

IVD

Návod k použití (česky)

1 Určený účel

Test *recomCLIA HEV IgM* je semikvantitativní *in vitro* chemiluminiscenční imunoanalýza (CLIA) k detekci protilátek IgM proti viru hepatitidy E (HEV) v lidském séru a plazmě (EDTA, heparin, citrát, CPD) u symptomatických pacientů nebo u osob, u nichž je podezření na infekci HEV.

Analýza se používá ke screeningu a jako pomůcka při diagnostice infekce HEV a souvisejících onemocnění v kombinaci s dalšími laboratorními a klinickými nálezy. Tato analýza není určena k vyšetřování dárce a příjemce za účelem zjištění přítomnosti protilátek IgM proti HEV v krvi, krevních složkách, buňkách, tkáních, orgánech nebo jakýchkoli jejich derivátech za účelem posouzení jejich vhodnosti pro transfuzi, transplantaci nebo podání buněk.

Test *recomCLIA HEV IgM* se smí provádět výhradně jako automatizovaná analýza v analyzátoru KleeYa®, STRATEC SE, a to vyškolenými odborníky ve vhodné laboratoři.

2 Souhrn a vysvětlení

Virus hepatitidy E je jedním z nejčastějších virových původců akutní hepatitidy na celém světě. Proto může detekce protilátek IgG a IgM proti HEV pomoci testu *recomCLIA HEV IgG*, IgM napomoci správné diagnóze, omezit komplikace a zbytečné laboratorní testy a umožnit lékařům nastavit správnou léčbu. Infekce HEV může být klinicky inaparentní až fulminantní.

Existují čtyři převládající lidské patogenní genotypy (1–4), které se liší svým geografickým rozšířením, způsobem přenosu a možnými komplikacemi. Infekce HEV genotypem 1 a 2 se vyskytují převážně v rozvojových zemích, kde k přenosu dochází převážně fekálně-orální cestou prostřednictvím kontaminované pitné vody. Genotypy HEV 3 a 4, které jsou rozšířené v průmyslových zemích, se přenášejí převážně v důsledku spotřeby nedostatečně tepelně upraveného vepřového masa. V Evropě je většina případů způsobena genotypem HEV 3 a často probíhá bez příznaků. Lidské patogenní genotypy HEV vykazují zkříženou sérologickou reaktivitu a řadí se do jednoho sérotypu.

3 Princip testu

Magnetické mikročástice jsou potaženy vysoce purifikovaným rekombinantním antigenem HEV ORF2C.

- Částice antigenu se inkubují se zředěným sérem/plazmou, přičemž se na mikročástice naváží specifické protilátky proti antigenům patogenu.
- Nevázané protilátky se následně smyjí.
- Ve druhém kroku se mikročástice inkubují s protilátkami proti lidskému imunoglobulinu (IgM), které jsou konjugovány s chemiluminiscenčním markerem (akridinium ester).
- Nevázané konjugované protilátky se následně smyjí.
- Po přidání peroxidu vodíku a hydroxidu sodného (KleeYa® TRIGGER SOLUTION (Trigger Solution 1 a Trigger Solution 2)) se konjugát akridinium esteru aktivuje a dochází k chemiluminiscenci, při níž emituje světelná kvanta.
- Intenzita chemiluminiscenční reakce se měří v relativních světelných jednotkách (RLU, *relative light units*) a je úměrná koncentraci specifických protilátek ve vzorku.
- Naměřené RLU se převedou na tzv. cut-off hodnoty (COI, *cut-off index*) pomocí kalibrační linie specifické pro šarži a přístroj, která se musí před měřením materiálu vzorku překalibrovat pomocí cut-off kontroly IgM (podrobnosti naleznete v kapitole 9.1.1 "Validační kritéria").

4 Reagencie

4.1 Obsah balení

Reagencie v jednom balení vystačí na 100 testů.

RGT CART	Kazeta s reagenty, připravená k použití obsahuje následující součásti:
BEADMIX	2,5 ml magnetických částic suspenze připravená k použití potažené antigenem

DILUBUF	obsahuje konzervační látku: methylisothiazolinon (MIT) (0,01 %) obsahuje složku živočišného původu: bovinní sérový albumin (BSA) (0,5 %) 2 x 10 ml recomCLIA Dilution Buffer A připraveno k použití obsahuje konzervační látku: MIT (0,01 %) obsahuje biologický materiál zvířecího původu: BSA (1,0 %)
CONJ IgM	2 x 10 ml konjugátu protilátek proti lidskému IgM připraveno k použití roztok obsahující myši imunoglobulin proti lidskému IgM protilátkám, značený akridinium esterem obsahuje konzervační látku: MIT (0,01 %) obsahuje biologický materiál zvířecího původu: BSA (1,0 %)
CONTROL ± IgM	2 x 400 µl cut-off kontroly IgM (bílá víčka) jedna injekční lahvička vystačí na provedení 15 rekalibrací při dvojitém testování (celkem 30 reakcí) připraveno k použití lidského původu, anti-HIV 1/2, anti-HCV a HBs Ag negativní obsahuje konzervační látku: MIT (0,1 %) obsahuje biologický materiál zvířecího původu: BSA (0,05 %)
INSTRU	1 návod k použití

