIDAS family instruments for the determination of human Ferritin in human serum or plasma (lithium heparin or EDTA) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

SUMMARY AND EXPLANATION

Ferritin is the most common type of iron storage in the human body (1). Its molecules can be found in the cytoplasm of the reticuloendothelial system, specifically in the liver and spleen.

Ferritin has the shape of a hollow spherical protein envelope composed of 24 protein sub-units.

The iron is situated in the center of the molecule in the form of ferric hydroxyphosphate. This molecule may contain as many as 4,500 iron atoms (2).

Iron deficiency anemia is a common ailment which may be caused by insufficient iron intake, pregnancy, hemodialysis or blood donation (3). The drop in serum ferritin levels can indicate an iron deficiency prior to the appearance of anemia. Detection of insufficient ferritin levels therefore enables anticipated treatment (4). Furthermore, iron overload is characteristic of illnesses such as thalassemia and sideroblastic anemia. In such cases, the measurement of serum ferritin levels contributes to diagnosis and patient monitoring (5, 6).

The level of serum ferritin acts as an indicator of the quantities of iron in the human body (7,8). It is also closely correlated to the level of iron in the bone marrow.

Quantitative data are obtained from the determination of serum ferritin concentration, thus avoiding the need for bone marrow biopsy, which is a more invasive technique (9, 10, 11).

PRINCIPLE

The assay principle combines a one-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.

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 antigens 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 FER strips	STR	Ready-to-use.
60 FER SPRs 2 x 30	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with monoclonal anti-ferritin immunoglobulins (mouse).
FER control 1 x 2 ml (liquid)	C1	Ready-to-use. Tris buffer (0.1 mol/l) pH 7.4 + human ferritin + bovine albumin + protein and chemical stabilizers. MLE data indicate the confidence interval in ng/mL ("Control C1 Dose Value Range").
Calibrator 1 x 2 ml (liquid)	S1	Ready-to-use. Tris buffer (0.1 mol/l) pH 7.4 + human ferritin + bovine albumin + protein and chemical stabilizers. MLE data indicate the concentration in ng/mL ("Calibrator (S1) Dose Value") and the confidence interval in "Relative Fluorescence Value ("Calibrator (S1) RFV Range").
FER dilution buffer 1 x 25 ml (liquid)	R1	Ready-to-use. Tris buffer (0.1 mol/l) pH 7.4 + bovine albumin + protein and chemical stabilizers.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: <ul style="list-style-type: none"> • 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 .		

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with mouse monoclonal anti-ferritin immunoglobulins. Each SPR is identified by the FER 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 FER reagent strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2 - 3 - 4	Empty wells.
5	Conjugate: alkaline phosphatase-labeled monoclonal anti-ferritin immunoglobulins (mouse) + 1 g/l sodium azide (600 µl).
6 - 7	Wash buffer: sodium phosphate (0.01 mol/l) pH 7.4 + 1 g/l sodium azide (600 µl).
8	Wash buffer: diethanolamine* (1.1 mol/l or 11.5 %, pH 9.8) + 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.

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 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 wash buffer (well 8) contains a harmful agent (11.5% diethanolamine). Refer to the hazard statements "H" and the precautionary statements "P" above.
- The 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 FER VIDAS 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.

The use of heat inactivated sera has not been validated.

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 2 g/l equivalent in triglycerides),
- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin: 0 to 513 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 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.

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 "FER" strip and one "FER" 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 "FER" code on the instrument. The calibrator must be identified by "S1", and tested **in duplicate**. If the control needs to be tested, it should be identified by "C1".
4. Mix the calibrator, control 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 "FER" SPRs and "FER" 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 30 minutes. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
10. Dispose of used SPRs and reagent strips in 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 ng/ml (preparation NIBSC 80/578).

Samples with ferritin concentrations greater than 1,200 ng/ml must be retested after dilution to 1/10 or 1/100 in FER dilution buffer (R1)

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

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

RANGE OF EXPECTED VALUES

These figures are given as a guide; it is recommended that each laboratory establish its own reference values from a rigorously selected population.

"Expected values were determined using 206 samples from clinically healthy, hematologically normal subjects with no hepatic disorders".

When the population observed is described using the percentage method, the following results are obtained:

Men:

Range of values	0 - 68 ng/ml	68 - 208 ng/ml	208 - 434 ng/ml	Mean
Prevalence	5%	45%	45%	236 ng/ml

Normal menstruating women:

Range of values	0 - 9.3 ng/ml	9.3 - 45 ng/ml	45 - 159 ng/ml	Mean
Prevalence	5%	45%	45%	58 ng/ml

Menopausal women:

Range of values	0 - 24.4 ng/ml	24.4 - 118 ng/ml	118 - 278 ng/ml	Mean
Prevalence	5%	45%	45%	151 ng/ml

If concentrations are lower than 20 ng/ml in women and 30 ng/ml in men, tests for martial deficiency should be performed. If concentrations are greater than 250 ng/ml in women or 350 ng/ml in men, tests should be performed for inflammatory, infectious, hepatic or tumoral pathologies, or abnormal iron storage (idiopathic or secondary hemochromatosis). "It is recommended that each laboratory establishes its own reference values from a rigorously selected population."

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS Ferritin gave the following results:

Measurement range

The measurement range of the VIDAS Ferritin reagent extends from 1.5 to 1200 ng/ml (2nd.IS NIBSC 80/578).

Analytical detection limit

Defined as the smallest concentration of ferritin which is significantly different from the zero concentration with a probability of 95%: ≤ 1.5 ng/ml.

QUALITY CONTROL

A control is included in each VIDAS FER 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

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.

Hook effect

No hook effect was found up to ferritin concentrations of 100,000 ng/ml.

Precision

Within-run reproducibility:

5 samples were tested 30 times in a same run.

Sample	1	2	3	4	5
Dose (ng/ml)	15.3	102	239	466	924
CV%	6.2	4.6	5.0	4.0	4.0

Between-run reproducibility

5 samples were tested singly in 24 different runs on the same VIDAS.

Sample	1	2	3	4	5
Dose (ng/ml)	16.5	128	234	537	1121
CV%	4.4	5.9	7.0	4.9	4.6

Accuracy**Dilution test**

Three samples were diluted in the (R1) diluent and tested singly in 3 series. The ratio of the mean concentration measured over the expected concentration is expressed as a mean recovery percentage.

Sample no.	Dilution factor	Measured concentration (ng/ml)	Expected concentration (ng/ml)	Mean recovery percentage (%)
SC3	1/1	193.7	--	--
	1/2	96.4	96.9	99.5
	1/4	49.8	48.4	102.8
	1/8	25.9	24.2	107.0
	1/16	13.3	12.1	110.0
	1/32	6.5	6.1	108.0
SC4	1/1	422.5	--	--
	1/2	202.6	211.2	96.0
	1/4	106.9	105.6	101.0
	1/8	52.3	52.8	99.0
	1/16	27.2	26.4	102.0
	1/32	13.6	13.2	103.0
SC5	1/1	926.7	--	--
	1/2	473.8	463.4	102.5
	1/4	251.6	231.7	108.0
	1/8	110.2	115.8	95.1
	1/16	55.6	57.9	95.4
	1/32	30.0	29	103.6

Specificity

Tested compound	Cross-reactivity (%)
Spleen ferritin	106
Liver ferritin	121
Heart ferritin	28
Placental ferritin	137

Comparison with other test methods

Correlation was established between the VIDAS Ferritin kit and another commercially available reagent.

VIDAS Ferritin = 1.16 X + 10.3 r = 0.99 (n = 95)

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. AISEN P., Iron transport and storage proteins. *Ann. Rev. Biochem.*, 1980, **49**, 357-393.
2. CHALLAND G.S., MICKAELOUDIS A., WATFA R.R., COLES S.J., MACKLIN J.L., Distribution of haemoglobin in patients presenting to their general practitioner, and its correlation with serum ferritin. *Ann. Clin. Biochem.*, 1980, **27**, 15-20.
3. IMBERT M., PRIOLET G., RYMER J.C., SULTAN Co., Réévaluation des stratégies pour le diagnostic des carences martiales. *Ann. Biol. Clin.*, 1987, **45**, 541-545.
4. SULTAN C., HENNY J., IMBERT M., INTRATOR L., JOUAULT H., Le dépistage précoce des carences martiales. *Le concours médical.*, 1985, 107-42, 3971-3973.
5. REVENANT M.C., VERNET M., RYMER J.C. et al., Etude comparative de six systèmes d'immunodosage de la Ferritine sérique au cours de maladies rhumatismales., *L'Eurobiologiste.*, 1994, Tome XXVIII, **N°213**, 35-303 / 41-309.
6. VERNET M., GUILLEMIN C., RYMER J.C. et al., Etude comparative de cinq méthodes d'immunodosage de la Ferritine sérique chez des polytransfusés., *L'Eurobiologiste.*, 1994, Tome XXVIII, **N° 213**, 43-311 / 49-317.
7. KIMBER R.J., RUSAKI Z., BLUNDEN R.W., Iron deficiency and iron overload: serum ferritin and serum iron in clinical medicine *Pathology.*, 1983, **15**, 497-503.
8. MONGIN M., Contexte pathologique des variations de la sidérémie. *Feuillets de Biologie.*, 1988, vol. XXIX, n° **161**, 49-53.
9. PARIS M., VERNET-NYSSSEN M., DEZIER J.F., Variations pathologiques du fer, de la transferrine et de la ferritine sérique. *Le Pharmacien Biologiste.*, 1986, tome XX, n° **161**, 31-34.
10. RYMER J.C., VERNET M., Dosage de la ferritine sérique. Qualités et défauts. *Immunoanal. Biol. spéc.*, 1990, **19**, 51-55.
11. VERNET M., Commission "Fer et Protéines de transport" Evaluation de l'intérêt diagnostique de la ferritinémie en pathologie humaine mesurée à l'aide de divers systèmes actuels de réactifs prêts à l'emploi. *Journée SFBC du 14.01.88. Information scientifique du biologiste.*, 1989, **15 (2)**, 93.

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	06036K	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	06036L	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) INSTRUCTIONS FOR USE

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® Ferritin (FER)

IVD

VIDAS Ferritin yra automatizuotas kiekybinis tyrimas, skirtas naudoti su VIDAS šeimos instrumentais, feritino žmogaus serume ar plazmoje (ličio heparine ar EDTA) ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) metodu.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Feritinas yra didžiausias geležies kaupiklis žmogaus organizme (1). Jo molekulės gali būti aptinkamos retikuloendotelinės sistemos citoplazmoje, ypač kepenyse ir blužnyje.

Feritinas yra sferinis tuščiaviduris uždaro formos baltymas, susidedantis iš baltyminių subvienetų.

Geležis yra molekulės viduje geležies hidroksifosfato formoje. Ši molekulė gali turėti net daugiau kaip 4,500 geležies atomų (2).

Geležies trūkumo anemija yra dažnas negalavimas, kuris gali būti sukeltas geležies įsisavinimo nepakankamumu, nėštumo, hemodializės ar kraujo donorystės (3). Feritino kiekio kritimas serume gali parodyti geležies deficitą prieš anemijos išsivystymą. Nepakankamo feritino kiekio nustatymas gali nurodyti į ankstyvą gydymą (4). Be to, geležies padidėjimas yra tokio susirgimų kaip talasemija ir sideroblastų anemija charakteristika. Tokiais atvejais, feritino kiekio serume matavimas padeda diagnozei ir paciento priežiūrai (5, 6).

Serumo feritino kiekis veikia kaip geležies kiekio žmogaus organizme indikatorius (7,8). Taip pat jis smarkiai koreliuoja su geležies kiekiu kaulų čiulpuose.

Kiekybiniai duomenys yra nustatomi pagal serumo feritino koncentraciją, taip išvengiant kaulų čiulpų biopsijos poreikį, kuri yra pakankamai invazinis metodas (9, 10, 11).

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas vieno etapo imunofermenitiniu 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 užklijuotuose reagentų strypeliuose.

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

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 antigeno, esančio mėginyje, koncentracijai.

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

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ):

60 FER strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 FER SPR antgalių 2 x 30	SPR	Paruošti naudojimui. SPR antgalio vidinė pusė padengta monokloniniais anti-feritino imunoglobulinais (pelės).
FER kontrolė 1 x 2 ml (skysta)	C1	Paruošta naudojimui. Tris buferis (0.1 mol/l) pH 7.4 + žmogaus feritinas + jaučio albuminas + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai. MLE duomenys nurodo pasiklovimo intervalą ng/ml vienetais ("Control C1 Dose Value Range").
Kalibratorius 1 x 2 ml (skystas)	S1	Paruoštas naudojimui. Tris buferis (0.1 mol/l) pH 7.4 + žmogaus feritinas + jaučio albuminas + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai. MLE duomenys nurodo koncentraciją ng/ml vienetais ("Calibrator (S1) Dose Value") ir pasiklovimo intervalą "Relative Fluorescence Value" ("Calibrator (S1) RFV Range").
FER skiedimo buferis 1 x 25 ml (skystas)	R1	Paruoštas naudojimui. Tris buferis (0.1 mol/l) pH 7.4 + jaučio albuminas + baltyminiai ir cheminiai stabilizatoriai.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos:		
<ul style="list-style-type: none"> MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. ar		
<ul style="list-style-type: none"> MLE brūkšninis kodas, atspausdintas ant dėžutės etiketės 		
1 pakuotės aprašymas, teikiamas kartu su rinkiniu arba parsisiunčiamas iš www.biomerieux.com/techlib .		

SPR

SPR antgalio gamybos procese jo vidinis paviršius buvo padengtas monokloniniais anti-feritino imunoglobulinais. Kiekvienas SPR yra identifiktuotas FER 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.

FER reagentų strypelio apibūdinimas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2 - 3 - 4	Tušti šulinėliai.
5	Konjugatas: šarminė fosfataze žymėti monokloniniai anti-fertino imunoglobulinai (mouse) + 1 g/l natrio azido (600 µl).
6 - 7	Plovimo buferis: natrio fosfatas (0.01 mol/l) pH 7.4 + 1 g/l natrio azido (600 µl).
8	Plovimo buferis: dietanolaminas* (1.1 mol/l or 11.5 %, pH 9.8) + 1 g/l natrio azido (600 µl).
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 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 PRIEMONĖS IR VIENKARTINĖS MEDŽIAGOS

- Pipetė su vienkartinio antgaliu paskirstyti 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 (nenurykite ir neįkvėpkite).
- Nenaudokite SPR antgalių 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 imunofermenčių 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 (šulinėlis 8) turi kenksmingo reagento (11.5% dietanolamino). Skaitykite pavojingumo frazes "H" ir atsargumo frazes "P" pateiktas aukščiau.
- 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 buitėje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žr. vartotojo vadovę, kaip valyti išsipyliusius ant ar į instrumentą skysčius. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentą reikia reguliariai valyti ir nukenksminti (žr. vartotojo vadovę).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS FER 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. Žiūrėkite į rinkinio sudėties lentelę dėl specialių laikymo sąlygų.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir surinkimas:

Serumas ar plazma (ličio heparinas ar EDTA).

Rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija patikrintų naudojamų mėgintuvėlių tinkamumą.

Karščiu inaktyvuotų serumų naudojimas nėra patvirtinimas.

Nė vienas iš sekančių faktorių neturėjo įtakos šiam tyrimui.

- Hemolizė (pridėjus į mėginį hemoglobino: 0 iki 300 μmol/l (monomeras)),
- lipemija (po lipidų įdėjimo: nuo 0 iki 2 g/l trigliceridų ekvivalento),
- bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo: nuo 0 iki 513 μmol/l).

