

Heikki Nuutinen

VIDAS[®]-menetelmien testaus SPR Veripalvelun infektioseulonnan jatkotutkimuskäyttöön

bioMérieux VIDAS[®] Anti-HCV-, HBsAg Ultra- ja HIV DUO Ultra-menetelmien sekä Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory -neutralisaatiomenetelmän testaus

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Laboratorioanalyttikko (AMK)

Laboratorioalan koulutusohjelma

Opinnäytetyö

23.7.2014

Kiitokset SPR Veripalvelulle, etenkin infektioseulontalaboratoriolle, joka mahdollisti kyseisen opinnäytetyön tekemisen. Haluan myös kiittää infektioseulonnan asiantuntija Susanna Wessbergiä, joka toimi opinnäytetyöohjaajana yrityksen puolesta sekä Metropolia Ammattikorkeakoulun laboratorioalan tutkintovaastaava Jarmo Palmia, joka toimi opinnäytetyöohjaajana ammattikorkeakoulun puolesta.

<p>Tekijä Otsikko</p> <p>Sivumäärä Aika</p>	<p>Heikki Nuutinen VIDAS[®]-menetelmien testaus SPR Veripalvelun infektiöseulonnan jatkotutkimuskäyttöön</p> <p>- bioMérieux VIDAS[®] Anti-HCV, HBsAg Ultra ja HIV DUO Ultra -menetelmien sekä Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory -neutralisaatiomenetelmän testaus</p> <p>46 sivua + 13 liitettä 23.7.2014</p>
<p>Tutkinto</p>	<p>Laboratorioanalyttikko (AMK)</p>
<p>Koulutusohjelma</p>	<p>Laboratorioalan koulutusohjelma</p>
<p>Ohjaaja(t)</p>	<p>Asiantuntija Susanna Wessberg, SPR Veripalvelu Tutkintovastaava Jarmo Palm, Metropolia AMK</p>
<p>Opinnäytetyö tehtiin SPR Veripalvelun infektiöseulontalaboratoriolle. Työn tavoitteena oli testata ELFA-tekniikkaan perustuvien bioMérieux'n VIDAS anti-HCV, HBsAg Ultra ja HIV DUO Ultra -menetelmien soveltuvuus infektiöseulonnan jatkotutkimuskäyttöön hepatiitti B- ja C -virusten sekä HI-viruksen osalta.</p> <p>VIDAS-menetelmien testaus suoritettiin VIDAS-sarjan miniVIDAS blue -immunoanalysaattorilla. Lisäksi testattiin Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory -menetelmän soveltuvuus jatko- ja varmistustutkimuskäyttöön. Testaus suoritettiin verenluovuttajanäytteillä sekä ulkoisilla laadunohjausnäytteillä. VIDAS-menetelmillä saatuja tuloksia verrattiin jatkotutkimuskäytössä oleviin Abbott'n AxSYM-menetelmien tuloksiin. Tulokset varmistettiin infektiöseulonnan muilla tutkimuksilla.</p> <p>Opinnäytetyön perusteella virheellisten reaktiivisten tulosten määrä väheni jokaisen viruksen osalta, etenkin hepatiitti C -viruksen osalta. Näin ollen siirryttäessä AxSYM-menetelmistä VIDAS-menetelmien rutiinikäyttöön, vähenisivät tehdyt varmistustestit, työ- määrä ja kulut.</p> <p>VIDAS-menetelmien todettiin soveltuvan verenluovuttajanäytteiden infektiöseulontaan ja Veripalvelu päätti ottaa bioMérieux'n VIDAS-menetelmät jatkotutkimuskäyttöön korvaamaan käytössä olevat Abbott'n AxSYM-menetelmät. Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory -testi ei Veripalvelun käyttötarkoitukseen ollut riittävän käyttäjäturvallinen tai toimintavarma, joten menetelmästä luovuttiin. Opinnäytetyössä selvisi myös miniVIDAS-analysaattorin kykenemättömyys lukea verenluovuttajanäytteissä käytettävää ISBT128-viivakoodia. VIDAS-sarjan VIDAS- ja VIDAS3-analysaattorit tukevat ISBT128-viivakoodia ja soveltuvat Veripalvelun käyttöön.</p>	
<p>Avainsanat</p>	<p>VIDAS, Architect, HCV, HBV, HIV, Veripalvelu, ELFA</p>

Author Title	Heikki Nuutinen Testing of the VIDAS® assays for Supplementary Testing in Infection Screening for Finnish Red Cross Blood Service - Testing of bioMérieux VIDAS® anti-HCV, HBsAg Ultra and HIV DUO Ultra Assays and Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory Neutralization Assay
Number of Pages Date	46 pages + 13 appendices 23 July 2014
Degree	Bachelor of Laboratory Science
Degree Programme	Laboratory Sciences
Instructor(s)	Susanna Wessberg, Specialist (FRC Blood Service) Jarmo Palm (Metropolia University of Applied Sciences)
<p>This thesis was made for the Infection Screening Laboratory of FRC Blood Service. The aim of the experiment was to examine if the ELFA-based bioMérieux VIDAS anti-HCV, HBsAg Ultra and HIV DUO Ultra assays are suitable to be used as supplementary tests in infection screening of hepatitis B and C and HIV.</p> <p>The examination of the VIDAS assays was performed with a miniVIDAS blue immunoanalyzer of the VIDAS series. The suitability of the Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory assay as supplementary and confirmatory test was also examined. The experiment was performed using blood donor samples and external quality control samples. The results of the VIDAS assays were compared to the results yielded with the Abbott AxSYM assays. The results were confirmed with other infection screening methods.</p> <p>Based on the experiment results the amount of false reactive results decreased for every virus, especially concerning hepatitis C virus. Therefore the shift from AxSYM assays to VIDAS assays in routine use would decrease the need of confirmatory tests, workload and expenses.</p> <p>The VIDAS assays were discovered to be suitable for infection screening of blood donor samples and the Blood Service decided to put the bioMérieux VIDAS assays to use in supplementary screening replacing current Abbott AxSYM assays. The Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory assay was neither user-friendly nor reliable enough for the purpose of use for the Blood Service. During the experiment it turned out that the miniVIDAS analyzer is incapable of reading the ISBT128 barcode used in blood donor samples. VIDAS and VIDAS3 analyzers of the VIDAS series support the ISBT128 barcode and are therefore suitable for use of the Blood Service.</p>	
Keywords	VIDAS, Architect, HCV, HBV, HIV, Blood Service, ELFA

Sisällys

Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Infektioseulonta	2
2.1	Hepatiitti C -virus	4
2.2	Hepatiitti B -virus	6
2.3	HI-virus	8
3	miniVidas® blue -immunoanalyyttori	11
3.1	Laitteen rakenne ja toiminta	11
3.2	VIDAS ELFA -tekniikka	12
3.3	Anti-HCV-testi	14
3.4	HBsAg Ultra -testi	16
3.5	HIV DUO Ultra -testi	17
3.6	Quality Control VIDAS® -laadunvarmistustesti	19
4	Vertailututkimusmenetelmät	20
4.1	Architect	20
4.2	AxSYM	22
4.3	ID-NAT	22
4.4	Immunoblottaus	23
5	Työn suoritus	23
5.1	Suunnitelman ja työohjeiden laatiminen	24
5.2	Näyteaineisto	24
5.2.1	VIDAS HCV-, HBV- ja HIV -näytteet	25
5.2.2	Architect HBsAg QII Confirmatory -näytteet	26
5.2.3	Kontrollit	26
5.3	Analysointi miniVIDAS®-analyyttorilla	27
5.4	Analysointi Architect-laitteella	29
6	Tulokset ja tulosten tarkastelu	30
6.1	Tulokset	30
6.2	miniVIDAS®-tulosten tarkastelu	38