4.2 Další potřebné reagenty, materiály a vybavení

- Plně automatizovaný analyzátor KleeYa®, STRATEC SE (kat. č. MIKROGEN 31349)
- KleeYa® TRIGGER SOLUTION (Trigger Solution 1 a Trigger Solution 2), Diatron MI Plc. (kat. č. MIKROGEN 31334)
- 5x TBS Wash Buffer, Diatron MI Plc. (kat. č. MIKROGEN 31335)
- Stohovatelná kyveta, 1 ml, STRATEC Consumables GmbH (kat. č. MIKROGEN 31336)
- Jednorázové špičky Anchor® Tips, 300 µl, STRATEC Consumables GmbH (kat. č. MIKROGEN 31337)
- recomCLIA Sample Diluent A*, MIKROGEN (kat. č. 10120)
- KleeYa® Maintenance Cartridge, Diatron MI Plc. (kat. č. MIKROGEN 31354)
- Deionizovaná voda (vysoké kvality)
- Jednorázové ochranné rukavice, další osobní ochranné prostředky
- Nádoba na nebezpečný biologický odpad
- Sáček na tuhý odpad

Volitelné materiály:

recomCLIA Control Set HEV IgM, MIKROGEN (kat. č. 75003)

MIKROGEN doporučuje zpracovávat produktovou řadu *recomCLIA* za použití protipěněního činidla (podrobnosti naleznete v kapitole 7.4 "Použití protipěněního činidla"):
Protipěnění činidlo „Entschäumer“, KIEHL Group (kat. č. MIKROGEN 31433)

Další informace vám poskytne technická podpora společnosti MIKROGEN.

5 Doba použitelnosti a manipulace

- Reagencie před použitím uchovávejte při teplotách +2 °C až +8 °C, **nezmrazujte je**.
- Doba použitelnosti:

Doba použitelnosti soupravy	
V neotevřeném stavu při teplotě +2 °C až +8 °C	Až do uvedeného data expirace
Stabilita během používání* při teplotě +2 °C až +8 °C	3 měsíce
Provozní stabilita kazety s reagenty +10 °C až +12 °C	28 dní

* Stabilita během používání se počítá od prvního použití kazety s reagenty.

Po uplynutí doby expirace soupravy již nelze zaručit její kvalitu.

- Podmínky skladování a stabilita pracovních roztoků jsou popsány v kapitole 7.2 „Příprava roztoků“.
- Složky recomCLIA Dilution Buffer A, konjugát a magnetické částice musí zůstat v kazetě s reagenty a nesmí se z ní vyjmát.
- Promývací pufr (5x TBS Wash Buffer) a KleeYa® TRIGGER SOLUTION (Trigger Solution 1 a Trigger Solution 2) jsou univerzálně použitelné pro všechny soupravy recomCLIA a lze je používat s celou škálou parametrů a šarží. Je nutno respektovat dobu použitelnosti těchto komponent.
- Ředící roztok recomCLIA Sample Diluent A lze používat nezávisle na šarži v kombinaci s odpovídajícími testovacími soupravami recomCLIA. Stejná kazeta s reagenty recomCLIA Sample Diluent A umožňuje paralelní zpracování vzorku pro více testovacích souprav. Je nutno respektovat dobu použitelnosti roztoku recomCLIA Sample Diluent A.
- Cut-off kontrola IgM je závislá na šarži a lze ji používat pouze s konkrétní analýzou a šarží.
- Cut-off kontrola IgM by se měla před provedením recalibrace 30 minut předeřhřívát na pokojovou teplotu (18 °C až 25 °C).
- Cut-off kontrola IgM se nemá uchovávat v analyzátoru KleeYa®. Ihned po úspěšné recalibraci vraťte cut-off kontrolu IgM do prostoru s teplotou +2 °C až +8 °C.
- Test musí provádět vyškolený a autorizovaný odborný uživatel.
- V případě významných změn výrobku nebo modifikací jeho použití uživatelem nemusí použití výrobku již odpovídat účelu, který společnost MIKROGEN stanovila.