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

Mėginio stabilumas

Mėginius galima laikyti 2-8°C temperatūroje užkimštuose mėgintuvėliuose iki 7 dienų; jeigu reikia saugoti ilgiau, serumą arba plazmą užšaldykite -25°±6C temperatūroje. Venkite tolimesnio 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 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. Kiekvienam mėginiui, kontrolei ar kalibratoriumi tirti naudokite vieną „FER“ juostelę ir vieną „FER“ SPR. Iššėmus reikiamą SPR kiekį būtina kruopščiai užverkite saugojimo maišelį.
3. Ant instrumento tyrimas žymimas „FER“ kodu. Standartas turi būti identifikuotas kaip „S1“, ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei kontrolė taip pat turi būti tirama, ji turi būti identifikuota kaip „C1“.
4. Sūkuriniu maišytuvu sumaišykite kalibratorių, kontrolinius tirpalus ir mėginius (kad serumas ar plazma būtų atskirtas nuo gumulėlių).
5. **Šiam testui kalibratoriaus, kontrolinių tirpalų ir mėginio tyrimo porcija yra 100 μl.**
6. Į instrumentą įdėkite „FER“ SPR ir „FER“ juosteles. Tam kad įsitikintumėte, patikrinkite ar spalvota etiketė atitinka tyrimo kodą ant SPR antgalio ir Reagentų strypelio.
7. Pradėkite tyrimą, kaip nurodyta naudotojo vadovę. Visos tyrimo procedūros yra automatiškai atliekamos instrumente.
8. Po išdalijimo pipete, buteliukus vėl užkimškite ir padėkite į 2-8°C temperatūrą.
9. Tyrimas bus atliktas apytiksliai per 30 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 (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) ir koncentracija yra išreiškiama ng/ml (NIBSC 80/578 ruošiniai).

Mėginiai, kurių feritino koncentracija didesnė kaip 1,200 ng/ml turi būti tiriami pakartotinai po praskiedimo santykiu nuo 1/10 ar 1/100 FER skiedimo buferiu (R1).

Jei skiedimo faktorius nebuvo įvestas kai buvo kuriamas meniu Work List (žiūrėkite Naudojimo Instrukciją), rezultatą padauginkite iš skiedimo faktoriaus, kad gautumėte mėginio koncentraciją.

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

TIKĖTINŲ VERČIŲ RIBOS

Šie skaičiai yra pateikiami tik kaip nuoroda ir yra rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija nusistatytų savo referentines vertes iš kruopščiai atrinktos populiacijos.

“Tikėtinos vertės buvo nustatytos tiriant kliniškai sveikų, hematologiškai normalių asmenų, neturinčių hepatitinių susirgimų, 206 mėginius”.

Kai tirta populiacija buvo aprašoma naudojantis procentiniu metodu, buvo gauti sekantys rezultatai:

Vyrai:

Verčių ribos	0 - 68 ng/ml	68 - 208 ng/ml	208 - 434 ng/ml	Vidurkis
Paplitimas	5%	45%	45%	236 ng/ml

Moterys su normaliu menstruaciniu ciklu:

Verčių ribos	0 - 9.3 ng/ml	9.3 - 45 ng/ml	45 - 159 ng/ml	Vidurkis
Paplitimas	5%	45%	45%	58 ng/ml

Moterys menopauzėje:

Verčių ribos	0 - 24.4 ng/ml	24.4 - 118 ng/ml	118 - 278 ng/ml	Vidurkis
Paplitimas	5%	45%	45%	151 ng/ml

Jei moterims koncentracija yra mažesnė kaip 20 ng/ml ir vyrams mažesnė kaip 30 ng/ml, turi būti patikrinta ar asmuo nėra sužeistas. Jei moterims koncentracija yra didesnė kaip 250 ng/ml ar vyrams didesnė kaip 350 ng/ml, turi būti atliekamas tyrimas dėl uždegimo, infekcijos, hepatito ar vėžinės patologijos ar nenormalaus geležies kaupimo (idiopatinė ar antrinė hemochromatozė). “Yra rekomenduojama, kad kiekviena laboratorija nusistatytų savo referentines vertes iš kruopščiai atrinktos populiacijos.”

KOKYBĖS KONTROLĖ

Kontrolė yra pateikiama kiekviename VIDAS FER rinkinyje.

Ši kontrolė turi būti naudojamos tuojau pat, kai rinkinys yra atidaromas, užtikrinant jog reagentų savybės nepakito. Kiekvienas kalibravimas turi būti patikrinamas naudojantis pateikiama kontrole. Instrumentas kontrolės vertę sugebės patikrinti tik tuomet, jei ji nurodoma kaip C1.

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 Ferritin rodė sekančius rezultatus:

Matavimo ribos

VIDAS Ferritin reagentų matavimo ribos yra nuo 1.5 iki 1200 ng/ml (2nd.IS NIBSC 80/578).

Analitinio aptikimo riba

Nustatyta kaip mažiausia feritino koncentracija, kuri reikšmingai skyrėsi nuo nulio su tikimybe 95% yra: ≤ 1.5 ng/ml.

Kablo efektas

Joks kablo efektas nepastebėtas feritino koncentracijai esant iki 100,000 ng/ml.

Preciziškumas

Atkartojamumas to pačio tyrimo serijos ribose:

Buvo tirti 5 mėginiai 30 kartų toje pačioje tyrimų serijoje.

Mėginys	1	2	3	4	5
Dozė (ng/ml)	15.3	102	239	466	924
CV%	6.2	4.6	5.0	4.0	4.0

Atkartojamumas tarp atskirų tyrimų serijų

Atskirai buvo tirti 5 mėginiai 24 skirtingose tyrimo serijose tuo pačiu VIDAS instrumentu.

Mėginys	1	2	3	4	5
Dozė (ng/ml)	16.5	128	234	537	1121
CV%	4.4	5.9	7.0	4.9	4.6

Specifiškumas

Tirti junginiai	Kryžminis reaktyvumas (%)
Blužnies feritinas	106
Kepenų feritinas	121
Širdies feritinas	28
Placentos feritinas	137

Tikslumas**Skiedimo tyrimas**

Trys mėginiai buvo skiesti skiedikliu (R1) ir tirti atskirai 3 serijose. Išmatuotas vidutinės koncentracijos ir tikėtinos koncentracijos santykis išreikštas kaip vidutinis atstatymo procentas.

Mėginio nr.	Skiedimo faktorius	Išmatuota koncentracija (ng/ml)	Tikėtina koncentracija (ng/ml)	Vidutinis atstatymo procentas (%)
SC3	1/1	193.7	--	--
	1/2	96.4	96.9	99.5
	1/4	49.8	48.4	102.8
	1/8	25.9	24.2	107.0
	1/16	13.3	12.1	110.0
	1/32	6.5	6.1	108.0
SC4	1/1	422.5	--	--
	1/2	202.6	211.2	96.0
	1/4	106.9	105.6	101.0
	1/8	52.3	52.8	99.0
	1/16	27.2	26.4	102.0
	1/32	13.6	13.2	103.0
SC5	1/1	926.7	--	--
	1/2	473.8	463.4	102.5
	1/4	251.6	231.7	108.0
	1/8	110.2	115.8	95.1
	1/16	55.6	57.9	95.4
	1/32	30.0	29	103.6

Palyginimas su kitais tyrimo metodais

Buvo nustatyta koreliacija tarp VIDAS Ferritin rinkinio ir kitų komercinių reagentų.

VIDAS Ferritin = $1.16 X + 10.3$ $r = 0.99$ (n = 95)

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. AISEN P., Iron transport and storage proteins. Ann. Rev. Biochem., 1980, 49, 357-393.
2. CHALLAND G.S., MICKAELDOUDIS A., WATFA R.R., COLES S.J., MACKLIN J.L., Distribution of haemoglobin in patients presenting to their general practitioner, and its correlation with serum ferritin. Ann. Clin. Biochem., 1980, 27, 15-20.
3. IMBERT M., PRIOLET G., RYMER J.C., SULTAN Co., Réévaluation des stratégies pour le diagnostic des carences martiales. Ann. Biol. Clin., 1987, 45, 541-545.
4. SULTAN C., HENNY J., IMBERT M., INTRATOR L., JOUAULT H., Le dépistage précoce des carences martiales. Le concours médical., 1985, 107-42, 3971-3973.
5. REVENANT M.C., VERNET M., RYMER JC. et al., Etude comparative de six systèmes d'immunodosage de la Ferritine sérique au cours de maladies rhumatismales., L'Eurobiologiste., 1994, Tome XXVIII, N°213, 35-303 / 41-309.
6. VERNET M., GUILLEMIN C., RYMER JC. et al., Etude comparative de cinq méthodes d'immunodosage de la Ferritine sérique chez des polytransfusés., L'Eurobiologiste., 1994, Tome XXVIII, N° 213, 43-311 / 49-317.
7. KIMBER R.J., RUSAKI Z., BLUNDEN R.W., Iron deficiency and iron overload: serum ferritin and serum iron in clinical medicine Pathology., 1983, 15, 497-503.
8. MONGIN M., Contexte pathologique des variations de la sidéremie. Feuilles de Biologie., 1988, vol. XXIX, n° 161, 49-53.
9. PARIS M., VERNET-NYSSSEN M., DEZIER J.F., Variations pathologiques du fer, de la transferrine et de la ferritine sérique. Le Pharmacien Biologiste., 1986, tome XX, n° 161, 31-34.
10. RYMER J.C., VERNET M., Dosage de la ferritine sérique. Qualités et défauts. Immunoanal. Biol. spéc., 1990, 19, 51-55.
11. VERNET M., Commission "Fer et Protéines de transport" Evaluation de l'intérêt diagnostique de la ferritinémie en pathologie humaine mesurée à l'aide de divers systèmes actuels de réactifs prêts à l'emploi. Journée SFBC du 14.01.88. Information scientifique du biologiste., 1989, 15 (2), 93.

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 ISTORIJOS 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:	<i>Smulkūs tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukiami į peržiūrų istoriją.</i>

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	06036K	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJOS LENTELE
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	06036L	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

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[®] 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.Vanderborcht, 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.Sönnerborg 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.

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.*

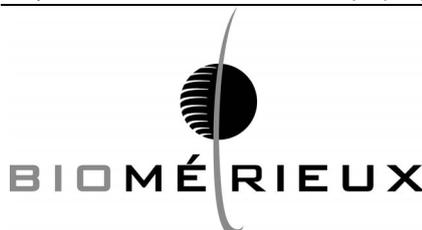
Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	12232E	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	12232F	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS INSTRUCTIONS FOR USE

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

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 fluorescencinis metodas).

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Žmogaus imunodeficitu 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 individualiais, 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 skringinius tyrimus.

PRINCIPAS

Tyrimo principas pagrįstas 2 imunofermentinių reakcijų panaudojimu su galutiniu fluorescencijos įvertinimu (ELFA).

Kietos fazės antgali (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), kurio 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 grupe 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.biomerieux.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 grupe 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 antgalio 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.
- Išsipyčius skysčius turi būti kruopščiai nuvalomi, prieš tai juos nukenkšminus skystu detergentu arba buitinyje naudojamomis dezinfekcinėmis priemonėmis, kurių sudėtyje yra bent 0,5% natrio hipochlorito. Žiūrėkite Naudotojo Instrukciją dėl išsipyčius skysčių ar instrumento valymo. Neautoklavuokite skysčių, turinčių balinimo priemonių.
- Instrumentas turi būti reguliariai valomas ir nukenkšminamas (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 pradėdant tyrimus, instrumentas negalės atspausdinti rezultatų.

Pastaba: MLE duomenis reikia įvesti vieną kart 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 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 "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 identifikuotas kaip "S1", ir tiriamas **dvigubu pakartojimu**. Jei teigiama kontrolė taip pat turi būti tiriami, ji turi būti identifikuota kaip "C1" ir "C3". Jei neigiama kontrolė taip pat turi būti tiriami, ji turi būti identifikuota 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 sukuriama "Neteisingas" žinutė, rezultatas yra neteisingas. Šiuo atveju, mėginį reikia iširti 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 iširti antrą mėginį, surinktą kelias dienas vėliau, ypač klinikinių simptomų metu ir/ar esant rizikos faktoriams.

Pastaba: jei reikia turi būti atsižvelgiama į specifinius šaliai 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 tikėtinos 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 rekalifikiuotos 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% pasiklovimo 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 iširti, ir nustatyta, kad jie yra neigiami su VIDAS HIV DUO Quick.

VIDAS HIV DUO jautrumo su p24 antigenų patikrinimui, buvo iširta 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, 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 praityje) 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.Guépard, 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.Vanderborcht, 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.Sönnerborg 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. Scherz.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**

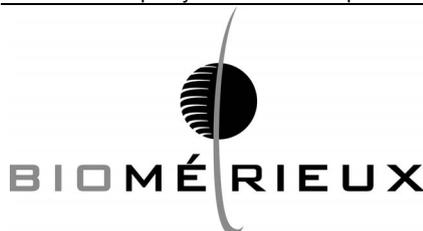
N/A	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techniniai pakeitimai	Su produktu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir/ar šalinimas
Administracinis	Ne techniniai pakeitimai, pastebimi naudotojui

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	RINKINIŲ SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PARUOŠIMAS ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	12232F	Techninis pakeitimas	RINKINIŲ 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



VIDAS[®] D-Dimer Exclusion II[™] (DEX2)

IVD

VIDAS[®] D-Dimer Exclusion II[™] is an automated quantitative test for use on the instruments of the VIDAS[®] family for the immunoenzymatic determination of fibrin degradation products (FbDP) in human plasma (sodium citrate) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

VIDAS[®] D-Dimer Exclusion II[™] is indicated for use in conjunction with a clinical pretest probability assessment model to **exclude deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE)** disease in outpatients suspected of DVT or PE.

VIDAS[®] D-Dimer Exclusion II[™] is indicated for use in the HERDOO2 clinical decision rule (CDR) to assess the risk of recurrence of venous thromboembolism (VTE) in women with a first unprovoked VTE. Risk stratification by this CDR is an aid to guide the duration of oral anticoagulant therapy.

SUMMARY AND EXPLANATION

Fibrin degradation products (FbDP) are a highly heterogeneous group of soluble fragments that appear in the circulation as a result of two simultaneous physiological processes (1):

- Coagulation, resulting in the conversion of soluble fibrinogen into insoluble stabilized fibrin by the enzymes thrombin and factor XIIIa,
- Fibrinolysis, resulting in the dissolution of the fibrin clot by the enzyme plasmin. The D-dimer fragment is the terminal product of this process (2).

Although FbDP's vary in size, they are characterized by the presence of one or more D-dimer epitopes (1, 2). Therefore, FbDP's are collectively referred to as 'D-dimer'. Assays for D-dimer can be performed directly in plasma by virtue of monoclonal antibodies which are able to identify fibrin-specific epitopes without cross-reactivity with fibrinogen or its degradation products (1).

D-dimer reflects the presence of stabilized fibrin and this has made this marker a useful tool in the diagnosis of venous thromboembolism (VTE) (3). Quantitative D-dimer assays based on ELISA techniques have a high sensitivity for the presence of an occluding thrombus and, consequently, are particularly useful in excluding venous thromboembolism (4, 5).

In conjunction with assessment of clinical pretest probability, it is possible to safely rule out the diagnosis of deep vein thrombosis (DVT) and/or pulmonary embolism (PE) in suspected outpatients when the concentration of D-dimer is below a predefined cutoff (determined by rigorous clinical studies) (5-7). The clinical utility of D-dimer ELISA assays in the diagnostic work-up of suspected DVT or PE resides in the significant reduction in the number of imaging tests that are required, with a concomitant reduction in the total cost of diagnosis (8, 9). For patients with suspected pulmonary embolism, the use of an age-adjusted cutoff compared to a single clinical cutoff, enables to reduce the number of imaging tests required (10).

D-dimer is not specific for DVT/PE and elevated levels are also observed in a variety of other conditions where activation of coagulation and fibrinolysis occurs (for example, surgery, trauma, infection, inflammation, pregnancy, cancer) (3). This makes D-dimer less useful for exclusion of DVT or PE in hospitalized patients due to the high proportion of comorbid conditions associated with elevated D-dimer levels (5, 11). Under certain conditions, lower than expected D-dimer results may occur giving rise to false-negatives. Therefore, it is not safe to use D-dimer for exclusion of DVT/PE in patients with high pre-test probability, long duration of DVT/PE symptoms (more than one week) or already under anticoagulant treatment (11, 12).

The VIDAS[®] D-Dimer Exclusion II[™] assay is part of the HERDOO2 clinical decision rule that has been shown to identify women with unprovoked VTE who are at sufficiently low risk of a recurrent VTE event that they could discontinue oral anticoagulants after short-term therapy (13).