6.3	HBsAg-neutralisaatiotestin tulosten tarkastelu	38
6.4	Raportointi	39
7	Päätelmät	39
7.1	VIDAS-sarjan analysaattori	39
7.2	VIDAS-menetelmät	40
7.3	Architect HBsAgQII Confirmatory -menetelmä	41
7.4	Vastaukset tutkimuskysymyksiin	41
8	Yhteenveto	42
	Lähteet	43
	Liitteet	
	Liite 1. Infektioseulonnan algoritmi	
	Liite 2. HI-, HB- ja HC-virusten esiintyvyys veressä ajan funktiona	
	Liite 3. miniVidas-laiteohje	
	Liite 4. Anti-HCV-menetelmäohje	
	Liite 5. HBsAg-menetelmäohje	
	Liite 6. HIVAb/Ag-menetelmäohje	
	Liite 7. Tutkimussuunnitelma	
	Liite 8. HCV-näytteiden tulokset	
	Liite 9. HBV-näytteiden tulokset	
	Liite 10. HIV-näytteiden tulokset	
	Liite 11. Tutkimusraportti	
	Liite 12. AxSYM-jatkotutkimukset 2009 - 2013	
	Liite 13. Varmistustestit 2009 - 2013	

Lyhenteet

Anti-HCV/HCVAb	Hepatiitti C -virusvasta-aine
ELFA	Enzyme Linked Fluorescent Assay eli entsyymivälitteinen fluoresenssianalyysi
HBsAg	Hepatiitti B -viruksen pinta-antigeeni
HBsAgQIIC	Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory -menetelmä
HIVAb	HI-virusvasta-aine
HIVAg	HI-viruksen antigeeni
HTLV	Humaani T-lymfosyyttivirus. Retrovirus, joka aiheuttaa leukemiaa ja lymfoomaa.
MLE	Master Lot Entry eli reagenssierän master lot -tiedot sisältävä kortti
NAT	Nucleic acid Amplification Techniques eli nukleiinihappomonistusmenetelmä
QCV	Quality Control VIDAS eli VIDAS-analysaattorin laadunohjauskitti
VIPO	Toistuneesti varmistettu seuranta, eli 3 perättäistä kertaa jatkoseulontatestillä reaktiivinen tulos mutta varmistustestissä negatiivinen tai luokittelematon tulos. Tästä tuloksesta luovuttaja saa määräaikaisen luovutuskiellon.

1 Johdanto

Opinnäytetyö toteutettiin Suomen Punaisen Ristin (SPR) Veripalvelun infektiotutkimuslaboratoriolle. Infektiotutkimuslaboratorio on osa Veripalvelun laboratorion palveluja, joiden tarkoituksena on tutkia luovutetun veren turvallisuus ja veriryhmäominaisuudet. Laboratorion palvelut tarjoavat myös erilaisia kliinisiä laboratoriotutkimuksia sairaaloille, tekevät kaikki elin- ja kantasolusiirtojen kudostyyppitykset sekä suorittavat raskaana olevien naisten veriryhmävasta-ainetutkimukset. [1, s. 14.]

SPR Veripalvelu on vuonna 1948 perustettu, toiminnallisesti ja taloudellisesti erillinen osa Suomen Punaista Ristiä. Veripalvelu hoitaa koko Suomen veripalvelutoiminnan. Laboratoriotutkimukset, laadunvalvonta ja tukipalvelut on keskitetty Helsingin Kivihaakaan, jonka lisäksi Veripalvelun toimistoja on kahdeksalla muulla paikkakunnalla. Veripalvelutoimistojen lisäksi verta voi luovuttaa liikkuvissa verenluovutustilaisuuksissa, jotka kiertävät kunnissa ja kaupungeissa sekä muun muassa varuskunnissa. Verenluovutus perustuu vapaaehtoisuuteen ja maksuttomuuteen. Vuosittain luovutuksia kertyy yli 250 000, joista 12 % tulee ensiluovuttajilta. Luovutetusta verestä valmistetuilla verivalmisteilla autetaan joka vuosi yli 50 000 potilasta ympäri Suomea. Veripalvelun toimintaa ohjaa Veripalvelulaki (197/2005) sekä EU:n veriturvallisuudirektiivi (2002/98/EY). Suomessa Veripalvelun toimintaa valvoo Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus Fimea. [1, s. 2; 2.]

Veripalvelun tulee taata ja varmistaa jokaisen luovutetun veriyksikön turvallisuus. Verenluovutuksen perustuminen vapaaehtoisuuteen ja maksuttomuuteen karsii riskikäyttäytyjiä ja mahdollisia tartuntatekijöitä jo ennen luovutusta. Verivalmisteiden välityksellä tapahtuvien mikrobitartuntojen estämiseksi käytetään useita toisiaan täydentäviä toimenpiteitä, joista tärkeimpiä ovat seulontatutkimukset, huolellinen aseptinen verenotto-tekniikka, verivalmisteiden suljettu pussijärjestelmä sekä veri- ja plasmalääkkeiden mikrobi-inaktivaatio. Veren välityksellä tarttuvia mikrobeja ovat muun muassa hepatiitti B- ja C -virukset (HBV, HCV) ja HI-virukset (HIV 1 ja 2). [3, s. 732.]

Opinnäytetyö oli osa laajempaa SPR Veripalvelun infektioseulontalaboratorion projektia, jossa jo 15 vuotta jatkotutkimuskäytössä ollut *Abbott AxSYM* -mikropartikkelianalysointimenetelmään korvataan uudella analysointimenetelmällä. Opinnäytetyön pääasiallisena tavoitteena oli selvittää *bioMérieux VIDAS*[®]

-menetelmien soveltuvuus infektiöseulonnan jatkotutkimuskäyttöön verenluovuttajinäytteistä, *miniVIDAS blue* -immunoanalyyttorilla, hepatiitti C -viruksen vasta-aineiden, hepatiitti B -viruksen pinta-antigeenien sekä HI-virusten vasta-aineiden ja antigeenien osalta. Samalla vertailtiin *Abbott Architect HBsAg Qualitativell Confirmatory* -neutralisointitestiä *Vidas® HBsAg Ultra* -testiin.

Opinnäytetyössä etsittiin vastauksia seuraaviin tutkimuskysymyksiin:

1. Soveltuuko *bioMérieux miniVIDAS® blue* -immunoanalyyttori SPR Veripalvelun infektiöseulonnan jatkotutkimuskäyttöön korvaamaan nykyisen *Abbott AxSYM* -mikropartikkelianalyyttorin?
2. Soveltuvatko *bioMérieux VIDAS® anti-HCV*-, *HBsAg Ultra*- ja *HIV Duo Ultra* -menetelmät SPR Veripalvelun infektiöseulonnan jatkotutkimuskäyttöön korvaamaan nykyiset *Abbott AxSYM HBsAg*, *HCVAb* ja *HIVAb/Ag* -menetelmät?
3. Kumpi menetelmä soveltuu paremmin HBV-jatkotutkimustestiksi SPR Veripalvelun infektiöseulontaan: *Abbott Architect HBsAg Qualitativell Confirmatory* -neutralisointitesti vai *bioMérieux VIDAS® HBsAg Ultra* -testi?

Tutkimuskysymyksiin saatujen vastausten pohjalta Veripalvelu päättää, siirrytäänkö infektiöseulonnessa käyttämään *bioMérieux VIDAS®* -sarjan immunoanalyyttoria ja sen HCV-, HBV- ja HIV-testejä jatkotutkimuksissa. Jos *VIDAS*-laitteeseen päädytään, käytetään tämän opinnäytetyön tuloksia hyväksi lopullisessa validoinnissa. Samalla päätetään kumpaa testiä, *HBsAg*-neutralisointitestiä vai *HBsAg Ultra* -testiä, aletaan käyttää infektiöseulonnessa jatkotutkimustestinä.

2 Infektiöseulonta

Jokaisesta luovutetusta veriyksiköstä toimitetaan näyte infektiöseulontalaboratorioon, jossa niistä suoritetaan sekä serologisia että nukleiinihappomonistusmenetelmä (NAT, Nucleic acid Amplification Techniques) -tutkimuksia. Serologisissa tutkimuksissa verenluovuttajanäytteistä tutkitaan HI-virukset (HIV-1 ja -2), hepatiitti B- ja C -virukset sekä parvovirus (B19). NAT-tutkimuksissa tutkitaan sekä DNA- että RNA -viruksia: hepatiitti A-, B- ja C -virukset, HI-1-virus sekä parvovirus. [4.]