6 Výstrahy a bezpečnostní opatření

- Pouze k *in vitro* diagnostickému použití.
- Všechny krevní produkty je třeba považovat za potenciálně infekční.
- Mikročástečky musí být po přidání patientských nebo kontrolních/kalibračních vzorků považovány za potenciálně infekční a musí se s nimi odpovídajícím způsobem zacházet.
- Během celého postupu testování je nutné nosit vhodné jednorázové rukavice.
- Pro výrobu cut-off kontroly IgM se používá dárcovská krev bez protilátek proti HIV 1/2, HCV a bez antigenu HBs. S výrobkem je třeba zacházet stejně opatrně jako se vzorkem pacienta, protože nelze s jistotou vyloučit riziko infekce.
- Bezpečnostní pokyny pro reagenty obsahující nebezpečné látky:

RGT CART	CONTROL ± IgM
	Obsahuje biologický materiál zvířecího původu
	H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci
CONTROL ± IgM	
	Obsahuje deriváty lidské krve nebo plazmy

Další informace naleznete v příslušných bezpečnostních listech, které vám poskytne společnost MIKROGEN.

Z důvodu omezeného prostoru nelze symboly nebezpečnosti jednotlivých součástí vždy připojit k příslušným etiketám. Symboly nebezpečnosti těchto součástí naleznete na nejbližším větším vnějším obalu nebo v příslušném návodu k použití.

- Všechny kapaliny určené k likvidaci je třeba shromáždit. Všechny sběrné nádoby musí obsahovat vhodné dezinfekční prostředky pro inaktivaci lidských patogenů. Všechny reagenty a materiály kontaminované potenciálně infekčními vzorky je nutno ošetřit vhodnými dezinfekčními prostředky nebo zlikvidovat v souladu s relevantními hygienickými předpisy. Je nutno striktně dodržet koncentrace a doby expozice stanovené výrobcem.
- Veškerý odpad je nutno zlikvidovat v souladu s místními předpisy.
- Reagenty se nesmí zaměňovat nebo míchat s reagenty od jiných výrobců.
- Před provedením testu je třeba si přečíst celý návod k použití. Dodržujte přesně popsané pokyny. Jakákoli odchylka od stanoveného zkušebního protokolu může vést k nesprávným výsledkům.
- Jakákoli závažná nežádoucí příhoda, ke které došlo v souvislosti s tímto prostředkem, musí být nahlášena výrobcí a příslušnému orgánu členského státu, v němž je uživatel a/nebo pacient usazen.

- Reagenty obsahují antimikrobiální přísadu MIT (methylothiazolion). Vyhněte se kontaktu s pokožkou nebo sliznicemi.

7 Odběr vzorku a příprava

7.1 Materiál vzorku

Vzorky mohou být sérum nebo plazma (EDTA, citrát, heparin, CPD). Odběr krve by měl být proveden standardní technikou používanou v laboratoři nebo u lékaře. Sérum nebo plazma je nutno oddělit od krevního koláče co nejdříve po odběru krve, aby se zabránilo hemolýze. Dbejte na to, aby nedošlo k mikrobiální kontaminaci vzorků. Nerozpustné látky je nutné před inkubací ze vzorku odstranit. Použití teplem inaktivovaných, ikterických, hemolytických, lipemických nebo kalných vzorků se nedoporučuje.

Vzorek zabalte, označte a přepravte v souladu s místními a mezinárodními předpisy pro přepravu klinických vzorků a etiologických agens.

Pozor!

Pokud nechcete testy provádět ihned, lze vzorky uchovávat po dobu 2 týdnů při teplotě +2 °C – +8 °C. Delší skladování vzorků je možné při teplotě –20 °C a nižší. Opakované zmrazování a rozmrazování vzorků se kvůli nebezpečí chybných výsledků nedoporučuje. Neprovádějte více než 3 cykly hlubokého zmrazení a rozmrazení.

7.2 Příprava roztoků

Promývací pufr (5x TBS Wash Buffer) naředte v poměru 1:5 (1 objemová jednotka roztoku se 4 objemovými jednotkami deionizované vody).

Příklad: 2 l 5x TBS Wash Buffer + 8 l deionizované vody.

Po dokončení přípravy promývacího pufru je třeba nádobu lehce zakrýt víčkem, aby se umožnilo řádné odplynění roztoku promývacího pufru. Před použitím počkejte 2 hodiny, než z pufru zmizí mikrobublinky. Naředěný promývací pufr je stabilní po dobu jednoho měsíce (provozní stabilita).

Žádné další přípravy jiných roztoků nejsou nutné.

Všechny reagenty v kazetě jsou připravené k okamžitému použití, již je dále neředte!