The HERDOO2 rule states that this is the case if none or only one of the following four criteria is present: 1) **H**yperpigmentation, **E**dema or **R**edness (HER) on examination of legs; 2) **D**-dimer ≥ 250 ng/mL; 3) **O**besity (body mass index ≥ 30 kg/m²); 4) **O**lder age (≥ 65 years).

The International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) suggests that it is safe to discontinue anticoagulants if the risk of recurrent VTE is less than 5% one year after stopping anticoagulant therapy (14).

The REVERSE II study confirmed that the one-year VTE recurrence rate was below the level recommended by the ISTH, since the recurrence rate in women with a first unprovoked VTE and 0 or 1 HERDOO2 criteria was 3.0% in this study(15).

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 with an anti-FbDP monoclonal antibody adsorbed on its surface, and the pipetting device. The reagents in the single-use reagent strip are ready-to-use and pre-dispensed.

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

First the sample is taken by the SPR[®], diluted and then cycled in and out of the SPR[®] several times. The antigen binds to the anti-FbDP immunoglobulins coated on the SPR[®]. Unbound components are eliminated during a washing step.

During the second step, the conjugate, which contains an alkaline phosphatase-labeled anti-FbDP monoclonal antibody, binds to the antigen coated on the SPR[®] to form a "sandwich".

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 antigen 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. The results can then be printed.

CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS:

60 DEX2 Strips	STR	Ready-to-use.
60 DEX2 SPRs 2 x 30	SPR®	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with anti-FbDP monoclonal immunoglobulins (mouse).
<u>DEX2 Calibrator:</u> S1 Calibrator 2 x 2 mL (lyophilized)	S1	Reconstitute with 2 mL of distilled water. Wait for 5 minutes and then mix. After reconstitution, the calibrator is stable for 28 days at 2-8°C or until the expiration date of the kit at -25 ± 6°C (freeze immediately after reconstitution). 5 freeze/thaw cycles are possible. FbDP obtained from human plasma* diluted in glycine-albumin bovine buffer + preservatives. MLE data indicate the concentration in ng/mL (FEU) ("Calibrator (S1) Dose Value") and the confidence interval in "Relative Fluorescence Value ("Calibrator (S1) RFV Range").
<u>DEX2 Controls:</u> C1 Control 2 x 2 mL (lyophilized) C2 Control 2 x 2 mL (lyophilized)	C1 C2	Reconstitute with 2 mL of distilled water. Wait for 5 minutes and then mix. After reconstitution, the controls are stable for 28 days at 2-8°C or until the expiration date of the kit at -25 ± 6°C (freeze immediately after reconstitution). 5 freeze/thaw cycles are possible. FbDP obtained from human plasma* diluted in glycine-albumin bovine buffer + preservatives. MLE data indicate the confidence interval in ng/mL (FEU) ("Control C1 Dose Value Range") or ("Control C2 Dose Value Range").
DEX2 Diluent 1 x 5 mL (liquid)	R1	Ready-to-use. TRIS buffer (0.05 mol/L pH 7.4) + calf serum + 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, 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 SPR® is coated during production with anti-FbDP monoclonal immunoglobulins (mouse). Each SPR® is identified by the DEX2 code. Only remove the required number of SPR®s 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 DEX2 strip

Wells	Reagents
1	Sample well.
2 - 3 - 4	Empty wells.
5	Conjugate: alkaline phosphatase-labeled anti-FbDP monoclonal immunoglobulins (mouse) in TRIS buffer (0.05 mol/L pH 6.5) + horse serum + preservatives (400 µL).
6 - 7 - 9	Wash buffer: TRIS buffer (0.05 mol/L, pH 7.3) + chemical stabilizers + preservatives (600 µL).
8	Diluent: TRIS buffer (0.05 mol/L, pH 7.4) + calf serum + protein and chemical stabilizers + preservatives (600 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

- 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.
- Instrument 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 contains products of human origin. Source materials from which the controls and calibrator were derived were found negative when tested for HIV1, HIV2, HCV, and HBsAg. However, 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; do not inhale).
- Do not use the SPR®s if the pouch is pierced or if the dot sealing a SPR® 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.
- **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 instruments should be regularly maintained (refer to the User Manual for user and preventive maintenance operations).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents, with the exception of the calibrator and controls 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 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. Refer to the kit composition table for special storage conditions.

SAMPLESSample type and collection

- Collect blood by clean venipuncture in **trisodium citrate** (0.109 mol/L / 3.2% or 0.129 mol/L / 3.8%) or **CTAD** (sodium citrate, theophylline, adenosine and dipyridamole), observing the correct anticoagulant to blood ratio.
- Refer to the tube manufacturer's recommendations for use.
- Collection of whole blood using a syringe is not recommended in order to avoid formation of microclots in the sample.

Sample preparation

The current WHO/DIL/LAB/99.1 document provides recommendations for sample preparation.

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.

Sample stability

Plasma samples separated from the pellet can be stored in aliquots at 2-8°C for 3 days. If longer storage is required, plasma can be frozen at $-25 \pm 6^\circ\text{C}$ for 6 months, with up to 2 freeze/thaw cycles. Thaw the plasma at 37°C when assaying.

Sample-related interference

Interference was studied according to the recommendations of the CLSI® document EP7-A2.

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)),
- lipemia (after spiking samples with lipids, up to 30 g/L equivalent in triglycerides),

- bilirubinemia (after spiking samples with bilirubin, up to 537 µmol/L),
- rheumatoid factor: up to 400 IU/mL (international units per milliliter),
- human albumin: up to 60 g/L.

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

The influence of 51 analytes was also detected *in vitro*: no interference was observed.

Drug	Concentration tested	Drug	Concentration tested	Drug	Concentration tested
Acetaminophen	20 mg/dL	Cyclosporine A	0.4 mg/dL	Lithium chloride	14 mg/dL
Acetylsalicylic acid = aspirin	65 mg/dL	Dabigatran etexilate	18 mg/dL	L-Thyroxine	0.06 mg/dL
Allopurinol	4 mg/dL	Dextran 75	2500 mg/dL	Nicotine	0.1 mg/dL
Amikacin sulfate	10.4 mg/dL	Diazepam	0.5 mg/dL	Nifedipine	0.04 mg/dL
Ampicillin	5 mg/dL	Digoxin	0.0006 mg/dL	Penicillin G sodium salt	2500 U/dL
Apixaban	0.6 mg/dL	D-L methyl dopa hydrochloride	1.8 mg/dL	Pentobarbital	9 mg/dL
Ascorbic Acid (vitamin C)	6 mg/dL	Dopamine hydrochloride	0.1 mg/dL	Phenobarbital	10 mg/dL
Atenolol	1 mg/dL	Edoxaban	3.6 mg/dL	Phenytoine	5 mg/dL
Caffeine	6 mg/dL	Erythromycin	6 mg/dL	Primidone	4 mg/dL
Captopril	0.5 mg/dL	Ethanol	400 mg/dL	Propranolol hydrochloride	0.2 mg/dL
Carbamazepine	3 mg/dL	Ethosuximide	25 mg/dL	Rivaroxaban	1.2 mg/dL
Chloramphenicol	5 mg/dL	Furosemide	6 mg/dL	Theophylline	4 mg/dL
Chlordiazepoxide hydrochloride	1.1 mg/dL	Gentamicin sulfate	1 mg/dL	Urea	500 mg/dL
Chlorpromazine hydrochloride	0.2 mg/dL	Lithium heparin	300 U/dL	Uric acid	24 mg/dL
Cimetidine	2 mg/dL	Sodium heparin	300 U/dL	Valproic acid sodium salt	60 mg/dL
Cinnarizine	3 mg/dL	Ibuprofen	50 mg/dL	Verapamil hydrochloride	0.2 mg/dL
Creatinine	30 mg/dL	Lidocaine	1.2 mg/dL	Warfarin	1 mg/dL

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the 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) 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 in the kit or 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

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. 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 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.

Kit controls

Two controls are included in each VIDAS® D-Dimer Exclusion II™. 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.

Procedure

1. **Remove the kit from storage at 2-8°C and take out the required reagents. Carefully reseal the SPR® pouch and return the kit to 2-8°C. The reagents can be used immediately.**
2. Use one "DEX2" strip and one "DEX2" SPR® from the kit for each sample, control or calibrator to be tested. Make sure the storage pouch has been carefully resealed after the required SPR®s have been removed.
3. The test is identified by the "DEX2" code on the instrument. The calibrator must be identified by "S1", and tested in duplicate. If the controls are to be tested, they should be identified by "C1" and "C2" and tested singly.
4. If necessary, clarify samples by centrifugation.
5. Mix the calibrator, controls and samples using a vortex-type mixer in order to improve result reproducibility (for plasma separated from the pellet).
6. For optimum results, refer to all the paragraphs in the **SAMPLES** section.
7. Before pipetting ensure that samples, calibrators, controls and diluent are free of bubbles.
8. For this test, the calibrator, control and sample test portion is 200 µL.
9. Insert the "DEX2" SPRs and "DEX2" strips into their appropriate position on the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPR®s and the STRs match.
10. **Initiate the assay immediately** (refer to the User Manual). All the assay steps are performed automatically by the instrument.
11. Reclose the vials and return them to the recommended temperature after pipetting.
12. The assay results are available within 20 minutes. After the assay is completed, remove the SPR®s and STRs from the instrument.
13. Dispose of the used SPR®s and STRs into an appropriate recipient.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- Interference may be encountered with certain plasmas containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history (clinical probability).
- Clinical performance data were determined on an outpatient population. Because D-dimer results are likely to be elevated in an inpatient population due to stasis, chronic illness, post-surgery and other non-specific conditions known to elevate D-dimer levels, the clinical utility of a negative result is not likely to be realized in an inpatient population. Therefore, clinical performance results should not be extrapolated to an inpatient population.
- Results below the detection limit of 45 ng/mL obtained with the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ kit are usually linked to poor pre-analytical conditions or incorrect instrument maintenance, and therefore, the assay must be repeated. Please contact your customer service for further assistance.

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.

RESULTS AND INTERPRETATION

Once the assay is completed, the results are analyzed automatically by the computer. The results are calculated using the calibration curve that is stored by the instrument (4-parameter logistics model), and then printed. The D-dimer concentrations are expressed in ng/mL of Fibrinogen Equivalent Unit (FEU). VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ has been calibrated against an internal panel of human plasma, the concentrations of which have been determined using the VIDAS D-Dimer Exclusion kit (ref. 30 442). This reference (30 442) is no longer sold.

Samples with D-dimer concentrations greater than 10,000 ng/mL (FEU) can be retested after being diluted by 1/5 in the kit diluent. **If the dilution factor was entered when the worklist was created, the result is calculated automatically. If the dilution factor was not entered, multiply the results by the dilution factor to obtain the sample concentration.**

Description of clinical decision cutoffs

- **To exclude DVT and PE in combination with clinical pretest probability assessment.**

For deep vein thrombosis, the **cutoff level is 500 ng/mL.**

For pulmonary embolism, the **cutoff level is either 500 ng/mL, or age-adjusted, as follows:**

- **< 50 years: 500 ng/mL cutoff**
- **≥ 50 years: age x 10 ng/mL** (example: 650 ng/mL cutoff for 65 years)

With a decision cutoff of 500 ng/mL, a D-dimer result ≥ 500 ng/mL (FEU) is considered to be positive and a result < 500 ng/mL (FEU) is considered to be negative.

With an age-adjusted cutoff, a D-dimer result ≥ the age-adjusted cutoff is considered to be positive and a result < the age-adjusted cutoff is considered to be negative.

- **To aid in evaluating the VTE recurrence rate in women with a first unprovoked VTE, in order to guide the duration of oral anticoagulant therapy.**

The cutoff level used in the HERDOO2 clinical decision rule is **250 ng/mL**. Women with a first unprovoked VTE who are on oral anticoagulants are considered positive (1 point in the clinical decision rule) with a VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ test result ≥ 250 ng/mL and negative (0 point in the clinical decision rule) with a test result < 250 ng/mL.

- HERDOO2 rule: for postmenopausal women (≥ 50 years) with 0 or 1 HERDOO2 criteria who discontinued oral anticoagulants (n=126), the recurrence rate was 5.7% (95% CI 2.6-10.9%) (15). Bearing in mind that the ISTH suggests that it is safe to discontinue anticoagulants if the recurrence rate is less than 5% one year after stopping the treatment (14), it is all the more important that clinicians take into consideration the clinical history of patients in this group before making any decisions.

REFERENCE VALUES

In a study carried out using 215 citrated plasma samples from blood donors, 90% of values were below 500 ng/mL (FEU).

It is recommended that each laboratory establish its own reference values from a rigorously selected population.

PERFORMANCE

Studies performed using VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ gave the following results:

Measurement range

The measurement range of the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assay is 45 ng/mL (FEU) to 10,000 ng/mL (FEU) (upper limit of quantification).

Linearity

Linearity was determined on plasmas according to the recommendations of CLSI® document EP6-A. The results obtained have shown that VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ is linear from 45 to 10,000 ng/mL (FEU). However, for a few isolated samples, VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ may not be linear due to the matrix.

Detection limit

Defined as the smallest concentration of D-dimer significantly different from the zero concentration with a risk α of 5%: **< 45 ng/mL (FEU)**. The results of the detection limit were determined according to the standard CLSI® EP17-A.

Hook effect

No hook effect was found up to D-dimer concentrations of 400,000 ng/mL (FEU).

Specificity

Interference was studied according to the recommendations of the CLSI® document EP7-A2.

Cross reactant	Concentration (spiked samples)	Cross reactivity
Fibrinogen	≤ 10 g/L	No
Fibrinogen degradation products X	≤ 10 μ g/mL	No
Fibrinogen degradation products Y	≤ 10 μ g/mL	No
Fibrinogen degradation products D	10 - 100 μ g/mL	Yes*

*: such high levels of fibrinogen degradation products D do not occur in the target population of suspected VTE patients. They may be observed when patients are subjected to therapeutic lysis with thrombolytic agents (16).

Note: The specificity of the two antibodies used in this assay has not been tested against fibrinogen degradation products E, therefore cross-reactivity cannot be ruled out.

Precision

Three 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), and between lot reproducibility were calculated using this protocol, based on the recommendations of CLSI® document EP5-A2:

Sample	Mean concentration ng/mL (FEU)	Repeatability		Between lot reproducibility	
		Standard deviation	CV (%)	Standard deviation	CV (%)
Sample 1	277.97	6.88	2.5	18.25	6.6
Sample 2	544.14	11.05	2.0	32.13	5.9
Sample 3	7,788.88	113.83	1.5	468.18	6.0

Comparison with another test method

Study 1:

328 fresh citrated plasmas from D-dimer samples coming from the laboratory routine activity of one European site and two North American sites, were tested using two lots of VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ and five lots of VIDAS® D-Dimer Exclusion according to the recommendations of CLSI® document EP9-A2. The concentration range of plasma samples investigated is from 58.46 to 9,594.96 ng/mL (FEU). The following results were obtained:

• Passing & Bablok regression and correlation coefficient (r):

Sites		n	Slope	Intercept	r
Europe	Site 1	158	1.20	-41.96	0.991
	Site 2	43	1.15	-10.31	0.988
North America	Site 3	125	1.20	-43.18	0.989
	All	326*	1.19	-34.92	0.987

* 2 statistical outliers were removed from the analysis.

Study 2:

378 citrated plasmas coming from the laboratory routine activity of one European site, were tested using two lots of VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ and two lots of VIDAS® D-Dimer Exclusion according to the recommendations of CLSI® document EP9-A2. The concentration range of plasma samples investigated is from 46.70 to 9,913.53 ng/mL (FEU). The following results were obtained:

• Passing & Bablok regression and correlation coefficient (r):

Site 4 Europe	n	Slope	Intercept	r
	374*	1.09	-29.35	0.991

* 4 statistical outliers were removed from the analysis

In conclusion, these two studies show a mean slope of 1.14 between VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ and VIDAS® D-Dimer Exclusion, with slopes between 1.09 and 1.19 depending on the lots.

Clinical performance

Clinical performance using the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assay in conjunction with a patient's clinical pretest probability to exclude VTE (venous thromboembolism)

A study was performed using 315 frozen clinically characterized samples from patients from previous prospective clinical studies (17, 18).