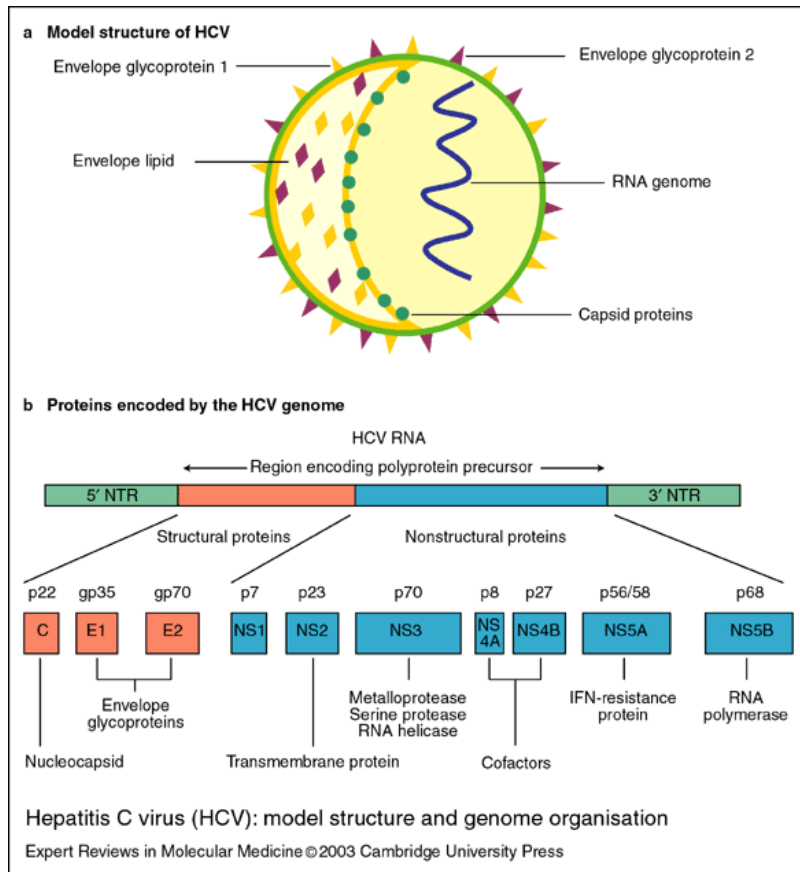
Serologisissa tutkimuksissa käytetään *Abbott Architect* -analysaattoria, *Abbott AxSYM* -mikropartikkelianalysaattoria ja *INNO-LIA™* -immunoblottausta. Liitteessä 1 on esitetty infektioseulonnessa käytettävä supistettu algoritmi, jonka mukaan varmistetaan näytteiden tulokset [5]. *Architect*-analysaattorilla suoritetaan primaariseulonta, jonka jälkeen reaktiiviset näytteet toistetaan rinnakkaisina. Mikäli tulos on edelleen reaktiivinen, suoritetaan jatkotutkimus *AxSYM*-mikropartikkelianalysaattorilla. Lopuksi, jatkotutkimuksessa reaktiivisen tuloksen saaneet näytteet, varmistetaan vielä *INNO-LIA™* -immunoblottauksella (HCV ja HIV) tai *Architect*-analysaattorilla (HBV) riippuen tutkittavasta viruksesta. Tulos voi olla positiivinen, negatiivinen tai epäselvä. Ainoastaan tutkitusti negatiivisiksi todetut luovutetut veriyksiköt vapautetaan verivalmistukseen ja toimitettavaksi eteenpäin. Tartuttavia veriyksiköitä pääsee, vuonna 2012 suoritettun riskiarvioinnin mukaan, laskennallisesti tuotantoon ja jakeluun HB-viruksen osalta yksi yksikkö 16 vuodessa, HC-viruksen osalta yksi yksikkö 40 vuodessa ja HI-virusten osalta yksi yksikkö 100 vuodessa [3, s.733]. Riskiarviointi uusitaan joka vuosi. Todettuja verivalmisteen aiheuttamia HIV-tartuntoja ei ole ollut vuoden 1985 jälkeen eikä HCV-tartuntoja vuoden 2000 jälkeen [3, s.733 - 734.].

NAT-tutkimuksissa käytetään *Novartis Procleix TIGRIS* -automaattia. *Tigris*-automaatilla, nukleiinihappojen monistustekniikoilla tutkitaan hepatiitti A- (HAV), hepatiitti C- ja HI-1 -virusten RNA sekä hepatiitti B -viruksen ja parvoviruksen (B19) DNA verenluovuttajanäytteistä. Testit suoritetaan HBV:n, HCV:n ja HIV:n osalta yhdistelmä-tutkimuksena (HIBC-NAT). Reaktiivisen tuloksen saanut näyte uusitaan HIBC-NAT:illa kahtena rinnakkaisena. Jos toinen tai molemmat rinnakkaisista näytteistä ovat positiivisia, suoritetaan erottelutesti, jolla selvitetään, mistä viruksesta on kyse. Hepatiitti A -virus ja parvovirus tutkitaan 16 näytteen pooleina eli usean näytteen sekoituksena. Reaktiiviset poolit puretaan ja näytteet mitataan yksittäismäärityksinä, jotta saadaan selville, mikä näytteistä on positiivinen. [4.] Hepatiitti B- ja C -virusten sekä HI-viruksen tulokset vaikuttavat kaikkiin verivalmisteesiin. Jos tulos on jollekin kyseessä olevalle virukselle positiivinen, ei luovutettua verta vapauteta tuotantoon. [5, L4.] Hepatiitti A -viruksen ja parvoviruksen tulos vaikuttaa ainoastaan fraktiointiplasman kelpoisuuteen. Jos tulos on kyseessä oleville viruksille positiivinen, ei luovutetusta verestä erotettua plasmaa vapauteta jakeluun. [5, L5.]

2.1 Hepatiitti C -virus

Hepatiitti C -virus, joka vuoteen 1989 asti tunnettiin nimellä ”non-A, non-B hepatiitti” (NANBH) -taudinaiheuttajana, on flavivirusten ryhmään kuuluva, vaipallinen RNA-virus (kuva 1) [6, s. 1; 7, s. 69.]. 1970-luvun puolivälissä tulehduksellisen maksasairauden, joka ei johtunut hepatiitti A- tai B -viruksesta, aiheuttajaksi esiteltiin NANBH. Verensiirtopotilaat sairastuivat maksatulehdukseen, vaikka siirretty veri oli seulottu hepatiitti A:n ja B:n osalta. Alettiin epäillä, että hepatiitti B -viruksen lisäksi on olemassa jokin toinenkin hepatiittivirus, jonka päätartuntamekanismi on parenteraalinen eli verivälitteinen tartunta. 1970- ja 1980-luvuilla NANBH:n tutkimisessa edettiin merkittävin tuloksin: onnistuttiin siirtämään taudinaiheuttaja simpanssiin, suodattamalla saatiin taudinaiheuttajan kooksi alle 80 nm, mikä antaa viitteitä sen olevan virus sekä huomattiin taudinaiheuttajan sietävän kloroformia, mikä viittaa vaipalliseen rakenteeseen. 1989 NANBH-taudinaiheuttaja saatiin kloonatuksi ja sen nukleiinihappo saatiin selville. Taudinaiheuttaja osoittautui vaipalliseksi positiivisen yksijuosteisen RNA:n omaavaksi virukseksi. NANBH taudinaiheuttaja nimettiin hepatiitti C -virukseksi. [6, s. 1 - 2.]