Cut-off kontrola IgM je připravena k okamžitému použití, již ji dále neředte!

7.3 Příprava a údržba analyzátoru KleeYa®

- Vložte a naplňte KleeYa® TRIGGER SOLUTION (Trigger Solution 1 a Trigger Solution 2).
- Dbejte na zavedení příslušných analýz do softwaru KleeYa® Software.
- Zkontrolujte spotřební materiály a v případě potřeby je doplňte.
- Proveďte úkony nezbytné pro údržbu.

Další informace naleznete v příručce k analyzátoru KleeYa®.

7.4 Použití protipěnového činidla

Aby se zabránilo tvorbě pěny v nádobě na kapalný odpad při cyklech s vysokou kapacitou, doporučuje se použít protipěnové činidlo, které dodává společnost KIEHL Group a které se označuje jako „Entschäumer“.

Postupujte následovně:

- Vyprázdněte nádobu na kapalný odpad.
- Do prázdné nádoby přidejte 20 ml přípravku „KIEHL Entschäumer“.
- Vložte nádobu do přístroje a spusťte testy.

Další informace týkající se testů pro analýzu vám poskytne technická podpora společnosti MIKROGEN.

8 Testovací metoda

Č.	Provedení	Poznámka
1	Vložení kazety s reagensiemi Umístěte kazetu s reagensiemi do stojanu na reagenty a vložte ji do analyzátoru KleeYa®. Do stojanu umístěte rovněž kazetu recomCLIA Sample Diluent A a vložte ji do analyzátoru KleeYa®.	Přístroj automaticky identifikuje kazetu s reagensiemi pomocí RFID-tag (RFID štítku). Kazeta s reagensiemi je připravena k použití přibližně po 5 minutách, což umožňuje důkladné promíchání magnetických částic.
2	Příprava vzorků, cut-off kontroly IgM a/nebo jiných kontrol Předehřejte cut-off kontrolu IgM na pokojovou teplotu (podrobnosti viz kapitola 5). Umístěte vzorky a v případě potřeby i cut-off kontrolu a/nebo jiné kontroly do stojanu na reagenty a vložte je do analyzátoru KleeYa®.	Zkontrolujte správnou orientaci čárového kódu vzorku, aby se dala provést automatická identifikace vzorku. Pokud vzorky nejsou opatřeny čárovým kódem, je možné identifikátory vzorků v softwaru přiřadit ručně. Cut-off kontrola IgM se přiřadí automaticky na základě svého čárového kódu. Požadovaný objem vzorku: 22 µl Přesné mrtvé objemy závisí na použitých zkumavkách a pohybují se v rozmezí 50–175 µl; ohledně dalších informací se obraťte na technickou podporu společnosti MIKROGEN.
3	Provedte recalibraci Pro správné vyhodnocení výsledků testu je nutná recalibrace. Přiřazení příslušné analýzy ke cut-off kontrole IgM se provádí automaticky.	Recalibrace se musí provést před prvním měřením dne a je platná po dobu 24 hodin. Při zpracování vzorků se automaticky upřednostňuje cut-off kontrola IgM.
4	Provedení analýzy Přidajte všechny vzorky, které se mají testovat, k příslušné analýze. Stiskněte tlačítko Start.	Po spuštění testu se všechny kroky analýzy provedou automaticky. Výsledek prvního testu je dostupný přibližně po 30 minutách.

Další informace naleznete v příručce k analyzátoru KleeYa®.

9 Výsledky

9.1 Validace – kontrola kvality

9.1.1 Validační kritéria

Výsledky analýzy recomCLIA HEV IgM jsou platné, pokud je akceptována recalibrace, jak je uvedeno v softwaru KleeYa® Software.
Předchozí měření cut-off kontroly IgM (na začátku série testů recomCLIA HEV IgM jako dvojí stanovení a výpočet střední hodnoty) umožňuje úpravu předdefinované kalibrace podle stanovených RLU. Recalibrace za použití cut-off kontroly IgM se provádí před prvním měřením recomCLIA HEV IgM daného dne a je platná po dobu 24 hodin. Pokud je výsledek cut-off kontroly IgM mimo rozsah přijatelnosti, spusťte recalibraci znovu. Pokud je výsledek cut-off kontroly IgM i nadále mimo rozsah přijatelnosti, obraťte se na technickou podporu společnosti MIKROGEN.

9.1.2 Vnitrolaboratorní reprodukovatelnost (volitelná)

V případě potřeby lze pro účely interní kontroly kvality laboratoře stanovit reprodukovatelnost výsledků.
V takovém případě lze použít recomCLIA Control Set HEV IgM (kat. č. 75003). Výsledky by měly být v doporučeném rozsahu cílových hodnot uvedených v certifikátu analýzy nebo na štítku kontroly kvality. Test recomCLIA Control Set HEV IgM není pro recomCLIA HEV IgM povinný.
Další informace naleznete v příslušném návodu k použití.