The overall prevalence of VTE in the total population studied was 23.5% (74/315). The sensitivity, specificity, negative predictive value (NPV) and positive predictive value (PPV) using a clinical cutoff of 500 ng/mL (FEU) are summarized below with the corresponding 95% confidence intervals (CI).

		Patients with suspected VTE		
		Low and intermediate pretest probability n= 303	High pretest probability n= 12	All probabilities n= 315
% Sensitivity (95% CI)	VIDAS® D-Dimer Exclusion II™	100% (94.2 - 100)	100% (73.5 - 100)	100% (95.1 - 100)
	VIDAS® D-Dimer Exclusion	100% (94.2 - 100)	100% (73.5 - 100)	100% (95.1 - 100)
% Specificity (95% CI)	VIDAS® D-Dimer Exclusion II™	35.7% (29.6 - 42.1)	N/A	35.7% (29.6 - 42.1)
	VIDAS® D-Dimer Exclusion	37.8% (31.6 - 44.2)	N/A	37.8% (31.6 - 44.2)
% NPV (95% CI)	VIDAS® D-Dimer Exclusion II™	100% (95.8 - 100)	N/A	100% (95.8 - 100)
	VIDAS® D-Dimer Exclusion	100% (96.0 - 100)	N/A	100% (96.0 - 100)
% PPV (95% CI)	VIDAS® D-Dimer Exclusion II™	28.6% (22.7 - 35.1)	100% (73.5 - 100)	32.3% (26.3 - 38.8)
	VIDAS® D-Dimer Exclusion	29.2% (23.2 - 35.9)	100% (73.5 - 100)	33.0% (26.9 - 39.6)

* 95% CI calculated using the exact method

Agreement study between the two methods (VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ and VIDAS® D-Dimer Exclusion) **and the clinical status** are presented below (n= 315 frozen samples):

VIDAS® D-Dimer Exclusion II™	VIDAS® D-Dimer Exclusion	Total samples	Clinical Status	
			NEGATIVE (NO VTE)	POSITIVE (VTE)
< 500 ng/mL	< 500 ng/mL	85	85	0
	≥ 500 ng/mL	1	1	0
≥ 500 ng/mL	< 500 ng/mL	6	6	0
	≥ 500 ng/mL	223	149	74
	Total samples	315	241	74

There is no significant difference at a risk level of 5% between the sensitivity and the specificity of the two assays.

A retrospective analysis using the age-adjusted cutoff was performed on patients suspected of pulmonary embolism (PE) with low and intermediate pretest probability. Among these patients, the observed prevalence of PE was 20.5% (62/303). The sensitivity, specificity, negative predictive value (NPV) and positive predictive value (PPV) using the age-adjusted clinical cutoff are summarized below with the corresponding 95% confidence intervals (CI).

	Patients with suspected EP
	Low and intermediate pretest probability n=303
% Sensitivity (95% CI*)	100% (94.2 - 100)
% Specificity (95% CI*)	40.2% (34.3 - 46.5)
% NPV (95% CI*)	100% (96.3 - 100)
% PPV (95% CI*)	30.1% (24.2 - 36.7)

* IC: Confidence Interval

For the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assay, the specificity using the age adjusted cutoff is significantly higher than the specificity using the clinical cutoff at 500 ng/mL (FEU). There is no significant difference at a risk level of 5%, between the sensitivity using the age adjusted cutoff and the sensitivity using the clinical cutoff at 500 ng/mL (FEU).

Clinical performance using the VIDAS® D-Dimer Exclusion assay in combination with a patient's pretest probability

❖ To exclude DVT

Frozen samples collected from patients enrolled in a **multi-center prospective cohort study** (19) were used to validate the diagnostic utility of VIDAS® D-Dimer Exclusion to exclude a diagnosis of deep vein thrombosis (DVT). Consecutive eligible outpatients (n= 556) with a first suspected DVT episode were evaluated at three hospitals during the course of the study. Using the Wells model to estimate the probability of DVT, patients were classified as having a high, intermediate or low pretest probability (PTP) of DVT (20).

The VIDAS® D-Dimer Exclusion assay was performed without knowledge of the PTP assessment results and the clinical outcome of the patients from which the samples were derived. A clinical cutoff level of 500 ng/mL (FEU) was used.

A D-dimer result ≥ 500 ng/mL (FEU) was considered positive and a result < 500 ng/mL (FEU) was considered negative. During the study, patients were grouped according to PTP. Patients with a negative D-dimer test result and a low or intermediate PTP of DVT underwent no further diagnostic testing and were followed up for 3 months for development of DVT. Patients with a positive D-dimer test result or high PTP underwent serial compression ultrasonography.

The overall prevalence of DVT among the total population studied was 10.1% (56/556). One sample from the original study was not tested due to volume limitations. The sensitivity, specificity and negative predictive value (NPV) of the VIDAS® D-Dimer Exclusion assay using a clinical cutoff of 500 ng/mL (FEU) are summarized below with the corresponding 95% confidence intervals (CI).

	Patients with suspected DVT			
	Low pretest probability n= 295	Intermediate pretest probability n= 189	High pretest probability n= 71	All probabilities n= 555
% Sensitivity (95% CI)	100% (81.5% – 100%)	100% (80.5% – 100%)	100% (83.9%– 100%)	100% (93.6%– 100%)
% Specificity (95% CI)	39.7% (33.9%– 45.7%)	26.7% (20.3% – 34.0%)	16.0% (7.2% – 29.1%)	32.9 % (28.8% – 37.2 %)
% NPV (95% CI)	100% (96.7% – 100%)	100% (92.3% – 100.0%)	100% (63.1% – 100%)	100% (97.8% – 100%)

❖ **To exclude PE**

The diagnostic utility of VIDAS® D-Dimer Exclusion to exclude a diagnosis of PE was validated in a **multi-center prospective cohort study** using samples from 1,290 consecutive patients presenting to the emergency department with suspected PE (21). Of these 1,290 patients enrolled, 325 were eventually excluded for a total of 965 patients included in the final analysis.

All patients enrolled were classified, using the Geneva score, as having a high, intermediate or low pretest probability (PTP) of PE (22).

D-dimer results \geq the cutoff value of 500 ng/mL (FEU) were considered positive, and results $<$ 500 ng/mL (FEU) were considered negative.

All patients with negative D-dimer test results received no treatment and underwent no further diagnostic testing. Patients with positive D-dimer test results were further evaluated using ultrasound, helical CT scan, and/or angiography. These patients were then treated based upon the results of the additional diagnostic testing. All patients were followed up for a period of three months to evaluate any possible venous thromboembolic events (DVT or PE) and episodes of bleeding.

The overall prevalence of PE among the total population studied was 23.0% (222/965). The sensitivity, specificity, negative predictive value (NPV) and positive predictive value (PPV) using a clinical cutoff value of 500 ng/mL (FEU) are summarized below with the corresponding 95% confidence intervals (CI).

	Patients with suspected PE		
	Low and intermediate pretest probability n= 891	High pretest probability n= 74	All probabilities n= 965
% Sensitivity (95% CI)	100% (97.7% - 100%)	100% (94.3% - 100%)	100% (98.4% - 100%)
% Specificity (95% CI)	37.6% (34.0 % - 41.2%)	45.5% (16.7% - 76.6%)	37.7% (34.2% - 41.3%)
% NPV (95% CI)	100% (98.7% -100%)	100% (47.8% - 100%)	100% (98.7% - 100%)
% PPV (95% CI)	25.8% (22.4% - 29.5%)	91.3% (82.0% - 96.7%)	32.4% (28.9% - 36.1%)

A retrospective analysis using the age-adjusted cutoff was performed on patients suspected of pulmonary embolism (PE) with low and intermediate pretest probability. Among these patients, the observed prevalence of PE was 17.8% (159/891). The sensitivity, specificity, negative predictive value (NPV) and positive predictive value (PPV) using the age-adjusted clinical cutoff, are summarized below with the corresponding 95% confidence intervals (CI)

	Patients with suspected EP
	Low and intermediate pretest probability n=891
% Sensitivity (95% CI*)	98.1% (94.6 - 99.6)
% Specificity (95% CI*)	45.4% (41.8 - 49.0)
% NPV (95% CI*)	99.1% (97.4 - 99.8)
% PPV (95% CI*)	28.1% (24.5 - 31.9)

* CI: Confidence Interval

For the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assay, the specificity using the age-adjusted cutoff is significantly higher than the specificity using the clinical cutoff at 500 ng/mL (FEU). There is no significant difference at a risk level of 5%, between the sensitivity using the age-adjusted cutoff and the sensitivity using the clinical cutoff at 500 ng/mL (FEU).

Clinical performance of the VIDAS® D-Dimer Exclusion assay and the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assay in conjunction with a patient's pretest probability to exclude PE (Pulmonary Embolism)

A multi-center prospective study (19 hospitals) was conducted, including 3,324 patients with suspected PE (10). The prevalence of PE among the studied population was 19% (631/3324).

D-dimer was measured using the VIDAS® D-Dimer Exclusion and VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assays on 1,345 patients with a non-high or unlikely pretest probability of PE.

Patients with a non-high or unlikely pretest probability of PE and a D-dimer result below their age-adjusted cutoff, received no treatment and underwent no further diagnostic testing. Failure rate in these patients was assessed by a 3-month follow-up period with all suspected venous thromboembolic events and deaths adjudicated by an independent committee.

In this study, for the VIDAS® D-Dimer Exclusion and the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assays, the PE exclusion rate increased significantly from 31.4% (423/1345) with the cutoff at 500 ng/mL, to 41.1% (553/1345) with the age-adjusted cutoff, which represents a relative increase of 30.7%. For the VIDAS® D-Dimer Exclusion and the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assays, the 3-month thromboembolic failure rate in patients with D-dimer concentrations > 500 ng/mL but < the age-adjusted cutoff, was 0.0% (95% CI: [0.0 – 2.9]).

Clinical performance of the VIDAS® D-Dimer Exclusion assay and the VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assay in the context of the use of the HERDOO2 clinical decision rule

The HERDOO2 clinical decision rule was validated during an international prospective multi-center clinical study (44 hospitals) (15). 2,785 patients having suffered from unprovoked VTE and having received oral anticoagulants for 5 to 12 months, were recruited (1,572 men and 1,213 women). The HERDOO2 score was calculated for the women in order to differentiate between those with a high or low risk of recurrent VTE. D-dimer measurement was performed using the VIDAS® D-Dimer Exclusion or VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ assay while the patients were still taking anticoagulants.

Thanks to the HERDOO2 clinical decision rule, 591 of the 631 women classified as having a low risk of recurrence were able to discontinue anticoagulant therapy. The one-year VTE recurrence rate in women having suffered from unprovoked VTE and having stopped oral anticoagulant therapy after 5 to 12 months was 3.0% (CI 95%: [1.8 ; 4.8]). This recurrence rate is lower than the recommended 5% defined by the ISTH (14).

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable material 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. DEMPFLÉ CE. Validation, calibration, and specificity of quantitative D-dimer assays. *Semin Vasc Med.* 2005;5:315-20.
2. MOSESSON MW. On behalf of the Subcommittee on Fibrinogen of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. Terminology for macromolecular derivatives of crosslinked fibrin. *Thromb Haemost.* 1995;73:725-6.
3. BOCKENSTEDT P. D-dimer in venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2003;349:1203-4.
4. DI NISIO M, SQUIZZATO A, RUTJES AW, BÜLLER HR, ZWINDERMAN AH, BOSSUYT PM. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2007;5:296-304.
5. RIGHINI M, PERRIER A, DE MOERLOOSE P, BOUNAMEAUX H. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. *J Thromb Haemost.* 2008;6:1059-71.
6. TEN CATE-HOEK AJ, PRINS MH. Management studies using a combination of D-dimer test result and clinical probability to rule out venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2005;3:2465-70.
7. CARRIER M, RIGHINI M, DJURABI RK, HUISMAN MV, PERRIER A, WELLS PS, RODGER M, WUILLEMIN WA, LE GAL G. VIDAS D-dimer in combination with clinical pre-test probability to rule out pulmonary embolism. A systematic review of management outcome studies. *Thromb Haemost.* 2009;101:886-92.
8. GOODACRE S, SAMPSON F, STEVENSON M, WAILOO A, SUTTON A, THOMAS S, LOCKER T, RYAN A. Measurement of the clinical and cost-effectiveness of non-invasive diagnostic testing strategies for deep vein thrombosis. *Health Technol Assess.* 2006;10:1-168, iii-iv.
9. RIGHINI M, NENDAZ M, LE GAL G, BOUNAMEAUX H, PERRIER A. Influence of age on the cost-effectiveness of diagnostic strategies for suspected pulmonary embolism. *J Thromb Haemost.* 2007;5:1869-77.
10. RIGHINI M, et al. Age-adjusted D-dimer cutoff levels to rule out pulmonary embolism: the ADJUST-PE study. *JAMA.* 2014;311:1117-24.
11. BRUINSTROOP E, VAN DE REE MA, HUISMAN MV. The use of D-dimer in specific clinical conditions: a narrative review. *Eur J Intern Med.* 2009;20:441-6.
12. HOUDIJK W. Proper observation of patient-related factors is an important determinant in the use of the D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism in the ED. *Am J Emerg Med.* 2007;25:255-256.
13. RODGER MA, et al. Identifying unprovoked thromboembolism patients at low risk for recurrence who can discontinue anticoagulant therapy. *CMAJ.* 2008;179:417-26.
14. KEARON C, IORIO A, PALARETI G; Subcommittee on Control of Anticoagulation of the SSC of the ISTH. Risk of recurrent venous thromboembolism after stopping treatment in cohort studies: recommendation for acceptable rates and standardized reporting. *J Thromb Haemost.* 2010;8:2313-5.
15. RODGER et al. Validating the HERDOO2 rule to guide treatment duration for women with unprovoked venous thrombosis: multinational prospective cohort management study. *BMJ.* 2017 Mar 17;356:j1065.
16. WALKER JB, NESHEIM ME. The molecular weights, mass distribution, chain composition, and structure of soluble fibrin degradation products released from a fibrin clot perfused with plasmin. *J Biol Chem.* 1999; 274: 5201-12.
17. PERRIER A, et al. Multidetector-row computed tomography in suspected pulmonary embolism. *N Engl J Med.* 2005;352:1760-8.
18. RIGHINI M, et al. Diagnosis of pulmonary embolism by multidetector CT alone or combined with venous ultrasonography of the leg: a randomised non-inferiority trial. *Lancet.* 2008;371:1343-52.
19. BATES S M. et al. A diagnostic strategy involving a quantitative latex D-Dimer assay reliably excludes deep venous thrombosis. *Ann Intern Med.* 2003;138: 787-94.
20. WELLS PS, et al. Value of assessment of pre-test-probability of deep vein thrombosis in clinical management. *Lancet.* 1997; 350: 1795-8.
21. PERRIER A, et al. Diagnosing pulmonary embolism in outpatients with clinical assessment, D-Dimer measurement, venous ultrasound, and helical computed tomography: a multicenter management study. *Am J Med.* 2004; 116:291-9.
22. WICKI J, et al. Assessing clinical probability of pulmonary embolism in the emergency ward: a simple score. *Arch Intern Med.* 2001;161:92-7.

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

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 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

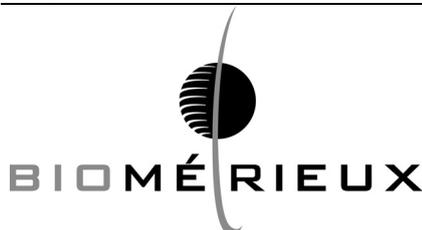
Note: *Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history.*

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/01	14219E	Administrative	INDEX OF SYMBOLS REVISION HISTORY
		Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS WARNINGS AND PRECAUTIONS
2015/06	14219F	Technical	CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) – RECONSTITUTION OF REAGENTS INSTRUCTIONS FOR USE
2017/03	21967A	Technical	REFERENCE PRODUCT SUMMARY AND EXPLANATION PRINCIPLE CONTENT OF THE KIT (60 TESTS) - RECONSTITUTION OF REAGENTS MATERIALS AND DISPOSABLES REQUIRED BUT NOT PROVIDED WARNINGS AND PRECAUTIONS SAMPLES INSTRUCTIONS FOR USE QUALITY CONTROL RESULTS AND INTERPRETATION LIMITATIONS OF THE METHOD REFERENCE VALUES PERFORMANCE LITERATURE REFERENCES LIMITED WARRANTY

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.