Hepatiitti C -virus on *Flaviviridae*-heimoon kuuluva *Hepacivirus*-suvun RNA-virus. Kooltaan se vaihtelee 45 - 100 nm riippuen lipidivaipan koostumuksesta, paksuudesta ja siitä, onko vaippaa lainkaan. Virionit eli infektiiviset virukset voidaan esiintyvyyden mukaan jakaa kahteen populaatioon: 45 nm ja 60 nm halkaisijaltaan oleviin virioneihin. Halkaisijaltaan 45 nm virioneilla ei ole kapsidin lisäksi lipidimembraania ja niiden on todettu olevan vähemmän infektoivia. 60 nm halkaisijaltaan olevat virionit koostuvat kapsidin lisäksi kaksikerroksisesta lipidimembraanista eli vaipasta ja niiden on todettu olevan patogeenisia. Kapsidi ja vaipan proteiinit koostuvat proteiineista, joita RNA koodaa (Kuva 1). Hepatiitti C -viruksen nukleiinihappo, RNA, sisältää yhteensä noin 9600 emäsparia, jotka koodaavat yli 3000 aminohappoa [6, s.3]. Kapsidi koostuu C-(core)-proteiinista, joka on noin 190 aminohapon polyproteiini. Samoihin rakenneproteiineihin C-proteiinin lisäksi kuuluvat lipidivaipan glykoproteiinit E1 ja E2. Nonstrukturaali- eli replikaasiproteiineja (NSP) on ainakin seitsemän: p7 (NS1), NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A sekä NS5B. Nonstrukturaaliproteiinit eivät ole osa viruksen rakennetta vaan osallistuvat viruksen genomien replikaatioon tai muihin toimintoihin (kuva 1). Replikaasiproteiinit, lukuun ottamatta p7-proteiinia, osallistuvat kuvan 1 mukaisesti tehtäviin replikaatioissa. Hepatiitti C -viruksen genomissa tapahtuu suuria määriä mutaatioita ja yhdessä tartunnankantajassa voi olla useita eri genomien omaavia HC-virusia. [8, s. 221 - 235.]



Kuva 1. Hepatiitti C -viruksen rakenne ja proteiinien tuotanto RNA:sta. [40.]

Hepatiitti C -virus aiheuttaa hepatiitin eli maksatulehduksen, joka voi johtaa hoitamattomana maksakirroosiin ja maksasyöpään [9, s. 119 - 130.]. Tartunta tapahtuu parenteraalisesti, mutta tartuntoja on dokumentoitu myös muiden eritteiden välityksellä sekä äidiltä lapselle. Noin 80 %:lle taudinsaajista kehittyy krooninen infektio, jolloin infektio on jatkunut diagnoosista vähintään kuusi kuukautta. Krooninen infektio on usein oireeton, mutta johtaa maksakirroosiin noin kolmanneksella parin vuosikymmenen aikana. Akuutin vaiheen aikana tapahtuu yhdistelmä tulehduksellisia tapahtumia, kuten makrofagien ja lymfosyyttien aktivaatiota sekä maksasolujen vahingoittumista ja regeneraatiota. [7, s. 69; 9, s. 119 - 130.] HC-virus tunkeutuu isäntäsoluun lipdivaipan E1- ja E2-glykoproteiinien (kuva 2) avustuksella. Glykoproteiinit kiinnittyvät isäntäsolun pintarakenteisiin ja virus siirtyy solun sisälle. Isäntäsolun sisällä virus tuottaa uusia virioneja replikaatiolla. Itämisaika on noin kolme vuorokautta, jonka jälkeen tartunnansaajan verestä on mitattavissa HC-viruksen RNA:ta (liite 2, kuva 1). [8, s. 221 - 235.] Isäntäsoluina toimivat yleensä maksan solut, mutta myös muita sijainteja on esitetty, kuten B-lymfosyytit, monosyytit sekä makrofagit [10, s. 266.].

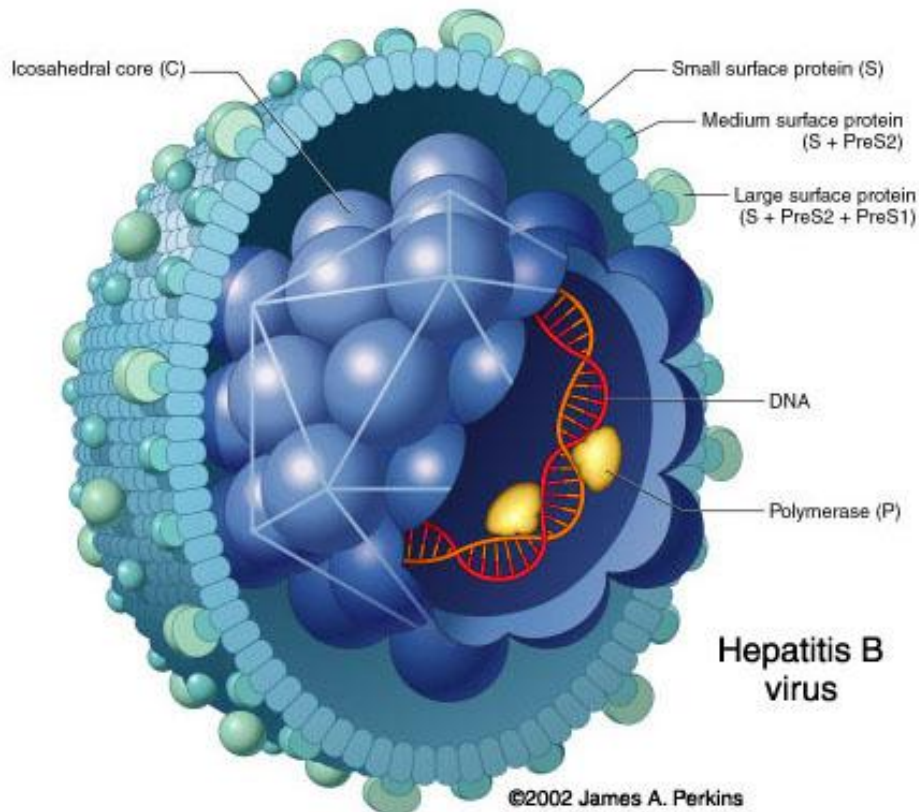
Hepatiitti C -virusrokotetta ei ole vielä saatu kehitettyä. HCV-infektion hoitona, sekä akuutissa että kroonisessa vaiheessa, käytetään nykyään yhdistelmähoitoa, joka koostuu interferoniterapiasta (pegyloidut α -interferonit) ja ribaviiriinilääkityksestä. Interferonit ovat ihmisen omia, viruksilta suojaavia proteiineja, joita voidaan tuottaa geenitekniikan avulla. Hoitovaste vaihtelee 50 %:n ja 80 %:n välillä. Yhdysvaltalaisen tutkimuksen mukaan on kehitetty lääkeyhdistelmä, jonka hoitovaste on 90 %, ja C-hepatiitti saatiin kokonaan hävitettyä tartunnansaajasta [14.]. Tartuntariski on hyvin vähäinen arkielämässä. Suurimpia riskitekijöitä on suonensisäisten huumeiden käyttö kontaminoidulla neulalla. [11; 12; 13.]

2.2 Hepatiitti B -virus

B-hepatiittia, joka tunnetaan myös seerumihepatiittina sekä keltatautina, aiheuttava hepatiitti B -virus kuuluu *Hepadnaviridae*-virusheimoon [7, s. 54.]. Ensimmäisten havaintojen infektiivisen B-hepatiitin kaltaisista oireista uskotaan juurtavan Hippokrateen ajalle 800-luvulla, mutta vasta 1900-luvun alussa ehdotettiin taudin aiheuttajaksi virus-ta. Vuonna 1947 hepatiitti A- ja B -virukset luokiteltiin infektoivaksi hepatiitiksi (HAV) ja seerumihepatiitiksi (HBV). Australian antigeenin löytämisellä vuonna 1965 oli suuri merkitys HBV:n tutkimisessa ja tunnistamisessa. Australian antigeeni luokiteltiin myöhemmin hepatiitti B:n pinta-antigeeniksi (HBsAg). Loput HBV-partikkelit, kokonainen HB-virus sekä HB-e -antigeeni, tunnistettiin 1970-luvulla. [15.]