9.2 Semikvantitativní analýza

Koncentrace protilátek HEV IgM se aproximují hodnotami **cut-off indexu (COI, cut-off index)**. Podle hodnot indexu se provádí kvalifikace výsledků testu.

Negativní	< 1,0 COI
Hraniční	≥ 1,0 COI až < 1,2 COI
Pozitivní	≥ 1,2 COI

U vzorků vykazujících hraniční výsledek testu by se mělo testování zopakovat. Pokud zůstanou hraniční i po tomto opakovaném testování, doporučuje se analyzovat kontrolní vzorek po 1 až 2 týdnech.

Rozsah měření analýzy je definován tzv. *Limit of Quantitation* (LoQ, mez stanovitelnosti) a *Upper Limit of Quantitation* (ULoQ, horní mez stanovitelnosti) a pohybuje se od 0,44 COI do 13,0 COI. Pokud je naměřená hodnota vyšší než rozsah měření, výsledek je označen jako „over“ (více).

9.3 Interpretace výsledků testu

IgG	IgM	Interpretace testu
Negativní	Negativní	Žádné známky infekce HEV. Pokud klinické podezření přetrvává, je třeba provést přibližně po 1 až 2 týdnech kontrolní vyšetření.
Negativní	Pozitivní	Protilátky IgM proti HEV jsou přítomny. Možné rané stadium infekce HEV. Přímá detekce patogenu nebo kontrolní vyšetření přibližně po 1 až 2 týdnech.
Pozitivní	Pozitivní	Známky akutní infekce HEV.
Pozitivní	Negativní	Protilátky IgG proti HEV jsou přítomny. Infekce se mohla vyskytnout nedávno nebo již dříve v minulosti.

10 Meze metody, omezení

- Na sérologické výsledky testu je nutné vždy nahlížet v souvislosti s klinickým obrazem pacienta. Terapeutické důsledky sérologického nálezu je nutné vyvodit v souvislosti s klinickými údaji.
- Sérologické testy HEV nejsou určeny pro použití u asymptomatických osob, protože nebyly pro tuto indikaci validovány a mohou poskytovat výsledky s omezenou klinickou relevancí.
- V případě nejasných nebo sporných výsledků testu se doporučuje opakované testování v průběhu infekce. Ke stanovení diagnózy infekce HEV a ke klasifikaci příslušného stadia onemocnění je dále nutné vzít v úvahu nejen laboratorní hodnoty, ale také klinické příznaky a anamnézu pacienta.
- Negativní výsledek testu recomCLIA HEV ještě nevylučuje infekci virem HEV. V rané fázi infekce nemusí být protilátky přítomny nebo nemusí být přítomny v detekovatelném množství. Při přetrvávajícím klinickém podezření na infekci virem HEV infection a při negativních a/nebo neprůkazných sérologických výsledcích je třeba přibližně po jednom až dvou týdnech provést další odběr vzorků a testování.
- Pozitivní výsledek testu recomCLIA HEV IgG indikuje předchozí nebo primární infekci. K doplnění sérologické diagnózy je nutný další výsledek testu IgM.
- Izolovaný pozitivní výsledek testu recomCLIA HEV IgM může ukazovat na akutní infekci HEV. Po dvou až třech týdnech je třeba provést další odběr vzorků a testování. Titr IgG se zpravidla vytváří s mírným zpožděním.
- Selektivní použití rekombinantních antigenů HEV minimalizuje křížovou reakci s protilátkami proti jiným virům (např. hepatitidou A, B a C nebo EBV).
- Značný počet imunosuprimovaných pacientů (pacienti po transplantaci a hematologičtí pacienti) s přetrvávající infekcí HEV může vykazovat dlouhodobou absenci protilátek IgG i IgM, např. po dobu několika let. Proto je u příjemců orgánových a hematologických transplantátů vhodnou metodou testování PCR.
- Při analýze recomCLIA HEV IgM nebyly zjištěny žádné interference triglyceridů (93,75–1500 mg/dl), hemolýzátu (62,5–1000 mg/dl) nebo bilirubinu (0,2–40 mg/dl).
- U vzorků s koncentrací bílkovin (HSA a γ-globulinů) vyšší než 6000 mg/dl nelze vyloučit narušení reaktivity testu, proto by se takové vzorky neměly používat.