CLSI is a trademark belonging to Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

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® D-Dimer Exclusion II™ (DEX2)**IVD**

VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ yra automatizuotas kiekybinis tyrimas, taikomas VIDAS® grupės priemonėms, siekiant atlikti fibrino degradacijos produktų (FbDP) žmogaus plazmoje (natrio citratas) fermentų imunologinį tyrimą naudojant ELFA technologiją (Imunofermeninis fluorescencinis metodas).

VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ yra skirtas naudoti kartu su klinikiniais prieštyriminiais tikimybės nustatymo modeliais, siekiant **atmesti venų trombozės (DVT) ir plaučių embolijos (PE) tikimybę** pacientams, kuriems įtariami šie susirgimai.

VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ skirtas naudoti priimant venų tromboembolijos (VTE) rizikos vertinimo moterims, kurioms buvo nustatyta pirmoji idiopatinė VTE, HERDOO2 klinikinį sprendimą (CDR). Išskaidant pavojų šiuo CDR, padedama nustatyti geriamojo antikoagulianto terapijos trukmę.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Fibrino degradacijos produktai (FbDP), labai heterogeniški tirpūs fragmentai, yra dviejų, tuo pačiu metu vykstančių fiziologinių reiškinių rezultatas (1):

- koaguliacija, kai fibrinogenas yra tirštinamas trombinų ir XIIIa faktoriaus, kad susiformuotų stabilusis fibrinas,
- fibrinolizė, kai fibrino krešulį plazminas skystina į tirpius fragmentus. D-dimeras yra terminalinis šio proceso produktas (2).

Nors FbDP skiriasi savo dydžiu, jie yra charakterizuojami kaip turintys vieną ar daugiau D-dimero epitopų (1, 2). Todėl FbDP yra vadinami D-dimerais. D-dimer tyrimas gali būti atliekamas tiesiogiai plazmoje, nes jis naudoja monokloninius antikūnus, kurie gali identifikuoti fibrinui specifinius epitopus, išvengiant kryžminio reaktyvumo su fibrinogenu ar jo degradacijos produktais (1).

D-dimer atspindi stabiliojo fibrino buvimą ir yra naudingas žymuo diagnozuojant venų tromboemboliją (VTE) (3). Kiekybiniai D-dimer tyrimai yra paremti ELISA technologija ir turi aukštą jautrumą trombam ir yra ypatingai naudingi atmetant venų tromboembolinį susirgimą (4, 5).

Kartu su prieštyriminiu tikimybės nustatymu, jei D-dimer koncentracija yra žemiau nustatytos ribos (nustatytos pagal griežtus klininius tyrimus), yra įmanoma saugiai atmesti giliųjų venų trombozės (DVT) ir plaučių embolijos (PE) diagnozę (5–7). Klinikinė ELISA tyrimų nauda yra ta, kad diagnozuojant DVT ir PE, papildomų tyrimų skaičius bei diagnozės nustatymo kaina sumažėja (8, 9).

Pacientams, kuriems įtariama plaučių embolija, nuo amžiaus priklausiančios ribinės vertės naudojimas, lyginant su viena klinicine riba, leidžia sumažinti medicininių vizualizavimų skaičių (10).

D-dimer nėra specifiškas DVT/PE, o padidėjęs lygis yra pastebimas prie daugelio kitų būklių, kai atsiranda koaguliacijos ir fibrinolizės aktyvacija (pvz., operacija, trauma, infekcija, uždegimas, nėštumas, vėžys) (3). Šiais atvejais D-dimeras yra mažiau naudingas, atmetant DVT ar PE hospitalizuotiems pacientams dėl daugelio gretutinių susirgimų, lemiančių padidėjusį D-dimero lygį (5, 11). Esant tam tikroms sąlygoms, gali atsirasti žemesni nei tikėtina D-dimero rezultatai ir tai gali klaidingai nulemti neigiamus rezultatus. Todėl nėra saugu naudoti D-dimer DVT/PE atmetimui pacientams su aukšta prieštyrimine tikimybe, ilgai besitęsiančiais DVT/PE simptomais (ilgiau nei savaitę) ar pacientams, kuriems jau yra paskirtas gydymas antikoaguliantais (11, 12).

VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ tyrimas yra dalis HERDOO2 klinikinio sprendimo taisyklės, pagal kurią buvo nustatyta, kad moterims, sergančioms idiopatine VTE, nebevertant geriamųjų antikoagulantų po trumpalaikio gydymo VTE pasikartojimo rizika yra gana maža (13).

HERDOO2 taisyklė numato, kad tai taikoma tais atvejais, kai yra tik vienas arba nei vieno iš šių keturių kriterijų: 1) **H**iperpigmentacija, **E**dema arba **R**audonis (HER) tiriant kojas; 2) **D**-dimer ≥ 250 ng/ml; 3) **N**utukimas (kūno masės indeksas ≥ 30 kg/m²); 4) **V**yresnis amžius (≥ 65 metai).

Tarptautinės trombozės ir hemostazės draugijos (ISTH) nuomone, nebevertoti antikoagulantų yra saugu, kai po gydymo antikoaguliantais sustabdymo VTE rizika yra mažesnė nei 5 % per vienerius metus (14).

REVERSE II tyrimas patvirtino, kad VTE pasikartojimo per vienerius metus dažnis buvo žemiau ISTH rekomenduojamo lygio, nes šiame tyrime moterų, kurioms buvo būdingi pirmasis idiopatinis VTE ir 0 arba 1 HERDOO2 kriterijai, pasikartojimo dažnis buvo 3,0 % (15).

PRINCIPAS

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

Kietos fazės antgalis (SPR®) tarnauja kaip kieta fazė su anti-FbDP monokloniniu antikūnu, adsorbuotu ant antgalio paviršiaus, ir kaip išpilstymo priemonė. Vienkartinio naudojimo reagentų juostelėje esantys reagentai yra paruošti naudoti ir iš anksto išpilstyti.

Visi reakcijos veiksmai instrumento atliekami automatiškai. Reakcijos terpė kelis kartus cirkuliuoja į SPR® atgalį ir iš jo.

Pirmiausia, mėginys yra paimamas su SPR®, atskiedžiamas, ir tada keletą kartų keliauja į SPR® ir atgal. Antigenas prisijungia prie anti-FbDP imunoglobulinų, padengtų ant SPR®. Nesusirišę komponentai yra pašalinami per plovimo fazę.

Antrosios fazės metu konjugatas, kuriame yra šarminė fosfataze žymėtas anti-FbDP monokloninis antikūnas, susiriša su antigenu, padengtu ant SPR®, taip suformuojant „sumuštinį“.

Nesusirišę komponentai yra pašalinami plovimo fazės metu. Paskutiniame aptikimo etape substratas (4-metilumbeliferilo fosfatas) įtraukiamas ir išleidžiamas iš SPR®. Konjugato fermentas katalizuoja šio substrato hidrolizę iki fluorescuojančio produkto (4-metilumbeliferono), kurio fluorescencija yra matuojama 450 nm ilgio bangomis. Fluorescencijos intensyvumas yra proporcingas mėginyje esančio antigeno koncentracijai.

Tyrimo pabaigoje instrumentas automatiškai apskaičiuoja rezultatus pagal atmintyje išsaugotą kalibravimo kreivę. Rezultatus galima atspausdinti.

RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REGENTŲ PARUOŠIMAS:

60 DEX2 strypelių	STR	Paruošti naudojimui.
60 DEX2 SPR antgalių 2 x 30	SPR®	Paruošti naudojimui. SPR antgalių vidinė pusė padengta monokloniniais anti-FbDP imunoglobulinais (pelės).
<u>DEX2 Kalibratorius:</u> S1 kalibratorius 2 x 2 ml (liofilizuotas)	S1	Atskieskite 2 ml distiliuoto vandens. Palaukite 5 minutes ir išmaišykite. Po skiedimo kalibratorius yra stabilus 28 dienas, esant 2–8 °C temperatūrai, arba iki galiojimo datos pabaigos, esant -25 ± 6 °C temperatūrai (atskiedus nedelsiant užšaldykite). Galimi 5 užšaldymo/atšildymo ciklai. FbDP gautas iš žmogaus plazmos*, atskiestas glicino-albumino jaučio buferiu + konservantai. MLE duomenys nurodo koncentraciją ng/ml vienetais („Kalibratoriaus (S1) dozės vertė“) ir pasiklovimo intervalą „Santykinė fluorescencinė vertė“ („Kalibratoriaus (S1) RFV diapazonas“).
<u>DEX2 Kontrolės:</u> C1 kontrolė 2 x 2 ml (liofilizuota) C2 kontrolė 2 x 2 ml (liofilizuota)	C1 C2	Atskieskite 2 ml distiliuoto vandens. Palaukite 5 minutes ir išmaišykite. Po skiedimo kontrolės yra stabilios 28 dienas, esant 2–8 °C temperatūrai, arba iki galiojimo datos pabaigos, esant -25 ± 6 °C temperatūrai (atskiedus nedelsiant užšaldykite). Galimi 5 užšaldymo/atšildymo ciklai. FbDP gautas iš žmogaus plazmos*, atskiestas glicino-albumino jaučio buferiu + konservantai. MLE duomenys nurodo pasiklovimo intervalą ng/ml (FEU) vienetais („Kontrolinės medžiagos C1 dozės vertės intervalas“ arba „Kontrolinės medžiagos C2 dozės vertės intervalas“).
DEX2 skiediklis 1 x 5 ml (skystis)	R1	Paruošti naudojimui. TRIS buferis (0,05 mol/l pH 7,4) + veršiuko serumas + konservantai.
Tyrimo kalibravimui reikalingos gamyklinių duomenų specifikacijos: • MLE kortelė (Master Lot Entry) teikiama su rinkiniu. arba • 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 ŽIV1, ŽIV2 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 monokloniniais anti-FbDP imunoglobulinais (pelės). Kiekvienas SPR® yra identifikuojamas identifiukuotas DEX2 kodu. Iš pakuotės paimkite tik reikiamą SPR® skaičių ir **po atidarymo sandariai ją uždarykite.**

Reagento strypelis

Strypelis susideda 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 lengviau įpilti mėginio. Paskutinis kiekvienos juostelės šulinėlis yra kiuvetė, kurioje atliekamas fluorometrinis matavimas. Juostelės centrinėje dalyje esančiuose šulinėliuose yra įvairių tyrimui atlikti reikalingų reagentų.

DEX2 strypelio aprašas

Šulinėliai	Reagentai
1	Mėginio šulinėlis.
2–3–4	Tušti šulinėliai.
5	Konjugatas: šarminė fosfataze žymėti anti-FbDP monokloniniai imunoglobulinai (pelės) TRIS buferyje (0,05 mol/l pH 6,5) + arklio serumas + konservantai (400 µl).
6–7–9	Praplovimo buferis: TRIS buferis (0,05 mol/l, pH 7,3) + cheminiai stabilizatoriai + konservantai (600 µl).
8	Skiediklis: TRIS buferis (0,05 mol/l, pH 7,4) + veršiuko serumas + baltymas ir cheminiai stabilizatoriai + konservantai (600 µl).
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 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

- Vienkartinė pipetė ir (arba) mikropipetės, skirtos reikiamiems kiekiams dozuoti.
- Vienkartinės pirštinės be talko.
- Dėl kitų specifinių medžiagų ir vienkartinių priemonių žiūrėkite instrumento naudotojo instrukcijas.
- VIDAS® grupės prietaisai.

ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Skirta tik *in vitro* diagnostikai.
- Skirta tik profesionaliam kvalifikuotų laboratorijos darbuotojų naudojimui klinikinėse laboratorijose.
- Šiame rinkinyje yra žmogaus kilmės produktų. Pirminėms medžiagoms, iš kurių buvo gautos kontrolės medžiagos ir kalibratorius, atlikus ŽIV1, ŽIV2, HCV, ir HbsAg tyrimus, gauti neigiami rezultatai. Joks žinomas analizės metodas negali visiškai garantuoti, kad perduodamų patogeninių medžiagų nėra. Todėl rekomenduojama šiuos produktus laikyti galimai užkrečiamais ir dirbant imtis įprastų apsaugos priemonių (žr. naujausią PSO Laboratory Biosafety Manual (Laboratorijų biologinės saugos vadovas) Ženevos leidimą).
- Šiame rinkinyje yra gyvūninės kilmės produktų. Sertifikuotos kilmės ir/ar sanitarinės gyvūnų būklės žinios negali visiškai garantuoti pernešamų patogeninių agentų nebuvimo. Todėl rekomenduojama šiuos produktus laikyti galimai užkrečiamais ir dirbant su jais imtis įprastų atsargumo priemonių (nenurodyti, neįkvėpti).
- Nenaudokite SPR®, jei SPR® pakuotė yra pradurta arba nesandari.
- Nenaudokite akivaizdžiai sugadintų juostelių (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 imunofermenčių tyrimų neteisingus rezultatus.
- Rinkinio reagentuose yra natrio azido, kuris reaguoja su švininiais ar variniais vamzdžiais ir gali sudaryti sprogius metalų azido junginius. Jeigu skystis, kurio sudėtyje yra natrio azido, išpilamas į kanalizacijos sistemą, jį būtina nuplauti dideliu kiekiu vandens, kad nesikauptų šie junginiai.
- **10 šulinėlyje esančio substrato sudėtyje yra dirginančios medžiagos (6,6 % dietanolamino). Skaitykite pirmiau pateiktas pavojingumo frazes „H“ ir atsargumo frazes „P“.**
- Išsipylusius skysčius būtina kruopščiai nuvalyti, prieš tai juos nukenkmsminus skystu detergentu arba buitėje

naudojamu balikliu, kurio sudėtyje yra mažiausiai 0,5 % natrio hipochlorito. Norėdami sužinoti, kaip valyti ant prietaiso išsipylusius ar į jį patekusius skysčius, žr. naudotojo vadovą. Neapdorokite autoklave tirpalų, kurių sudėtyje yra baliklio.

- Prietaisus būtina reguliariai prižiūrėti (žr. Naudotojo ir prevencinių techninės priežiūros veiksmų vadovą).

LAIKYMO SĄLYGOS

- Laikykite VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ rinkinį 2–8 °C temperatūroje.
- **Reagentų neužšaldykite, išskyrus atskiestą kalibratorių ir kontrolės medžiagą.**
- **Visus nepanaudotus reagentus laikykite 2–8 °C temperatūroje.**
- Atidarę rinkinį patikrinkite, ar SPR® pakuotė tinkamai užsandarinta 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 etiketėje nurodytos galiojimo datos. Specialias laikymo sąlygas žr. rinkinio sudėties lentelėje.

MĖGINIAI

Mėginio tipas ir ėmimas

- Paimkite kraują švaria venos punkcija **su trinatricio citratu** (0,109 mol/l / 3,2 % arba 0,129 mol/l / 3,8 %) ar **CTAD** (natrio citratas, teofilinas, adenosinas ir dipiridamolis).
- Dėl mėgintuvėlių naudojimo žr. gamintojo rekomendacijas.
- Siekiant išvengti mikrotrombų mėginyje, nerekomenduojama imti kraują naudojant švirkštą.

Mėginio paruošimas

Rekomendacijos dėl mėginių paruošimo pateikiamos šiame dokumente WHO/DIL/LAB/99.1.

Dėl mėgintuvėlių naudojimo žr. mėgintuvėlių gamintojo naudojimo instrukcijas.

Prieštyriminis etapas, įskaitant kraujo mėginių paruošimą, yra pagrindinis pirmasis žingsnis atliekant medicininę analizę.

Pagal Geros Laboratorijos Praktiką, šį žingsnį laboratorijos darbuotojas atlieka prisiimdamas visa atsakomybę.