Hepatiitti B -virus on pyöreä, halkaisijaltaan 42 - 47 nm oleva *Hepadnaviridae*-heimoon kuuluva *Orthohepadnavirus*-sukuinen hepatiittivirus, jolla on osittain kaksijuosteinen DNA (kuva 2). HB-virioni koostuu lipidivaipasta ja proteiinirakenteisesta nukleokapsidista. Kapsidin sisällä on viraali DNA ja DNA-polymeraasientsyymi (kuva 2). Vaippa sisältää erikokoisia pintaproteiineja (surface protein), jotka osallistuvat isäntäsoluun sitoutumiseen ja tunkeutumiseen (kuva 2). Genomi koostuu 3215 nukleotidistä, jotka jakautuvat neljään tunnettuun geeniin. Geenit ovat nimeltään C, P, S ja X. C-geeni koodaa ydinproteiinia (core protein, HBcAg), P koodaa polymeraasientsyymiä, S koodaa kolmea pinta-antigeenien polypeptidiä (HBsAg) ja X viraalin transkription transaktivaattoria. Ei-koodaavia alueita ei tiedetä olevan lainkaan. HBV tarvitsee isäntäsolun voidakseen replikoitua. Tällaisia sopivia isäntäsoluja ovat hepatosyytit eli maksasolut. Virioni tunkeutuu pintaproteiinien avulla isäntäsoluun ja käyttäen hyväksi isäntäsolun toimintoja alkaa tuottaa viruksen rakenneosia ja uusia virioneita käänteistranskriptiolla.

Osittain vajaa kaksijuosteinen DNA sulkeutuu kokonaan muodostaen täydellisen ympyrän ennen transkriptiota. HBV-infektio on havaittavissa infektoituneen verestä noin 20 vuorokauden kuluttua infektiosta NAT-analyysillä (liite 2, kuva 2). HBs-antigeeniä esiintyy veressä 40 vuorokauden kuluttua infektiosta, HBc-vasta-ainetta 7 viikon kuluttua ja HBs-vasta-ainetta 30 viikon kuluttua infektiosta. [16.]



Kuva 2. Hepatiitti B -viruksen rakenne. [41.]

Hepatiitti B -virus tarttuu pääosin parenteraalisesti ihon läpi tai limakalvoilta, mutta myös sukupuoliyhdyntän kautta tai perinataalisesti äidiltä lapselle. Suurimmat riskitekijät ovat suonensisäiset ruiskuhuumeet sekä suojaamaton sukupuoliyhdyntä. Parhaiten hepatiitti B -virioni säilyy veressä, jossa sen pitoisuus voi olla moninkertainen muihin eritteisiin verrattuna. Hepatiitti B -virus aiheuttaa hoitamattomana hepatiitin eli maksatautiin. HBV-tartunnat voidaan jakaa kolmeen luokkaan lopputulosten pohjalta: akuutti-infektio, jota seuraa täysi toipuminen ja pysyvä suoja loppuelämäksi (yli 90 % tartunnoista), äkillinen hepatiitti, joka lyhyessä ajassa aiheuttaa vakavan maksan vajaatoiminnan ja lopulta, noin yhdeksälle kymmenestä tartunnansaajasta, kuoleman (alle 1 % tartunnoista) sekä krooninen infektio, joka johtaa viruksen pysyvään kantavuuteen.

Hoitamattomana krooninen hepatiitti voi aiheuttaa tartunnansaajalle maksasyövän ja -kirroosin. Krooninen infektio voi olla piilevänä vuosikymmeniä, jolloin se on vaikeasti todettavissa tutkimuksilla veren laskeneiden virioni- ja HBs-antigeenitasojen takia (liite 2, kuva 2). Piilevää HBV-infektiota kutsutaan OBI:ksi (occult HBV infection) (liite 2, kuva 2). [7, s. 68; 17, s. 240 - 241.] Suurin osa akuuteista HBV -infektioista on oireettomia, vain noin 40 % tartunnan saaneista saa eriasteisia oireita. Akuutin vaiheen oireet häviävät noin 2 viikossa. Jos tauti kroonistuu, esiintyy kantajan veressä vielä 6 kuukauden jälkeen HB-viruksen pinta-antigeeniä (HBsAg). [19.] Yhdessä altistuksessa tartuntariski on 5 - 25 % [18, s. 154.].

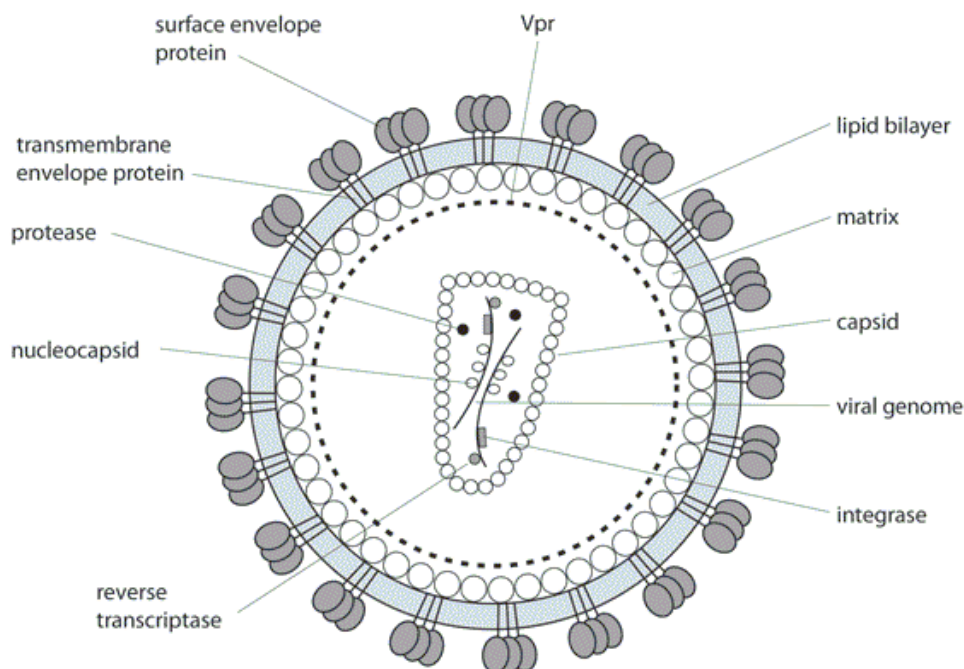
Virionin proteiini- ja pinta-antigeenit (HBsAg) aiheuttavat elimistössä vasta-aineen muodostumisen. Vasta-ainetta kutsutaan anti-HBs:ksi (HBsAb). HB-pinta-antigeeniä tuotetaan ylimäärin viruksen replikaatiossa, jolloin sitä esiintyy suuria määriä veressä. [20, s. 64; 21, s. 143 - 151.] HBsAg:n esiintyminen veressä viittaa tarttuvaan infektiin. B-hepatiitti on tarttuva noin viikon ennen oireiden ilmenemistä niin kauan kuin veressä esiintyy HBs-antigeeniä. HBV:n itämisaika on 2 - 6 kuukautta. [18, s. 154.] Kroonisessa HBV-infektiossa esiintyy, tartunnan saaneen veressä, HBs-antigeenin lisäksi myös joko HB-ydinantigeeniin pilkkoutumistuotetta HBe-antigeeniä tai HBe-vasta-ainetta eli anti-HBe:tä, taikka molempia. HB-ydinantigeeniä, HBcAg:tä ei esiinny veressä, koska se pilkkoutuu osiin HBe-antigeneiksi. Antigeenien ja vasta-aineiden lisäksi veressä esiintyy myös kokonaisia HB-viruksia, jolloin niiden DNA on eristettävissä ja tutkittavissa (liite 2, kuva 2). HBV:tä voidaan tutkia verestä DNA-monistuksen lisäksi serologisesti vasta-aine- ja antigeeni-testeillä. [21, s. 143 - 151.] B-hepatiittia hoidetaan interferoneilla ja spesifisillä viruseroilla sekä ehkäistään kombinanttirokotussarjalla, joka annetaan kolmessa osassa. Noin 90 % rokotetuista saa elinikäisen suojan hepatiitti B:tä vastaan. [19.]