11 Vlastnosti z hlediska účinnosti

Pro účely následujících hodnocení byly všechny hraniční výsledky testů vyhodnoceny jako pozitivní.

11.1 Analytické vlastnosti z hlediska účinnosti

11.1.1 Analytická citlivost

Limit of Blank (LoB), *Limit of Detection* (LoD) a *Limit of Quantitation* (LoQ)

The Limit of Blank (LoB, mez slepého pokusu) a *Limit of Detection* (LoD, mez detekce) popisují nejnižší koncentraci měřené látky, kterou lze spolehlivě změřit pomocí analytického postupu. LoB je nejvyšší očekávaná koncentrace analytu při testování replikátů slepého vzorku.

LoD je nejnížší koncentrace analytu, kterou lze s největší pravděpodobností spolehlivě odlišit od LoB a při níž je detekce považována za proveditelnou.

Limit of Quantitation (LoQ, mez stanovitelnosti) je nejmenší množství analytu v materiálu, které lze kvantitativně stanovit s nejlepší možnou přesností (jako celková chyba nebo jako nezávislé požadavky na odchylku a přesnost za stanovených experimentálních podmínek). Údaje použité k hodnocení variability mezi šaržemi byly rovněž použity pro stanovení LoB, LoD a LoQ podle pokynu CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) s číslem EP17-A2.

Analytická citlivost	recomCLIA HEV IgM
Limit of Blank (LoB)	0,05 COI
Limit of Detection (LoD)	0,16 COI
Limit of Quantitation (LoQ)	0,44 COI

11.1.2 Analytická specifita

Analytická specifita je definována jako schopnost testu přesně stanovit analyt v přítomnosti potenciálních interferenčních faktorů (exogenních a endogenních) v matrici vzorku nebo křížových reakcí s potenciálně interferujícími protilátkami.

11.1.2.1 Exogenní interference

Kontrolní studie se sérovými a plazmatickými soubory vzorků, zahrnujícími vzorky séra, heparinu, CPD, citrátu sodného a EDTA plazmy odebrané ve stejném časovém bodě, ukázala, že přítomnost těchto antikoagulantů neovlivňuje účinnost testu. Kromě toho nebyla pozorována žádná interference u vzorků pacientů s anamnézou nadužívání alkoholu a užívání drog (Klozapin).

11.1.2.2 Endogenní interference

Aby se určil vliv potenciálně endogenních interferujících látek na funkčnost testu, bylo provedeno testování interference podle pokynu CLSI EP07-A2.

U následujících rozsahů koncentrací nebyl pozorován žádný vliv na účinnost testu:

- Lipoproteiny bohaté na triglyceridy: 93,75–1500 mg/dl
- Hemolýzát: 62,5–1000 mg/dl
- Konjugovaný bilirubin: 0,2–40 mg/dl
- Nekongugovaný bilirubin: 0,6–40 mg/dl
- Bílkoviny (HSA a γ -globuliny): 1500–6000 mg/dl. 12000 mg/dl HSA ovlivňuje účinnost testu.

Při analýze recomCLIA HEV IgM nebyly zjištěny žádné interference triglyceridů (93,75–1500 mg/dl), hemolýzátu (62,5–1000 mg/dl), bilirubinu (0,2–40 mg/dl) nebo bílkovin (1500–6000 mg/dl HSA a γ -globulinů).

Nelze vyloučit negativní vliv na účinnost testu způsobený koncentrací bílkovin (HSA a γ -globulinů) > 6000 mg/dl ve vzorku. Proto se nedoporučuje používat vzorky s koncentrací bílkovin > 6000 mg/dl.

11.1.2.3 Křížové reakce

Byla zkoumána možná interference protilátek proti jiným organismům, které mohou způsobovat podobné klinické příznaky (např. HAV, EBV, HIV, HCV, parvovirus B19). Dále byly testovány stavy, při nichž dochází k atypické aktivitě imunitního systému (např. antinukleární auto-protilátky, těhotenství, zvýšené hladiny revmatoidního faktoru, hypergamaglobulinémie). Nebyly pozorovány žádné křížové reakce.

Míra pozitivity	recomCLIA HEV IgM
Onemocnění s podobným klinickým obrazem (n = 172)	0,9 %
Stavy s atypickou aktivitou imunitního systému (n = 180)	2,2 %

11.1.3 Přesnost měření (reprodukovatelnost)

Přesnost

Byla stanovena variabilita v rámci testu, mezi testy a mezi šaržemi. Variční koeficient byl vypočten na základě výsledného COI pro vzorky s hraniční nebo pozitivní reaktivitou.