Mėginio stabilumas

Plazmos mėginius galima laikyti 2–8 °C temperatūroje užkimsčiuose mėgintuvėliuose iki 3 dienų. Jeigu juos reikia laikyti ilgesnį laiką, plazmos mėginius galima užšaldyti -25 ± 6 °C temperatūroje 6 mėnesius, atliekant 2 užšaldymo / atšildymo ciklus.

Norėdami atlikti tyrimus, plazmą atšildykite 37 °C temperatūroje.

Su mėginiu susiję trukdžiai

Interferencija buvo tirta pagal CLSI® dokumento EP7-A2 rekomendacijas.

Nustatyta, kad nė vienas iš toliau nurodytų veiksmų neturėjo įtakos šiam tyrimui:

- hemolizė (po hemoglobino įdėjimo iki 300 µmol/l (monomeras)),

- lipemija (po lipidų įdėjimo iki 30 g/L trigliceridų ekvivalento),
 - bilirubinemija (po bilirubino įdėjimo iki 537 µmol/L)
 - reumatoidinis faktorius: iki 400 IU/mL (tarptautinių vienetų mililitre).
 - žmogaus albuminas: iki 60 g/L.

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

51 analizės įtaka buvo aptikta *in vitro*: interferencija nepastebėta.

Vaistas	Tirta koncentracija	Vaistas	Tirta koncentracija	Vaistas	Tirta koncentracija
Acetaminofenas	20 mg/dl	Ciklosporinas A	0,4 mg/dl	Ličio chloridas	14 mg/dl
Acetilsalicilo rūgštis = aspirinas	65 mg/dl	Dabigatrano eteksilatatas	18 mg/dl	L-Tiroksinas	0,06 mg/dl
Alopurinolis	4 mg/dl	Dekstranas 75	2 500 mg/dl	Nikotinas	0,1 mg/dl
Amikacino sulfatas	10,4 mg/dl	Diazepamas	0,5 mg/dl	Nifedipinas	0,04 mg/dl
Ampicilinas	5 mg/dl	Digoksinas	0,0006 mg/dl	Penicilino G natrio druska	2 500 U/dl
Apiksabano	0,6 mg/dl	D-L metil dopa hidrochloridas	1,8 mg/dl	Pentobarbitalis	9 mg/dl
Askorbo rūgštis (vitaminas C)	6 mg/dl	Dopamino hidrochloridas	0,1 mg/dl	Fenobarbitalis	10 mg/dl
Atenololis	1 mg/dl	Edoksabano	3,6 mg/dl	Fenitoinas	5 mg/dl
Kafeinas	6 mg/dl	Eritromicinas	6 mg/dl	Primidonas	4 mg/dl
Kaptoprilis	0,5 mg/dl	Etanolis	400 mg/dl	Propranololio hidrochloridas	0,2 mg/dl
Karbamazepinas	3 mg/dl	Etosuksimidis	25 mg/dl	Rivaroksabanas	1,2 mg/dl
Chloramfenikolis	5 mg/dl	Furosemidas	6 mg/dl	Teofilinas	4 mg/dl
Chlordiazepoksido hidrochloridas	1,1 mg/dl	Gentamicino sulfatas	1 mg/dl	Šlapalas	500 mg/dl
Chlorpromazino hidrochloridas	0,2 mg/dl	Ličio heparinas	300 U/dl	Šlapimo rūgštis	24 mg/dl
Cimetidinas	2 mg/dl	Natrio heparinas	300 U/dl	Valproinės rūgšties natrio druska	60 mg/dl
Cinarizinas	3 mg/dl	Ibuprofenas	50 mg/dl	Verapamilio hidrochloridas	0,2 mg/dl
Kreatininas	30 mg/dl	Lidokainas	1,2 mg/dl	Varfarinas	1 mg/dl

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Išsamias instrukcijas galite rasti naudotojo vadove.

VIDAS® tyrimo protokolo pakeitimo (PTC) duomenų ir MLE duomenų skaitymas

Kai tyrimą naudojate pirmą kartą

Naudodami išorinį prietaiso brūkšninių kodų skaitytuvą nuskaitykite brūkšninius kodus (PTC ir MLE) toliau nurodyta tvarka.

1. Priklausomai nuo naudojamo prietaiso, nuskaitykite pakuotės lapelio pabaigoje esantį (-čius) arba atsisiųstą (-us) iš svetainės www.biomerieux.com/techlib PTC brūkšninį (-ius) kodą (-us). Nuskaičius brūkšninius kodus galima perkelti VIDAS® PTC protokolo duomenis į prietaiso programinę įrangą, kad būtų galima atlikti atnaujinimą.

2. Nuskaitykite MLE duomenis, pateiktus rinkinyje arba nurodytus ant dėžutės etiketės.

Atidarant naują reagentų partiją:

Prieš pradėdami tyrimą būtina išoriniu prietaiso brūkšninių kodų skaitytuvu nuskaityti ant dėžutės etiketės esančius MLE duomenis.

Pastaba. Pagrindinius kiekvienos partijos duomenis reikia įvesti tik vieną kartą.

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

Kalibravimas

Kiekvieną kartą, atidarant naujos serijos reagentus ir įvedus serijos duomenis, būtina atlikti kalibravimą, tam

naudojant rinkinyje pateikiamą **kalibratorių**. 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.

Kalibratorius, identifiukuotas kaip S1, turi būti tiriamas **dvigubu pakartojimu** (žr. Naudotojo instrukciją).

Kalibratoriaus vertė turi būti nustatytose RFV (santykinė fluorescencijos vertė) ribose. Kitu atveju kalibruokite iš naujo.

Rinkinio kontrolės medžiagos

Kiekviename VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ pateikiamos dvi kontrolės medžiagos. Norint užtikrinti, kad reagentų savybės nepasikeistų, šias kontrolės medžiagas reikia naudoti nedelsiant, atidarius rinkinį. Naudojantis šiomis kontrolės medžiagomis, taip pat reikia patikrinti kiekvieną kalibravimą. Prietaisas galės patikrinti kontrolės medžiagų vertes tik tuomet, kai jos bus nustatytos kaip C1 ir C2.

Rezultatų negalima patvirtinti, jei kontrolės medžiagų vertės skiriasi nuo tikėtinų verčių.

Procedūra

1. **Paimkite rinkinį iš laikymo 2–8 °C temperatūroje vietos ir išimkite reikiamą reagentų skaičių. SPR® pakuotę kruopščiai atidarykite ir gražinkite rinkinį į 2–8 °C temperatūrą. Reagentus galima naudoti iškart.**
2. Kiekvienam tiriamajam mėginiui, kontrolės medžiagai ir kalibratoriui naudokite vieną DEX2 strypelį ir vieną DEX2 SPR® iš rinkinio. Išėmę reikalingas SPR® priemonės, įsitikinkite, kad laikymo pakuotę sandariai uždarėte.
3. Prietaise tyrimas žymimas kodu DEX2. Kalibratorius turi būti identifiukuotas kaip S1 ir tiriamas du kartus. Jei tiriame kontrolės medžiagas, jos turi būti identifiukuotos kaip C1 ir C2 bei tiriamos atskirai.
4. Jei reikia, mėginius išgryninkite centrifugavimo būdu.
5. Norėdami pagerinti atkuriamumo rezultatus (plazmai, atskirtai nuo granulės), maišykite kalibratorių, kontrolės medžiagas ir mėginius naudodami sukurinio tipo kratiklius.
6. Norėdami gauti optimalius rezultatus, žr. visas skyriaus **MĖGINIAI** pastraipas.
7. Prieš dozuodami įsitikinkite, kad mėginiuose, kalibratoriuose, kontrolės medžiagose ir skiedikliuose nebūtų burbuliukų.
8. Šiam tyrimui atlikti kalibratoriaus, kontrolės medžiagos ir mėginio tiriamoji dalis yra 200 µl.
9. Įstatykite DEX2 SPR antgalius ir DEX2 strypelius į atitinkamas prietaiso vietas. Patikrinkite, ar sutampa spalvinės etiketės su tyrimo kodu, nurodytu ant SPR® ir STR.
10. **Nedelsiant pradėkite tyrimą** (žiūrėkite naudotojo vadovą). Prietaisas automatiškai atlieka visus tyrimo etapus.
11. Po išpilstymo buteliukus užkimškite ir gražinkite į rekomenduojamą temperatūrą.
12. Tyrimo rezultatai yra gaunami po 20 minučių. Užbaigę tyrimą išimkite iš prietaiso SPR® ir STR.
13. Panaudotas SPR® ir STR išmeskite į atitinkamą talpyklą.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Papildomą kokybės kontrolę galima atlikti laikantis vietinių taisyklių arba reikalavimų, susijusių su akreditavimu, taip pat laboratorijos kokybės valdymo procedūroje nustatytų reikalavimų.

REZULTATAI IR JŲ INTERPRETAVIMAS

Baigus tyrimą, kompiuteris automatiškai rezultatų analizę. Rezultatai yra apskaičiuojami, naudojant prietaise esančią kalibravimo kreivę (4-ių parametru logistinis modelis), o tada atspausdinami. D-dimero koncentracijos yra išreikštos Fibrinogeno Ekvivalento ng/ml vienetais (FEU). VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ yra kalibruotas pagal vidinius žmogaus plazmos duomenis, kurių koncentracija buvo nustatyta naudojant VIDAS D-Dimer Exclusion rinkinį (Kat. Nr. 30 442). Šis Nr. (30 442) nebeparduodamas.

Mėginiai, kurių D-dimero koncentracija yra didesnė negu 10 000 ng/ml (FEU), gali būti pakartotinai tiriami, prieš tai juos atskiedus rinkinio skiedikliu santykiu 1/5. **Jeigu, kuriant darbų sąrašą, buvo įvestas skiedimo koeficientas, rezultatas apskaičiuojamas automatiškai. Jeigu skiedimo koeficientas nebuvo įvestas, norėdami gauti mėginio koncentraciją, padauginkite rezultatą iš skiedimo koeficiento.**

Klinikinio sprendimo ribinių verčių apibūdinimas

- **Siekiant atmesti DVT ir PE kartu su klinikinio išankstinio tyrimo tikimybės įvertinimu.**

Giliųjų venų trombozės atveju **ribinis lygis yra 500 ng/ml**.

Plaučių embolijos atveju **ribinis lygis yra 500 ng/ml**, arba, atsižvelgiant į amžių, kaip pateikta toliau:

- **< 50 metų: ribinis lygis 500 ng/ml.**
- **≥ 50 metų: amžius x 10 ng/ml** (pavyzdys: ribinė vertė 65 metų amžiui – 650 ng/ml)

Esant sprendimo ribai 500 ng/ml, D-dimer rezultatas ≥ 500 ng/ml (FEU) laikomas teigiamu, o rezultatas < 500 ng/ml (FEU) laikomas neigiamu.

Naudojant pagal amžių nustatomą ribinę reikšmę, D-dimero rezultatas \geq remiantis pagal amžių nustatoma ribine verte laikomas teigiamu, o rezultatas $<$ remiantis pagal amžių nustatoma ribine verte laikomas neigiamu.

- **Kad būtų lengviau įvertinti VTE pasikartojimo dažnį moterims, kurioms būdingas pirmasis idiopatinis VTE, kai joms nustatoma geriamojo antikoagulianto terapijos trukmė.**

HERDOO2 klinikinio sprendimo taisyklei naudojamas ribinis lygis yra **250 ng/ml**. Moterims, kurioms būdingas pirmasis idiopatinis VTE ir kurios vartoja geriamus antikoagulantus, rezultatas yra laikomas teigiamu (1 taškas klinikinio sprendimo taisyklės), kai su VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ rezultatas yra ≥ 250 ng/ml, ir neigiamas (0 taškų klinikinio sprendimo taisyklėje), kai tyrimo rezultatas yra < 250 ng/ml.

METODO APRIBOJIMAI

- Interferencija gali būti aptinkama su tam tikra plazma, turinčia antikūnų prieš reagentų komponentus. Dėl šios priežasties tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami įvertinant paciento medicininę istoriją (klinikinę tikimybę).
- Klinikinių tyrimų duomenys yra pagrįsti pacientų, besigydančių ambulatoriškai, populiacija. Kadangi D-dimer tyrimai daugiau yra taikomi pacientams, besigydančioms ligoninėje dėl sąstovio, chroninių ligų, pooperacinių bei kitų nespecifinių aplinkybių, kurios sukelia D-dimer koncentracijos padidėjimą, klinikinė neigiamų rezultatų nauda nėra reikšminga stacionarinei populiacijai. Todėl klinikinio efektyvumo rezultatai negali būti ekstrapoliuoti į hospitalizuotų pacientų populiaciją.
- Rezultatai, žemesni nei 45 ng/ml aptikimo riba ir gauti, naudojant VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ rinkinį, paprastai siejami su blogomis sąlygomis prieš analizę arba netinkama prietaiso technine priežiūra. Todėl tyrimą reikia pakartoti. Dėl tolimesnės pagalbos, kreipkitės į klientų aptarnavimo skyrių.
- HERDOO2 taisyklė: moterims po menopauzės (≥ 50 metų), kurioms būdingas HERDOO2 kriterijus yra 0 arba 1 ir kurios nebevartojo geriamųjų antikoagulantų (n = 126), pasikartojimo dažnis buvo 5,7 % (95 % CI – 2,6–10,9 %) (15). Turint omenyje, kad ISTH teigia, jog antikoagulantų vartojimą nutraukti yra saugu, kai pasikartojimo dažnis yra mažesnis negu 5 % per vienerius metus nuo gydymo sustabdymo (14), dar svarbiau, kad gydytojai prieš priimdami sprendimą atsižvelgtų į šios grupės pacientų klinikinę istoriją.

TIKĖTINOS VERTĖS

Atlikus studiją, kurioje buvo naudota 215 kraujo donorų cituotų plazmos mėginių, 90 % verčių buvo žemiau 500 ng/mL (FEU).

Rekomenduojama kiekvienai laboratorijai individualiai nusistatyti referentines vertes atsižvelgiant į kruopščiai pasirinktą populiaciją.

VEIKSMINGUMAS

Atlikus tyrimą su VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ gauti tokie rezultatai.

Matavimo diapazonas

Tyrimo VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ matavimo diapazonas yra nuo 45 ng/ml (FEU) iki 10 000 ng/mL (FEU) (viršutinė kiekybinio įvertinimo riba).

Linijškumas

Plazmos linijškumas buvo nustatytas, laikantis CLSI® dokumento EP6-A rekomendacijų. Gauti rezultatai parodė, kad VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ intervale nuo 45 iki 10 000 ng/ml (FEU) yra linijinis. Tačiau kai kuriuose atskiruose mėginiuose dėl matricos poveikio VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ linijškumo gali nebūti.

Aptikimo riba

Nustatyta kad mažiausia D-dimer koncentracija, kuri reikšmingai skyrėsi nuo nulio koncentracijos su α 5 % tikimybe: **< 45 ng/ml (FEU)**. Aptikimo ribos rezultatai buvo nustatyti pagal CLSI® EP17-A standartą.

Kablio efektas

Esant D-dimerų koncentracijai iki 400 000 ng/ml (FEU), prozonos efektas nepastebėtas.

Specifiškumas

Interferencija buvo tirta pagal CLSI® dokumento EP7-A2 rekomendacijas.

Kryžminis reaktantas	Koncentracija (papildyti mėginiai)	Kryžminis reaktyvumas
Fibrinogenas	≤ 10 g/l	Ne
Fibrinogeno degradacijos produktai X	≤ 10 µg/ml	Ne
Fibrinogeno degradacijos produktai Y	≤ 10 µg/ml	Ne
Fibrinogeno degradacijos produktai D	10–100 µg/mL	Taip*

* toks aukštas fibrinogeno degradacijos produktų D lygis neatsiranda populiacijoje su įtariamu VTE. Tokie rezultatai gali būti aptinkami pacientams, kuriems yra paskirta lizavimo terapija su trombolitiniais agentais (16).

Pastaba. Dviejų antikūnų specifiškumas nebuvo ištirtas prieš fibrinogeno degradacijos produktus E, todėl kryžminės reakcijos galimybė nėra atmetama.

Preciziškumas

Dvigubu pakartojimu buvo tirti trys mėginiai 40 tyrimų serijų (2 serijos per dieną) su 2 reagentų serijomis 3 skirtingose vietose (n=240).