2.3 HI-virus

HI-virus eli humaani-immuunikatovirus (human immunodeficiency virus, HIV) on *Retroviridae*-virusheimon *Lentivirus*-sukuinen vaipallinen RNA-virus (kuva 3). HI-1-virus, joka on HI-viruksen toinen yleinen tunnettu alatyyppejä, tunnistettiin vuonna 1983 kuuluvaksi *Retroviridae*-heimo. Vaikka eläimiä infektoivia lentiviruksia oli 1900-luvulla löydetty ja tunnistettu useita, kesti HIV:n tunnistaminen kauan. AIDSin (acquired immune deficiency syndrome, hankittu immuunikatotauti) uskottiin johtuvan HTL-viruksista, jotka aiheut-

tavat leukemiaa ja lymfoomaa. Sekä HIV että HTLV infektoivat lymfosyyttejä, mikä johti niiden vaikeaan erottamiseen. Molempien virusten aiheuttamien infektioiden epidemiologiat ovat myös hyvin samankaltaiset. HIV eristettiin ensimmäisen kerran imusolmukkeesta ja sen huomattiin sisältävän käänteistranskriptioentsyymiä, joka poikkesi HTL-viruksista. Tämä virus esiteltiin aluksi HTL-III-virukseksi, joka myöhemmin muutettiin HIV:ksi. Myöhemmin löytyi toinen HIV:n alatyyppejä, joka nimettiin HI-2-virukseksi. [22, s. 1 - 5.] Tämän jälkeen on löydetty useita toisistaan geneettisesti poikkeavia mutaatioita ympäri maailman [23].

HI-virioni on halkaisijaltaan 100 - 120 nm, ja sillä on kaksikerroksisen lipidivaipan lisäksi 3 alemmaa rakenneproteiinikerrosta: MA (matrix, p17), CA (capsid, p24) sekä NC (nucleocapsid, p7) (kuva 3). MA muodostaa vaipanalaisen kerroksen, CA muodostaa kartiomaisen, RNA-genomin sisältävän, kapsidin ja NC eli nukleokapsidi vuorovaikuttaa viraalin RNA:n kanssa edesauttaen käänteistranskriptiota. Näitä rakenneproteiineja kutsutaan yhteisnimellä Gag (group-specific antigen). HIV:n genomi sisältää geenit noin 18 proteiinille, joilla on eri tehtävät viruksen replikaatiossa tai virionin rakenteessa. [22, s. 8 - 11.]



Kuva 3. HI-viruksen rakenne. [42.]

HI-virustartunnan aikana virionit tarttuvat ja tunkeutuvat ensisijaisesti CD4⁺-lymfosyyteihin. HIV on mitattavissa infektoituneen verestä noin 6 vuorokauden kuluttua infektiosta (liite 2, kuva 3). Kapsidiproteiinia, p24, esiintyy veressä noin 2 viikon kuluttua infektiosta, mutta sen taso laskee nopeasti (noin 4 viikkoa infektiosta) HIV-vasta-aineen muodostumisen myötä (liite 2, kuva 3). HI-virus kääntää RNA-genominsa DNA:ksi käänteistranskriptioentsyymillä (RT) ja liittää lähes poikkeuksetta DNA:nsa isäntäsolun genomiin, jolloin infektiota kroonistuu eikä sitä voida parantaa lääkkeitä tai rokotteilla. Infektio johtaa pitkittyessään hankittuun immuunikatotautiin eli AIDSiin vähintään 90 %:lla HIV-tartunnan saaneista. [7, s. 73.] AIDS käsittää useita epänormaaleja ja immuunijärjestelmän toimintoja. AIDS diagnosoidaan, jos HIV-infektion saaneella CD4⁺-lymfosyyttien määrä veressä laskee alle 200 soluun millilitrassa ja/tai infektoituneelle kehittyy jokin opportunisti-tauti. CD4⁺-lymfosyyttien hitaan laskemisen uskotaan johtuvan kierteestä, jossa CD4⁺-lymfosyytit infektoituvat ja tuottavat uusia virioneja samalla hajoten, uudet virionit houkuttelevat uusia CD4⁺-lymfosyyttejä, jolloin nekin taas infektoituvat. Elimistö tuottaa uusia CD4⁺-lymfosyyttejä, kunnes se ei enää pysty tuottamaan niitä riittävällä nopeudella HI-virionien lisääntyessä veressä, jolloin veren CD4⁺-taso laskee. [17, s. 220 - 223.]

HI-virusinfektiota pidetään parantumattomana. HIV tarttuu veren ja muiden lymfosyyttejä sisältävien eritteiden, kuten siemennesteen välityksellä. Suurimpia riskitekijöitä ovat suojaamaton sukupuoliyhdyntä tartunnankantajan kanssa, suonensisäiset ruiskuhuumeet sekä tartunta äidiltä lapselle perinataalisesti. Myös syljen välityksellä tapahtuneita infektoita on rekisteröity ja näin ollen myös sylkeä voidaan pitää tartuntavaarallisena, vaikka sen viruspitoisuus on murto-osa seerumiin verrattuna. Noin puolella infektoituneista ilmenee mononukleosin kaltaisia oireita 2 ensimmäisen viikon aikana infektiosta. Muilla alku on oireeton. Tauti etenee hitaasti AIDSksi. Hoitamattomana 15 - 20 % sairastuisi AIDSiin 5 vuodessa, 50 % 10 vuodessa ja loput 15 vuodessa. Lääkityksellä taudin etenemistä AIDSksi voidaan hidastaa, muttei kokonaan parantaa. [7, s. 73.] Tautia hoidetaan sekä antiviraalisella lääkityksellä että pitämällä opportunisti-taudit kurissa mikrobilääkkeillä ja profylaksilla eli ennaltaehkäisevällä lääkehoidolla. Nykyään hoidolla saadaan HI-viruksen lisääntyminen hidastettua tai lähes kokonaan pysäytettyä. Myös tartuttavuuden on todettu laskevan. [24.]

3 miniVidas® blue -immunoanalyyttori

bioMérieux miniVidas blue on kompakti automatisoitu multiparametrinen immunokemian analyyttori, jonka määritykset perustuvat entsyymi-immunologiseen tekniikkaan (Enzyme Linked Fluorescent Assay, ELFA). *bioMérieux VIDAS* -menetelmiä ovat muun muassa hepatiitti C -virusvasta-aineiden määrittäminen (anti-HCV), HIV-1 ja -2 -vasta-aineiden (anti-HIV) ja HIV-antigeenin (HIVAg) määrittäminen sekä hepatiitti B -viruksen pinta-antigeenin määrittäminen (HBsAg). Niissä käytetään *bioMérieux*'n valmistamia *VIDAS*-valmisreagenssipakkauksia, jotka sisältävät menetelmäkohtaiset reagenssit, kontrollit ja vakiot. Annostelun ja optiikan toimivuuden testaukseen on *VIDAS Quality Control* -laadunvarmistustesti (QCV). Reagenssit ja menetelmät ovat kaikille *bioMérieux VIDAS* -sarjan analyyttoreille samat. *VIDAS*-sarjaan kuuluvat, *miniVIDAS*-, *VIDAS*- sekä *VIDAS3*-analyyttorit. [25.]

3.1 Laitteen rakenne ja toiminta

miniVIDAS-analyyttori (kuva 4) on pöytämallinen, noin 40 kg painava *bioMérieux*'n vuodesta 1993 valmistama immunoanalyyttori. Se rakentuu kahdesta erillisestä näytelohkosta, joihin reagenssiliuskat (reagent strip) asetetaan (kuva 4), kahdesta kärkitekniikasta (kuva 4), kahdesta mikroprosessorista, jotka ohjaavat annostelua, yhdestä pääyksiköstä, joka ohjaa koko analyyttoria, kahdesta inkubaattorista, fluorometrisestä optisesta systeemistä (ksenon-lamppu ja fotodiodi), kahdesta viivakoodinlukijasta (sisäinen ja ulkoinen), lämpöpaperitulostimesta (ulkoinen tulostin on kytkettävissä, kuten kuvassa 4 on esitetty) sekä käyttöasemasta (näppäimistö ja nestekidenäyttö).