Přesnost	recomCLIA HEV IgM
Variabilita v rámci testu	< 8,6 %
Variabilita mezi testy	< 10,0 %
Variabilita mezi šaržemi	< 11,8 %

11.1.4 Rozsah měření analýzy

11.1.4.1 Linearita

Linearita testu byla stanovena v rozsahu měření 0,6 COI až 16 COI ($R^2 > 0,95$).

11.1.4.2 Metrologická návaznost

Jednotky měření COI (hodnoty cut-off indexu) jsou arbitrární jednotky. Ve společnosti MIKROGEN jsou reference metod – včetně kontrolních specifikací – interně definovány jako cílové hodnoty se specifikovanými tolerančními rozsahy. Ty se ověřují pro každou šarži pomocí definovaných souborů sér.

Specifikace rozsahů měření jsou uvedeny v kapitole 9.2 „Semikvantitativní analýza“.

11.2 Klinické vlastnosti z hlediska účinnosti

11.2.1 Diagnostická citlivost a specifita

Předem stanovené vzorky byly analyzovány za účelem stanovení diagnostické citlivosti a specifity. 95% interval spolehlivosti byl vypočten pomocí Wilsonova skórového intervalu.

11.2.1.1 Diagnostická citlivost

Suspektní akutní infekce HEV (n = 79)*	recomCLIA HEV IgM
Pozitivní	76
Hraniční	1
Negativní	2
Diagnostická citlivost (95% interval spolehlivosti)	97,5 % (91,2 % – 99,6 %)

* Předdefinované vzorky, reaktivní se dvěma komerčně dostupnými analýzami anti-HEV IgM

11.2.1.2 Diagnostická specifita

Rutinní vzorky akutní hepatitidy (n = 155)*	recomCLIA HEV IgM
Pozitivní	0
Negativní	155
Relativní diagnostická specifita (95% interval spolehlivosti)	100 % (97,6 % – 100 %)

* Vzorky definované jako negativní na základě shodných negativních výsledků dvou komerčně dostupných analýz anti-HEV IgM

Vzorky od dárců krve (n = 200)*	recomCLIA HEV IgM
Pozitivní	3
Hraniční	1
Negativní	196
Relativní diagnostická specifita (95% interval spolehlivosti)	98,0 % (95,0 % – 99,2 %)

* Vzorky definované jako negativní na základě shodných negativních výsledků tří komerčně dostupných analýz anti-HEV IgM

11.2.2 Očekávané hodnoty

Očekávané hodnoty byly stanoveny při vyhodnocování testu s použitím vzorků od zdravých jedinců – německých dárců krve, a od dotčených pacientů, kteří spadají do předpokládané skupiny HEV pozitivních v rámci rutinního klinického testování.

recomCLIA HEV IgM	Normální populace (dárce krve, n = 200)	Dotčená populace (rutinní panel, n = 167)
Pozitivní	3	8
Hraniční	1	1
Negativní	196	158
Prevalence	2,0 %	5,7 %

Očekávané hodnoty se mohou lišit podle regionu a složení panelu.

11.2.3 Prediktivní hodnoty

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV, *positive predictive value*) a negativní prediktivní hodnota (NPV, *negative predictive value*) udávají podíl pozitivních a negativních výsledků testu, které jsou skutečně pozitivní, resp. skutečně negativní. Hodnota PPV udává pravděpodobnost, že pozitivní výsledek testu skutečně identifikuje přítomnost onemocnění, zatímco NPV udává pravděpodobnost, že negativní výsledek testu skutečně vylučuje onemocnění. Hodnoty PPV a NPV byly stanoveny na základě 167 po sobě jdoucích vzorků z rutinního testování akutní hepatitidy. Vzorky klasifikované jako reaktivní nebo nereaktivní na

základě běžně používané analýzy HEV IgM byly klasifikovány jako skutečně pozitivní, resp. skutečně negativní.

Prediktivní hodnota testu	recomCLIA HEV IgM
Pozitivní prediktivní hodnota (PPV)	100 %
Negativní prediktivní hodnota (NPV)	98,7 %

11.2.4 Věrohodnostní poměr

Věrohodnostní poměry (LR, *likelihood ratios*) se používají k posouzení hodnoty provedení diagnostického testu. Pozitivní věrohodnostní poměr (LR+) je definován jako podíl míry skutečně pozitivních výsledků a míry falešně negativních výsledků. Udává, do jaké míry je pozitivní výsledek testu pravděpodobnější u osoby s onemocněním ve srovnání s osobou bez onemocnění. Toto statistické měřítko tedy poskytuje klinické informace o jednotlivci. Naopak negativní věrohodnostní poměr (LR-) je podíl míry falešně negativních výsledků a míry skutečně negativních výsledků. Udává, do jaké míry je negativní výsledek testu pravděpodobnější u osoby s onemocněním ve srovnání s osobou bez onemocnění.