Naudojant šį protokolą, kuris pagrįstas CLSI® dokumento EP5-A2 rekomendacijomis, buvo apskaičiuoti atkartojamumas (preciziškumas tyrimo serijos ribose) ir atkuriamumas tarp serijų:

Mėginys	Vidutinė koncentracija ng/ml (FEU)	Atkartojamumas		Atkuriamumas tarp serijų	
		Standartinė deviacija	CV (%)	Standartinė deviacija	CV (%)
1 mėginys	277,97	6,88	2,5	18,25	6,6
2 mėginys	544,14	11,05	2,0	32,13	5,9
3 mėginys	7 788,88	113,83	1,5	468,18	6,0

Palyginimas su kitais tyrimo metodais

1 tyrimas

Buvo tirti 328 šviežios citruotos plazmos iš D-dimero mėginiai, atvežti iš vienos Europos laboratorijos ir dviejų šiaurės Amerikos laboratorijų. Mėginiai buvo tirti naudojant dvi VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ (kat. Nr. 30 455) serijas ir dvi VIDAS® D-Dimer Exclusion (kat. Nr. 30 442) serijas, vadovaujantis CLSI® dokumento EP9-A2 rekomendacijomis. Tirtų plazmos mėginių koncentracijos diapazonas yra nuo 58,46 iki 9 594,96 ng/ml (FEU). Gauti šie rezultatai:

• Passing-Bablok regresija ir koreliacijos koeficientas (r):

Vietos	n	Nuožulnumas	Atidėjimas	r	
Europa	1 vieta	158	1,20	-41,96	0,991
Šiaurės Amerika	2 vieta	43	1,15	-10,31	0,988
	3 vieta	125	1,20	-43,18	0,989
Visos	326*	1,19	-34,92	0,987	

* Iš tyrimo buvo išimti 2 statistiniai pašaliniai mėginiai.

2 tyrimas

Buvo tirti 378 citruotos plazmos iš D-dimero mėginiai, atvežti iš vienos Europos laboratorijos. Mėginiai buvo tirti naudojant dvi VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ (kat. Nr. 30 455) serijas ir dvi VIDAS® D-Dimer Exclusion (kat. Nr. 30 442) serijas, vadovaujantis CLSI® dokumento EP9-A2 rekomendacijomis. Tirtų plazmos mėginių koncentracijos diapazonas yra nuo 46,70 iki 9 913,53 ng/ml (FEU). Gauti šie rezultatai:

• Passing-Bablok regresija ir koreliacijos koeficientas (r):

4 vieta Europa	n	Nuožulnumas	Atidėjimas	r
	374*	1,09	-29,35	0,991

* Iš tyrimo buvo išimti 4 statistiniai pašaliniai mėginiai.

Taigi, šie du tyrimai rodo **1,14 vidutinį nuožulnumą** tarp VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ (kat. Nr. 30 455) ir VIDAS® D-Dimer Exclusion (kat. Nr. 30 442) intervale nuo 1,09 iki 1,19, priklausomai nuo serijų.

Klinikinis veiksmingumas

Klinikinis efektyvumas, naudojant VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ tyrimą (kat. Nr. 30 455) kartu su paciento klinikinio išankstinio tyrimo tikimybe, siekiant atmesti VTE (venų tromboembolija).

Tyrimas buvo atliekamas naudojant 315 užšaldytų, klinikiškai požiūriu charakteringų mėginių, kurie buvo paimti iš pacientų, dalyvavusių ankstesniuose prospektiniuose klinikiškuose tyrimuose (17, 18).

Bendras VTE vyravimas visoje tirtoje populiacijoje buvo 23,5 % (74/315). Jautrumas, specifiškumas, neigiama predikatyvinė vertė (NPV) ir teigiama predikatyvinė vertė (PPV), naudojant 500 ng/mL (FEU) klinikinę slenkstinę vertę, pateikiamos žemiau kartu su atitinkamu 95 % pasiklovimo intervalu (CI).

		Pacientai su įtariamu VTE		
		Žema ir vidutinė prieštyriminė tikimybė n = 303	Aukšta prieštyriminė tikimybė n = 12	Visos tikimybės n = 315
% Jautrumas (95 % CI)	VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ kat. Nr. 30 455	100 % (94,2–100)	100 % (73,5–100)	100 % (95,1–100)
	VIDAS® D-Dimer Exclusion kat. Nr. 30 442	100 % (94,2–100)	100 % (73,5–100)	100 % (95,1–100)
% Specifiškumas (95 % CI)	VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ kat. Nr. 30 455	35,7 % (29,6–42,1)	Netaikoma	35,7 % (29,6–42,1)
	VIDAS® D-Dimer Exclusion kat. Nr. 30 442	37,8 % (31,6–44,2)	Netaikoma	37,8 % (31,6–44,2)

		Pacientai su įtariamu VTE		
		Žema ir vidutinė prieštyriminė tikimybė n = 303	Aukšta prieštyriminė tikimybė n = 12	Visos tikimybės n = 315
% NPV (95 % CI)	VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ kat. Nr. 30 455	100 % (95,8–100)	Netaikoma	100 % (95,8–100)
	VIDAS® D-Dimer Exclusion kat. Nr. 30 442	100 % (96,0–100)	Netaikoma	100 % (96,0–100)
% PPV (95 % CI)	VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ kat. Nr. 30 455	28,6 % (22,7–35,1)	100 % (73,5–100)	32,3 % (26,3–38,8)
	VIDAS® D-Dimer Exclusion kat. Nr. 30 442	29,2 % (23,2–35,9)	100 % (73,5–100)	33,0 % (26,9–39,6)

*95 % CI apskaičiuotas naudojant tikslųjį metodą

Žemiau pateikti atitikties tyrimo tarp dviejų metodų (VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ ir VIDAS® D-Dimer Exclusion) ir klinikinės būklės rezultatai (n= 315 užšaldytų mėginių):

VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ kat. Nr. 30 455	VIDAS® D-Dimer Exclusion kat. Nr. 30 442	Visi mėginiai	Klinikinė būklė	
			NEIGIAMAS (VTE NĖRA)	TEIGIAMAS (VTE)
< 500 ng/ml	< 500 ng/ml	85	85	0
	≥ 500 ng/ml	1	1	0
≥ 500 ng/ml	< 500 ng/ml	6	6	0
	≥ 500 ng/ml	223	149	74
Visi mėginiai		315	241	74

Žymaus skirtumo, esant 5 % rizikos lygiui, tarp šių dviejų tyrimų jautrumo ir specifiškumo nėra.

Pacientams, kuriems įtariama plaučių embolija (PE) su mažo ir vidutinio išankstinio tyrimo tikimybe, buvo atlikta retrospektyvi analizė, taikant nuo amžiaus priklausančią ribą. Stebimas PE paplitimas tarp šių pacientų buvo 20,5 % (62/303). Jautrumas, specifiškumas, neigiama predikatyvinė vertė (NPV) ir teigiama predikatyvinė vertė (PPV), naudojant pagal amžių pritaikytą klinikinę slenkstinę vertę, pateikiamos žemiau kartu su atitinkamu 95 % pasiklovimo intervalu (CI).

	Pacientai, kuriems įtariama PE
	Žema ir vidutinė prieštyriminė tikimybė n = 303
% Jautrumas (95 % CI*)	100 % (94,2–100)
% Specifiškumas (95 % CI*)	40,2 % (34,3–46,5)
% NPV (95 % CI*)	100 % (96,3–100)
% PPV (95 % CI*)	30,1 % (24,2–36,7)

* CI: pasikliautinis intervalas

VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ tyrimo atveju specifiškumas, naudojant nuo amžiaus priklausančią ribą, yra žymiai didesnis negu specifiškumas, naudojant klinikinę 500 ng/mL (FEU) ribą. Reikšmingo skirtumo, esant 5 % rizikos lygiui, tarp jautrumo, naudojant nuo amžiaus priklausančią ribą, ir jautrumo, naudojant 500 ng/ml (FEU) klinikinę ribą, nėra.

Klinikinis efektyvumas naudojant VIDAS® D-Dimer Exclusion (kat. Nr. 30 442) tyrimą kartu su paciento išankstinio tyrimo tikimybe

❖ DVT atmetimas

Mėginiai, surinkti iš pacientų, dalyvavusių **kelių centrų prospektyviniuose tyrimuose** (19), buvo naudojami, siekiant patvirtinti diagnostinės VIDAS® D-Dimer Exclusion naudą, kai yra atmetama giliųjų venų trombozės (DVT) tikimybė. Nuoseklieji atrinkti pacientai, besigydantys ambulatoriškai (n = 556), kuriems yra įtariama DVT, visą gydymo laiką buvo stebimi trijose ligoninėse. DVT tikimybei įvertinti buvo naudojamas Vello modelis, o pacientai buvo klasifikuojami į turinčius aukštą, vidutinę, ar žemą prieštyriminę DVT tikimybę (20).

VIDAS® D-Dimer Exclusion tyrimas buvo atliktas, nežinant PTP tyrimo įvertinimo rezultatų ir klinikinių duomenų apie pacientus, iš kurių buvo imami mėginiai. Buvo naudojama 500 ng/mL (FEU) ribinė vertė.

D-dimero tyrimo rezultatas ≥ 500 ng/mL (FEU) yra laikomas teigiamu, o rezultatas < 500 ng/mL (FEU) yra laikomas neigiamu.

Per tyrimą pacientai buvo sugrupuoti pagal PTP. Pacientams, kuriems buvo nustatytas neigiamas D-dimero tyrimo rezultatas ir žemas arba vidutinis DVT PTP, buvo atliekami tolimesni diagnostiniai tyrimai ir jie buvo stebimi dar 3 mėnesius dėl DVT tolesnės eigos. Pacientams, kurių D-dimero tyrimo rezultatas buvo teigiamas arba aukštas PTP, buvo atlikta serijinė ultragarso kompresijos procedūra.

Bendras DVT paplitimas visoje tirtoje populiacijoje buvo 10,1 % (56/556). Vienas pirminio tyrimo mėginys nebuvo tirtas dėl apimties apribojimų. Žemiau pateikti VIDAS® D-Dimer Exclusion tyrimo jautrumo, specifiškumo ir neigiamos numatomos vertės rezultatai, naudojant klinikinę ribinę 500 ng/ml vertę, o taip pat atitinkami 95 % pasiklovimo intervalai (CI).

	Pacientai su įtariamu DVT			
	Aukšta prieštyriminė tikimybė n = 295	Vidutinė prieštyriminė tikimybė n = 189	Aukšta prieštyriminė tikimybė n = 71	Visos tikimybės n = 555
% Jautrumas (95 % CI)	100 % (81,5–100 %)	100 % (80,5–100 %)	100 % (83,9–100 %)	100 % (93,6–100 %)
% Specifiškumas (95 % CI)	39,7 % (33,9–45,7 %)	26,7 % (20,3–34,0 %)	16,0 % (7,2–29,1 %)	32,9 % (28,8–37,2 %)
% NPV (95 % CI)	100 % (96,7–100 %)	100 % (92,3–100,0 %)	100 % (63,1–100 %)	100 % (97,8–100 %)

❖ PE atmetimas

VIDAS® D-Dimer Exclusion tyrimo diagnostinė nauda, atmetant PE diagnozę, buvo patvirtinta atliekant **daugiacentrį prospektyvų kohortos** tyrimą su mėginiais, surinktais iš 1 290 pacientų, kuriems buvo įtariamas PE (21). Iš šių 1 290 pacientų 325 buvo atmesti ir galutiniame tyrime dalyvavo 965 pacientai.

Visi pacientai buvo klasifikuoti naudojant Ženevos modelį į turinčius aukštą, vidutinę ar žemą prieštyriminę PE tikimybę (22). D-dimer rezultatai \geq ribinės vertės 500 ng/ml (FEU), buvo laikomi teigiamais, o rezultatai $<$ 500 ng/ml (FEU) buvo laikomi neigiamais.

Visi pacientai su neigiamais D-dimer tyrimo rezultatais, nebuvo gydyti ir jiems nebuvo atliekamas tolimesni diagnostiniai tyrimai. Pacientai su teigiamais D-dimer tyrimų rezultatais, buvo toliau tiriami ultragarsu, naudojant Helical CT skenavimą ir/ar angiografiją. Tada šie pacientai buvo gydomi atsižvelgiant į papildomų diagnostinių tyrimų rezultatus. Visi pacientai buvo stebimi tris mėnesius ir vertinami dėl galimos venų trombo embolijos (DVT ar PE) ir kraujavimo.

Bendras PE vyravimas visoje tirtoje populiacijoje buvo 23,0 % (222/965). Jautrumas, specifiškumas, neigiama predikatyvinė vertė (NPV) ir teigiama predikatyvinė vertė (PPV), naudojant 500 ng/mL (FEU) klinikinę slenkstinę vertę, pateikiamos žemiau kartu su atitinkamu 95 % pasiklovimo intervalu (CI).

	Pacientai be įtariamo PE		
	Žema ir vidutinė prieštyriminė tikimybė n = 891	Aukšta prieštyriminė tikimybė n = 74	Visos tikimybės n = 965
% Jautrumas (95 % CI)	100 % (97,7–100 %)	100 % (94,3–100 %)	100 % (98,4–100 %)
% Specifiškumas (95 % CI)	37,6 % (34,0–41,2 %)	45,5 % (16,7–76,6 %)	37,7 % (34,2–41,3 %)
% NPV (95 % CI)	100 % (98,7–100 %)	100 % (47,8–100 %)	100 % (98,7–100 %)
% PPV (95 % CI)	25,8 % (22,4–29,5 %)	91,3 % (82,0–96,7 %)	32,4 % (28,9–36,1 %)

Pacientams, kuriems įtariama plaučių embolija (PE) su mažo ir vidutinio išankstinio tyrimo tikimybe, buvo atlikta retrospektyvi analizė, taikant nuo amžiaus priklausančią ribą. Stebimas PE paplitimas tarp šių pacientų buvo 17,8 % (159/891). Jautrumas, specifiškumas, neigiama predikatyvinė vertė (NPV) ir teigiama predikatyvinė vertė (PPV), naudojant pagal amžių pritaikytą klinikinę slenkstinę vertę, pateikiamos žemiau kartu su atitinkamu 95 % pasiklovimo intervalu (CI).

	Pacientai, kuriems įtariama PE
	Žema ir vidutinė prieštyriminė tikimybė n = 891
% Jautrumas (95 % CI*)	98,1 % (94,6–99,6)
% Specifiškumas (95 % CI*)	45,4 % (41,8–49,0)
% NPV (95 % CI*)	99,1 % (97,4–99,8)
% PPV (95 % CI*)	28,1 % (24,5–31,9)

* CI: pasikliautinis intervalas

VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ turimo atveju specifiškumas, naudojant nuo amžiaus priklausančią ribą, yra žymiai didesnis nei specifiškumas, naudojant klinikinę 500 ng/ml ribinę reikšmę (FEU). Kai rizikos lygis yra 5 %, nėra reikšmingo skirtumo tarp jautrumo, nustatyto naudojant nuo amžiaus priklausančią ribą, ir jautrumo, nustatyto naudojant klinikinę 500 ng/ml ribą (FEU).

VIDAS® D-Dimer Exclusion tyrimo (kat. Nr. 30 442) ir VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ tyrimo (kat. Nr. 30 455), atsižvelgiant į paciento išankstinio tyrimo tikimybę, kad būtų galima atmesti PE (plaučių emboliją), klinikinis efektyvumas

Buvo atliktas prospektyvusis tyrimas (19 ligoninių), kuriame dalyvavo 3 324 pacientai, kuriems įtariama PE (10). Bendras PE vyravimas visoje tirtoje populiacijoje buvo 19 % (631/3 324).

D-dimerų koncentracija buvo išmatuota naudojant VIDAS® D-Dimer Exclusion ir VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ tyrimus su 1 345 pacientais, kuriems numatoma nedidelė ar maža išankstinio tyrimo PE tikimybė.