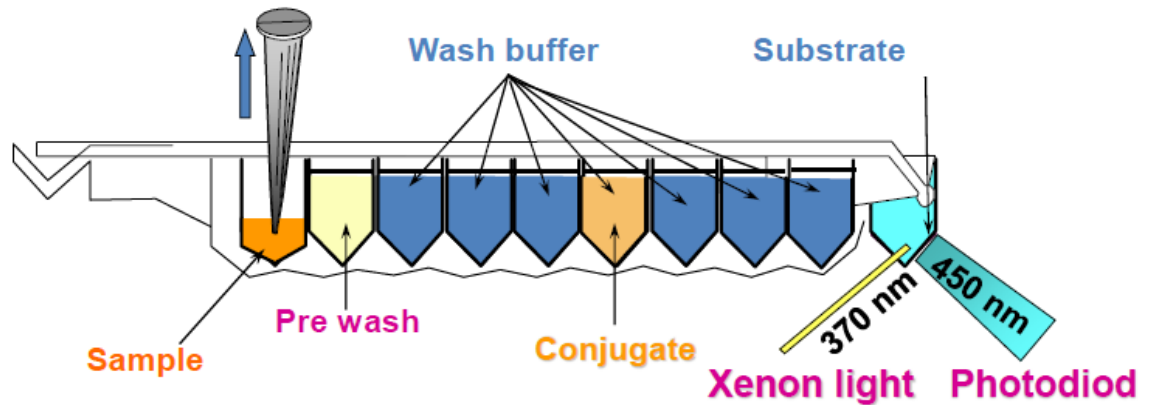
Näytelohkot toimivat erillisinä yksikköinä, joihin molempiin mahtuu kuusi reagenssiliuskaa ja kärkeä (SPR®, Solid Phase Receptacle) eli yhteensä 12 testiä kerrallaan. Laitteen muistiin on tallennettu menetelmät, joita analyyttori tukee. Jos jokin menetelmä puuttuu tai tarvitsee päivityksen, asennetaan se reagenssipakkauksessa tulevan viivakoodin avulla. Laite tukee yhteensä yli 100 menetelmäparametria. Kaikki menetelmät suoritetaan yksittäismäärityksinä kertakäyttöisillä reagenssiliuskoilla ja kärjillä, mikä minimoi ristikontaminaation riskin. Laitteelle luvataan jopa 1100 päivän toimivuutta ilman laitevikoja. *miniVIDAS*-laite tukee ainoastaan yhdensuuntaista laiteliittymää, laitteelta laboratoriotietojärjestelmään (LIS). [25.]



Kuva 4. miniVIDAS blue -analysointilaitteisto Veripalvelun tiloissa. VIDAS-reagenssiliuskojen (kuvassa alhaalla vasemmalla) ja SPR-kärkien (kuvassa ylhäällä vasemmalla) sijainti miniVIDAS-laitteessa.

3.2 VIDAS ELFA -tekniikka

ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) eli entsyymivälitteinen fluoresenssianalyysi kuuluu entsyymivälitteisiin immuno-analyysimenetelmiin (EIA). EIA viittaa kaikkiin immunoanalyysiin, joissa detektiossa käytetään entsyymin reaktiota substraatin kanssa hyväksi. ELISA mielletään perinteiseksi kuoppalevyllä tehdyksi entsyymi-immunoanalyysiksi, jossa detektio tapahtuu entsyymin välityksellä muuttamalla väritömän substraatin värilliseksi tuotteeksi. ELFA poikkeaa ELISASTA mitattavan tuotteen suhteen: ELFAssa tuotetaan substraatista fluoresoiva tuote entsyymin välityksellä. [26] Syntyneeseen substraattituotemolekyylin kohdistetaan 370 nm:n aallonpituista ksenon-lampulla tuotettua valoa, jolloin tuotemolekyylin absorboi fotonin ja emittoi matala-energisemmän fotonin, jolla on suurempi aallonpituus (450 nm). Fluoresoiva valo mitataan fotodiodilla (kuva 5). [27.]

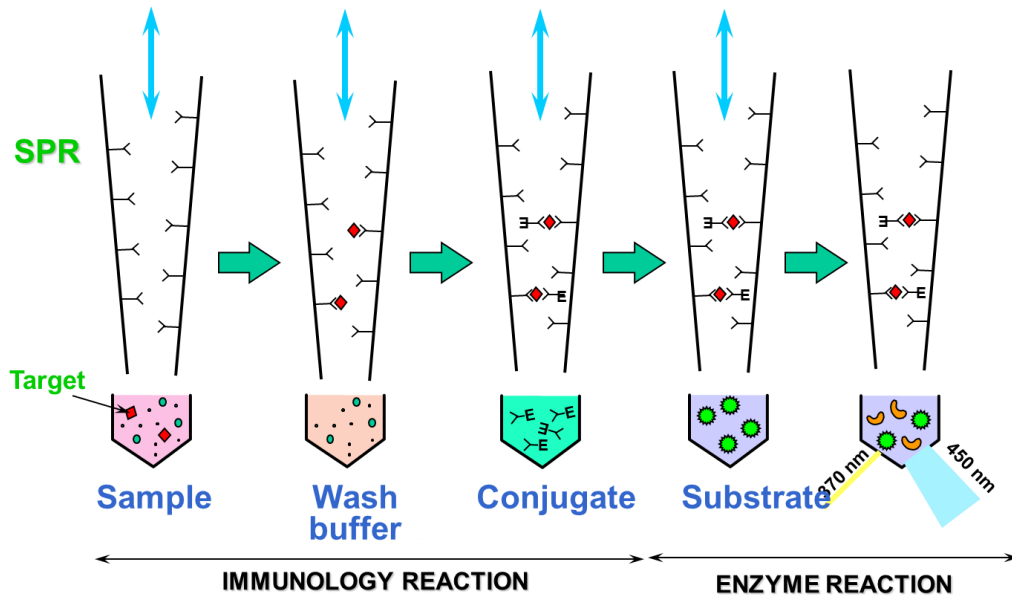


Kuva 5. VIDAS ELFA -tekniikka. [27]

VIDAS-menetelmät perustuvat suoraan ”sandwich”-tyyppiseen (direct sandwich) ELFA-määritykseen (liitteet 4 - 6). Perinteisestä ELISA-kuoppalevymäärityksestä VIDAS ELFA -tekniikka poikkeaa kiinteän faasin sijainnilla, VIDAS ELFA -tekniikassa kiinteänä faasina toimii annostelukärjen (SPR) sisäpinta kuoppien sijaan. Kuvassa 5 on esitetty VIDAS ELFA -tekniikka ja kuvassa 6 ELFAn immunologiset ja entsyymaattiset vaiheet. Reagenssiliuskalle (reagent strip) on valmiiksi annosteltu yhdeksään kuoppaan tarvittavat pesuliuokset, konjugaatti ja substraatti. Viimeinen kuoppa toimii sekä substraatin reaktiokaivona että myös mittauskyvetinä. Näyte annostellaan ensimmäiseen kuoppaan manuaalisesti, josta *miniVIDAS*-analysointipipetoi automaattisesti kiinteäfaasikärjellä (SPR) tarvittavan näytemäärän. Koko määrittäminen on automatisoitu näytteen annostelua lukuun ottamatta.

SPR-kärjen sisäpinnalle on kiinnitetty joko antigeenejä, vasta-aineita, proteiineja tai spesifisiä synteettisiä peptidejä riippuen menetelmästä. Näytteessä mahdollisesti olevat viruksen antigeenit tai vasta-aineet sitoutuvat kiinteän faasin esittelemiin partikkeleihin. Konjugaatti sisältää antigeenejä tai vasta-aineita, joihin on kiinnitetty spesifisiä entsyymejä (alkalisiä fosfataaseja), jotka reagoivat substraattimolekyylin kanssa. Konjugaattimolekyylit sitoutuvat kiinteässä faasissa kiinni oleviin partikkelikomplekseihin, esimerkiksi antigeeni-HCV-vasta-ainekomplekseihin (kuva 6: conjugate). Entsyymi reagoi substraatin kanssa, jolloin syntyy fluoresoiva tuote. Syntyneeseen tuotteeseen kohdistetaan 370 nm aallonpituista valoa, jolloin tuote fluoresoi pidemmällä aallonpituudella (450 nm). Fotodiodilla mitataan reaktiotuotteen pitoisuus, joka on suoraan verrannollinen tutkittavan viruspartikkelin pitoisuuteen (liitteet 4-6). [28, s. 17 - 19.] VIDAS HIVAb/Ag-, anti-HCV- ja HBsAg -menetelmissä käytetään substraattina

4-metyyliumbelliferyynifosfaattia (MUP), jonka fluoresoiva reaktiotuote on 4-metyyliumbelliferoni (MU) [Liitteet 4-6]. MUP sopii hyvin ELFA-testiin, sillä se ei aiheuta taustaa, vaikkei näyte sisältäisi tutkittavia partikkeleita eikä substraattireaktiota tapahtuisi. MUP:a on käytetty ELFA-tekniikan kehittämiseen asti vuodesta 1979. [26.]