Pozitivní a negativní věrohodnostní poměry byly stanoveny na základě 167 po sobě jdoucích vzorků z rutinního testování hepatitidy; jsou totožné s těmi, které byly použity při stanovení prediktivních hodnot, jak je uvedeno výše. Vzorky klasifikované jako reaktivní nebo nereaktivní na základě běžně používané analýzy HEV IgM byly klasifikovány jako skutečně pozitivní, resp. skutečně negativní.

Věrohodnostní poměr	recomCLIA HEV IgM
Pozitivní věrohodnostní kvocient (LR+)	> 68,2
Negativní věrohodnostní kvocient (LR-)	0,18

12 Literatura

- Chiu CY, Razonable RR, Yao JD, Watt KD, Chesdachai S. Clinical utility of two-step hepatitis E virus IgM antibody testing in a low-prevalence setting: A 10-year retrospective multicenter study. *Hepatol Commun*. 2024 Dec 11;9(1):e0611.
- Becquart A, Guigon A, Regueme A, Coulon P, Bocket L, Hober D, Alidjinou EK. Comparison of two automated commercial assays for routine detection of anti-hepatitis E Virus IgM antibodies in clinical samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2024 109(1):116226.
- Dalton H.R, Kamar N., Baylis S.A., Moradpour D., Wedemeyer H., Negro F. EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. *J Hepatol* 2018 68(6):1256-1271.
- RKI. 2015. Hepatitis-E-Virus (HEV – akute Virushepatitis E). Falldefinitionen des RKI.
- RKI. 2014. Hepatitis E Virus. Mitteilungen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit.
- Pischke S., Behrendt P., Bock C.-T., Jilg W., Manns M. P., Wedemeyer H., Hepatitis E in Deutschland – eine unterschätzte Infektionskrankheit. *Deutsches Ärzteblatt*, Jg. 111, Heft 35–36, 1. September 2014.
- Pischke S, Potthoff A, Hauröder B, Schlué J, Manns MP, Cornberg M, Wedemeyer H., Hepatitis-E: Eine Infektionskrankheit erlebt einen Bedeutungswandel. *Dtsch Med Wochenschr*. 2010 135(22):1129-33.
- Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis*. 2008 8(11):698-709.
- Mohn, U., S. Dorn, S.U. Emerson, B. Krämer, D. Wassenberg, M. Motz, R.H. Purcell. 2007. Serological test based on recombinant proteins of hepatitis E virus (HEV) is capable to detect IgG antibodies against all genotypes of HEV. Third European Congress of Virology, 1 – 5 September 2007, Nürnberg, Germany.
- Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, Mammen MP Jr, Thapa GB, Thapa N, Myint KS, Fourneau M, Kuschner RA, Shrestha SK, David GP, Seriwatana J, Vaughn DW, Safary A, Endy TP, Innis BL., Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *N Engl J Med*. 2007 356(9):895-903.
- Myint KS, Endy TP, Gibbons RV, Laras K, Mammen MP Jr, Sedyaningsih ER, Seriwatana J, Glass JS, Narupiti S, Corwin AL., Evaluation of diagnostic assays for hepatitis E virus in outbreak settings. *J Clin Microbiol*. 2006 44(4):1581-3.

13 Vysvětlení symbolů

	Obsah postačuje pro <n> testů Počet použití
RGT CART	Kazeta s reagenty
BEADMIX	Magnetické částice
DILUBUF	recomCLIA Dilution Buffer A
CONJ IgM	Konjugát protilátek proti lidskému IgM
CONTROL ± IgM	Cut-off kontrola IgM
INSTRU	Návod k použití
	Čtete návod k použití

IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
REF	Objednací číslo
LOT	Číslo šarže/verze
CONT	Obsah, obsahuje
	Výrobce
	Použit do data Datum expirace
	Uchovávejte při teplotě x °C až y °C
	Chraňte před mrazem
	Obsahuje deriváty lidské krve nebo plazmy
	Obsahuje biologický materiál zvířecího původu
	Výstraha

Doplňky, opravy nebo změny oproti předchozí verzi jsou vyznačeny na okraji.

14 Údaje o výrobci a verzi

recomCLIA HEV IgM	Kat. č. 75005
Návod k použití platný od	GARCHEM001CS 2025-02
	MIKROGEN GmbH Anna-Sigmund-Str. 10 82061 Neuried Německo SRN (jediné registrační číslo) DE-MF-000027747 Telefon +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 E-mail mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de
Souhrn údajů o bezpečnosti a klinické funkci: EUDAMED	



GARCHEM001