Pacientams su nedidele arba mažai tikėtina išankstinio PE tyrimo tikimybe ir D-dimer rezultatu žemiau pagal jų amžių koreguojamos ribinės vertės, nebuvo skirtas gydymas ir nebuvo atlikta jokių tolesnių diagnostinių tyrimų. Nepavykusio gydymo koeficientas šiems pacientams buvo įvertintas atliekant 3 mėnesių trukmės stebėjimo laikotarpį, per kurį nepriklausomas komitetas stebėjo visus įtariamus venų tromboembolijos atvejus ir konstatuotų mirčių atvejus.

Šiame tyrime naudojant VIDAS® D-Dimer Exclusion ir VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ tyrimus, PE atmetimo rodiklis reikšmingai padidėjo nuo 31,4 % (423/1 345) ribai esant 500 ng/ml, iki 41,1 % (553/1 345) pritaikius pagal amžių nustatytą ribą, t. y. santykinai padidėjo 30,7 %. VIDAS® D-Dimer Exclusion ir VIDAS® D-Dimer Exclusion II™, 3 mėnesių tromboembolijos dažnis pacientams su D-dimer koncentracija > 500 ng/mL bet < pagal amžių nustatytą ribą, buvo 0,0 % (95 % CI: [0,0–2,9])

VIDAS® D-Dimer Exclusion (kat. Nr. 30 442) tyrimo ir VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ (kat. Nr. 30 455) tyrimo klinikinis efektyvumas, naudojant HERDOO2 klinikinio sprendimo taisyklę

HERDOO2 klinikinio sprendimo taisyklė buvo patikrinta, atliekant tarptautinį prospektyvinį daugiacentrį klinikinį tyrimą (44 ligoninės) (15). Tyrimo dalyvavo 2 785 pacientai, sergantys idiopatine VTE ir 5–12 mėnesių vartojantys geriamuosius antikoagulantus (1 572 vyrai ir 1 213 moterų). HERDOO2 rezultatas moterims buvo apskaičiuotas, norint nustatyti pacientes, kurioms kyla didelė arba maža VTE rizika. D-dimerai buvo išmatuoti, atliekant VIDAS® D-Dimer Exclusion arba VIDAS® D-Dimer Exclusion II™ tyrimus, pacientams vartojant antikoagulantus.

Taikant HERDOO2 klinikinio sprendimo taisyklę, 591 moteris iš 631, klasifikuotos kaip turinčios mažą pasikartojimo riziką, galėjo nutraukti gydymą antikoagulantais. Vienų metų VTE pasikartojimo dažnis moterims, kurios sirgo idiopatine VTE ir nutraukė geriamųjų antikoagulantų vartojimą po 5–12 mėnesių, buvo 3,0 % (CI 95 %: [1,8; 4,8]). Šis pasikartojimo dažnis yra mažesnis nei rekomenduojami 5 %, nurodyti ISTH (14).

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 praėjusįje) priklausomai nuo vietinių taisyklių.

LITERATŪROS NUORODOS

1. DEMPFLÉ CE. Validation, calibration, and specificity of quantitative D-dimer assays. *Semin Vasc Med.* 2005;5:315-20.
2. MOSESSON MW. On behalf of the Subcommittee on Fibrinogen of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH. Terminology for macromolecular derivatives of crosslinked fibrin. *Thromb Haemost.* 1995;73:725-6.
3. BOCKENSTEDT P. D-dimer in venous thromboembolism. *N Engl J Med.* 2003;349:1203-4.
4. DI NISIO M, SQUIZZATO A, RUTJES AW, BÜLLER HR, ZWINDERMAN AH, BOSSUYT PM. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2007;5:296-304.
5. RIGHINI M, PERRIER A, DE MOERLOOSE P, BOUNAMEAUX H. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. *J Thromb Haemost.* 2008;6:1059-71.
6. TEN CATE-HOEK AJ, PRINS MH. Management studies using a combination of D-dimer test result and clinical probability to rule out venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2005;3:2465-70.
7. CARRIER M, RIGHINI M, DJURABI RK, HUISMAN MV, PERRIER A, WELLS PS, RODGER M, WUILLEMIN WA, LE GAL G. VIDAS D-dimer in combination with clinical pre-test probability to rule out pulmonary embolism. A systematic review of management outcome studies. *Thromb Haemost.* 2009;101:886-92.
8. GOODACRE S, SAMPSON F, STEVENSON M, WAILOO A, SUTTON A, THOMAS S, LOCKER T, RYAN A. Measurement of the clinical and cost-effectiveness of non-invasive diagnostic testing strategies for deep vein thrombosis. *Health Technol Assess.* 2006;10:1-168, iii-iv.
9. RIGHINI M, NENDAZ M, LE GAL G, BOUNAMEAUX H, PERRIER A. Influence of age on the cost-effectiveness of diagnostic strategies for suspected pulmonary embolism. *J Thromb Haemost.* 2007;5:1869-77.
10. RIGHINI M, et al. Age-adjusted D-dimer cutoff levels to rule out pulmonary embolism: the ADJUST-PE study. *JAMA.* 2014;311:1117-24.
11. BRUINSTROOP E, VAN DE REE MA, HUISMAN MV. The use of D-dimer in specific clinical conditions: a narrative review. *Eur J Intern Med.* 2009;20:441-6.
12. HOUDIJK W. Proper observation of patient-related factors is an important determinant in the use of the D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism in the ED. *Am J Emerg Med.* 2007;25:255-256.

13. RODGER MA, et al. Identifying unprovoked thromboembolism patients at low risk for recurrence who can discontinue anticoagulant therapy. *CMAJ.* 2008;179:417-26.
14. KEARON C, IORIO A, PALARETI G; Subcommittee on Control of Anticoagulation of the SSC of the ISTH. Risk of recurrent venous thromboembolism after stopping treatment in cohort studies: recommendation for acceptable rates and standardized reporting. *J Thromb Haemost.* 2010;8:2313-5.
15. RODGER M, et al. REVERSE II Study: Multi-national validation of the men continue and HERDOO2 rule to identify low risk unprovoked venous thromboembolism patients who can discontinue anticoagulants. *BMJ,* 2017, in press.
16. WALKER JB, NESHEIM ME. The molecular weights, mass distribution, chain composition, and structure of soluble fibrin degradation products released from a fibrin clot perfused with plasmin. *J Biol Chem.* 1999; 274: 5201-12.
17. PERRIER A, et al. Multidetector-row computed tomography in suspected pulmonary embolism. *N Engl J*
18. RIGHINI M, et al. Diagnosis of pulmonary embolism by multidetector CT alone or combined with venous ultrasonography of the leg: a randomised non-inferiority trial. *Lancet.* 2008;371:1343-52.
19. BATES S M. et al. A diagnostic strategy involving a quantitative latex D-Dimer assay reliably excludes deep venous thrombosis. *Ann Intern Med.* 2003;138: 787-94.
20. WELLS PS, et al. Value of assessment of pre-test-probability of deep vein thrombosis in clinical management. *Lancet.* 1997; 350: 1795-8.
21. PERRIER A, et al. Diagnosing pulmonary embolism in outpatients with clinical assessment, D-Dimer measurement, venous ultrasound, and helical computed tomography: a multicenter management study. *Am J Med.* 2004; 116:291-9.
22. WICKI J, et al. Assessing clinical probability of pulmonary embolism in the emergency ward: a simple score. *Arch Intern Med.* 2001;161:92-7.

SIMBOLIŲ RODYKLĖ

Simolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
	<i>In Vitro</i> diagnostinė medicinos priemonė
	Gamintojas
	Temperatūriniai apribojimai
	Sunaudoti iki
	Partijos kodas
	Žr. naudojimo instrukcijas
	Turinys skirtas <n> tyrimų
	Pagaminimo data

RIBOTOJI GARANTIJA

bioMérieux garantuoja, kad gaminys veiks pagal nurodytą naudojimo paskirtį, jei bus griežtai laikomasi visų naudojimo, laikymo ir tvarkymo procedūrų bei atsižvelgiama į eksploataavimo trukmę (jei taikoma) ir atsargumo priemonės, išdėstytas naudojimo instrukcijoje.

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 instrukcijoje nenurodytais tikslais.

PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELE

Kategorijų tipų keitimas:

Netaikoma	Netaikoma (pirmoji publikacija)
Korekcijos	Dokumentacijos anomalijų korekcijos
Techninis pakeitimas	Su gaminiu susijusios informacijos pildymas, peržiūra ir (arba) šalinimas
Administracinis	Naudotojui svarbūs ne techniniai pakeitimai

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

Išleidimo data	Serijos numeris	Pakeitimo tipas	Pakeitimų santrauka
2015/01	14219E	Administracinis	SIMBOLIŲ RODYKLĖ PERŽIŪRŲ ISTORIJS LENTELE
		Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PARUOŠIMAS ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS
2015/06	14219F	Techninis pakeitimas	RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PARUOŠIMAS NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS
2017/03	21967A	Techninis pakeitimas	ATSKAITOS PRODUKTAS SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS PRINCIPAS RINKINIO SUDĖTIS (60 TYRIMŲ) – REAGENTŲ PARUOŠIMAS REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS IR VIENKARTINĖS PRIEMONĖS ĮSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS MĖGINIAI NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS KOKYBĖS KONTROLĖ REZULTATAI IR JŲ INTERPRETAVIMAS METODO APRIBOJIMAI ATSKAITOS VERTĖS VEIKSMINGUMAS LITERATŪROS NUORODOS RIBOTOJI GARANTIJA

BIOMERIEUX, mėlynasis logotipas, VIDAS ir SPR naudojami, artimiausiu laiku registruotini ir (arba) registruoti prekės ženklai, priklausantys bioMérieux, vienam iš šios įmonės filialų ar kompanijų.

CLSI yra Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc. priklausantis prekės ženklas.

Bet koks kitas pavadinimas arba prekės ženklas yra atitinkamo savininko nuosavybė.



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



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

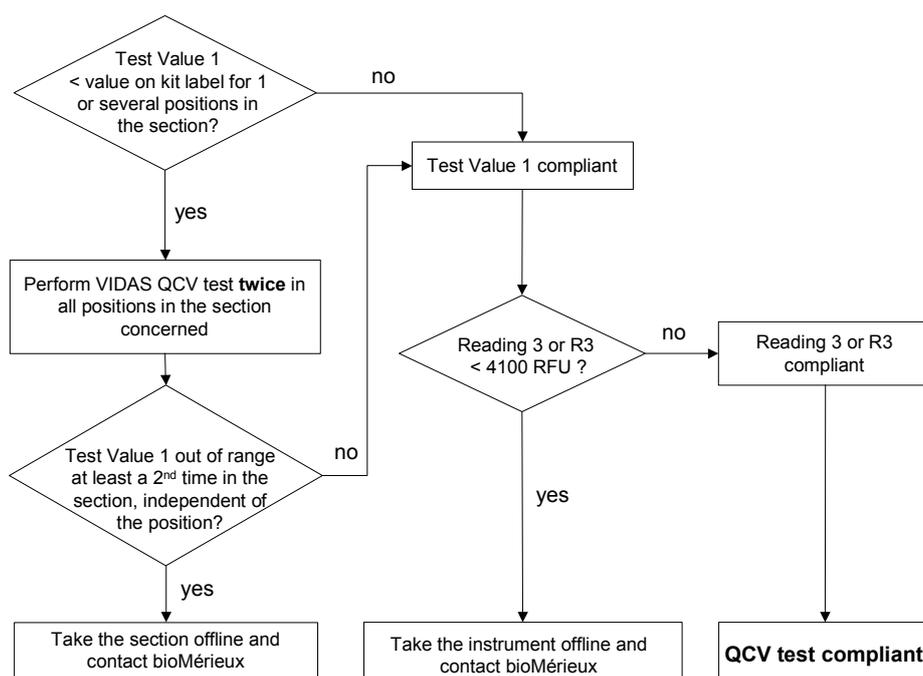
When the test is completed, the computer automatically calculates Test Value 1 and 2 (**TV1** and **TV2** for mini VIDAS) using the 3 fluorescence readings. The calculations appear on a report.

$$\text{VIDAS: Test Value (TV1)} = \frac{\text{reading 2}}{\text{reading 1}} \quad \text{Test Value (TV2)} = \frac{\text{reading 3}}{\text{reading 1}}$$

$$\text{mini VIDAS: TV1} = \frac{R2}{R1} \quad \text{TV2} = \frac{R3}{R1}$$

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):

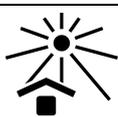
- **Acceptable range for Test Value 1 (TV1 for mini VIDAS):** the Test Value 1 for each position must be \geq the value indicated on the kit label. If the result of a particular position is outside the range, two new VIDAS QCV tests must be run successively in all the positions in the section concerned (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 \geq 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 pipečių 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 fluorescencinio substrato (4-Metil-umbeliferono) tirpalo įsiurbimą/skiedimą. Kuris yra standartizuotas ir turi kintamus koncentracijos kiekius. Įsiurbimas yra atliekamas skirtingu greičiu, kad patikrinti įsiurbimo pompos galimybes.

Gauti rezultatai, gaunami tyrimo pabaigoje, atitinka:

- Fluorescencijos santykį „Test Value 1“(TV1 - mini VIDAS) patikrinant pipetės mechanizmo tikslumą,
- fluorescencinį 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 išvengtų 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). Įsitinkite, kad SPR® drelės 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** reagentas nėra pažeistas:

Antrasis nuskaitymas yra atliekamas po kelių įtraukimų, atliekamų skirtingu greičiu; tai yra atliekama pipetės pompos 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**

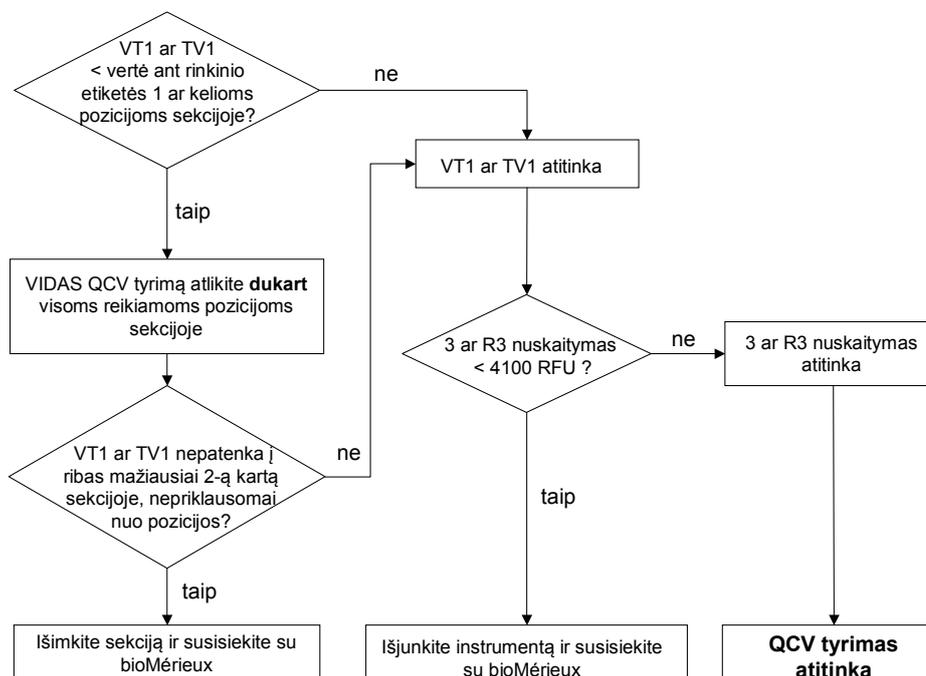
Kai tyrimas yra baigtas, kompiuteris automatiškai skaičiuoja tyrimo 1 ir 2 vertes (TV2, skirta mini VIDAS), naudojant 3 fluorescencijos nuskaitymus. Skaičiavimai pateikiami ataskaitoje.

$$\text{VIDAS:} \quad \text{Tyrimo vertė (TV1) = } \frac{\text{Nuskaitymas 2}}{\text{nuskaitymas 1}} \quad \text{Tyrimo vertė (TV2) = } \frac{\text{nuskaitymas 3}}{\text{nuskaitymas 1}}$$

$$\text{mini VIDAS:} \quad \text{TV1 = } \frac{\text{R2}}{\text{R1}} \quad \text{TV2 = } \frac{\text{R3}}{\text{R1}}$$

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.