Kuva 6. VIDAS ELFA vaiheet. [27]

3.3 Anti-HCV-testi

bioMérieux'n VIDAS[®] Anti-HCV -testi on kvalitatiivinen CE-merkitty menetelmä hepatiitti C -virusvasta-aineiden (anti-HCV) määrittämiseksi. Yksi reagenssipakkaus sisältää reagenssit ja materiaalit 60 testille. Taulukossa 1 on esitetty opinnäytetyössä käytetyn reagenssipakkauksen erätiedot. (Liite 4)

Taulukko 1. VIDAS Anti-HCV -reagenssipakkauksen erätiedot.

	LOT#	EXP. DATE	REF#
Reagenssipakkaus	1002674340	5.3.2015	30 308
Master Lot (STR [®])	150305-0	5.3.2015	30 308
SPR [®] -kärki	DK6	5.3.2015	30 308
Vakio, S1	1069320	18.3.2015	30 308
Kontrolli, C1	1069330	18.3.2015	30 308
Kontrolli, C2	1069340	18.3.2015	30 308

Kaksivaiheiseen ELFA-menetelmään perustuvassa testissä käytetään SPR-kärkeä, jonka sisäpinta on päällystetty HCV ydin-, NS3- ja NS4 -proteiineja esittäville antigeeneille. Reagenssit ja pesuliuokset on valmiiksi annosteltu reagenssiliuskaan. Näytteessä mahdollisesti oleva hepatiitti C -virusvasta-aine (anti-HCV) sitoutuu spesifisesti kärjen sisäpintaan, jolloin syntyy antigeeni-vasta-ainekomplekseja. Kärki käsitellään anti-humaanilla IgG-alkalisella fosfataasi-konjugaatilla, joka sitoutuu antigeeni-vasta-ainekompleksiin. Substraatti (4-metyyliumbelliferyynifosfaatti, MUP) hydrolysoituu fluoresoivaksi tuotteeksi (4-metyyliumbelliferoni, MU) alkaalisen fosfataasin katalysoimana. Metyyliumbelliferonin fluoresenssi mitataan 450 nm aallonpituudella. Fluoresenssin intensiteetti on verrannollinen näytteen HCV-vasta-ainepitoisuuteen. (Liite 4)

Anti-HCV-testi tulee vakiodia reagenssipakkauksen S1-standardilla uuden reagenssierän käyttöönoton yhteydessä sekä 28 päivän välein reagenssipakkauksen avaamisesta. S1-standardin tuloksen perusteella määritetään vakion suhteellinen fluoresensiarvo (Standard Relative Fluorescence Value, std RFV), johon vertaamalla määritetään näytteiden ja kontrollien numeerinen testitulokse (Test Value, TV) (kaavat 1 ja 2). (Liite 4)

Kaava 1. Standardin suhteellisen fluoresenssiarvon määrittäminen fluoresenssilukemista.

$std\ RFV = reagenssiliuskan\ fluoresenssilukema - taustan\ fluoresenssilukema$

Kaava 2. Testituloksen (TV) määrittäminen RFV-arvoista.

$TV = (näytteen\ RFV) / (vakion\ RFV)$

miniVIDAS laskee testituloksen automaattisesti ja tulkitsee sen taulukon 2 mukaan. Jos näytteen RFV suhteessa vakion RFV-vertailuarvoon on alle yhden (<1,00), on tulos negatiivinen (negative). Jos näytteen RFV suhteessa vakion RFV-vertailuarvoon on yhtä suuri tai suurempi kuin yksi (≥1,00), on tulos positiivinen (positive). Tulos ja tulkinta tulostuvat *VIDAS*-raportille, näytetietojen ja vakioinnin tietojen kanssa. (Liite 4)

Taulukko 2. Tulosten tulkinta.

Testitulokse (TV)	Tulkinta (interpretation)
<1,00	negatiivinen
≥1,00	positiivinen

3.4 HBsAg Ultra -testi

bioMérieux'n VIDAS[®] HBs Ag Ultra -testi on CE-merkitty kvalitatiivinen menetelmä hepatiitti B -viruksen pinta-antigeenien (HBsAg) määrittämiseksi. Yksi reagenssipakkaus sisältää reagenssit ja materiaalit 60 testille. Taulukossa 3 on esitetty opinnäytetyössä käytetyn reagenssipakkauksen erätiedot. (Liite 5)

Taulukko 3. VIDAS HBsAg Ultra -reagenssipakkauksen erätiedot.

	LOT#	EXP. DATE	REF#
Reagenssipakkaus	1002458180	10.10.2014	30 315
Master Lot (STR [®])	141010-0	10.10.2014	30 315
SPR [®] -kärki	DD4	10.10.2014	30 315
Vakio, S1	1064350	26.12.2014	30 315
Kontrolli, C1	1064360	1.1.2015	30 315
Kontrolli, C2	1064370	1.1.2015	30 315

Kaksivaiheiseen entsyymi-immunologiseen määrittelyyn (ELFA) perustuvassa ”sandwich” menetelmässä käytetään kärkeä (SPR), jonka sisäpinta on päällystetty monoklonalisella vasta-aineella. Näytteessä mahdollisesti oleva hepatiitti B -viruksen antigeeni (HBsAg) sitoutuu samanaikaisesti sekä SPR-kärjen sisäpinnan kiinteäfaasivasta-aineeseen että biotinyloituun (biotinia sisältävään) nestefaasivasta-aineeseen, jolloin muodostuu kerroksellinen ”sandwich”-kompleksi kiinteäfaasivasta-aineesta, HBs-antigeenistä ja biotinyloidusta vasta-aineesta. SPR-kärki käsitellään alkaalisella fosfaatasilla leimatulla streptavidiinillä, joka sitoutuu kompleksin biotiiniin. Substraatti (MUP) hydrolysoituu fluoresoivaksi tuotteeksi (MU) alkaalisen fosfaatin katalysoimana. MU-tuotteen fluoresenssi mitataan 450 nm aallonpituudella. Fluoresenssin intensiteetti on verrannollinen näytteen HB-viruksen pinta-antigeenin pitoisuuteen. (Liite 5)

HBsAg Ultra -testi tulee vakioda reagenssipakkauksen S1-standardilla uuden reagenssierän käyttöön oton yhteydessä sekä 14 päivän välein reagenssipakkauksen avaamisesta. S1-standardin tuloksen perusteella määritetään vakion suhteellinen fluoresenssiarvo (std RFV), johon vertaamalla määritetään näytteiden ja kontrollien numeerinen testituloks (*I*) (kaavat 3 ja 4). (Liite 5)

Kaava 3. Standardin suhteellisen fluoresenssiarvon määrittäminen fluoresenssilukemista.

$$std\ RFV = reagenssiliuskan\ fluoresenssilukema - taustan\ fluoresenssilukema$$

Kaava 4. Testituloksen (TV) määrittäminen RFV-arvoista.

$$i = (näytteen\ RFV) / (vakion\ RFV)$$

miniVIDAS laskee testituloksen automaattisesti ja tulkitsee sen taulukon 4 mukaan. Jos näytteen RFV suhteessa vakion RFV-vertailuarvoon on alle 0,10 (<0,10), on tulos negatiivinen (negative). Jos näytteen RFV suhteessa vakion RFV-vertailuarvoon on yhtä suuri tai suurempi kuin 0,10 (≥0,10), on tulos positiivinen (positive). Tulos ja tulkinta tulostuvat VIDAS-raportille näytetietojen ja vakioinnin tietojen kanssa. (Liite 5)

Taulukko 4. Testituloksen, *i*, tulkinta.

Testitulos, <i>i</i>	Tulkinta (interpretation)
<0,10	negatiivinen
≥0,10	positiivinen

3.5 HIV DUO Ultra -testi

bioMérieux'n VIDAS® HIV DUO Ultra -testi on CE-merkitty kvalitatiivinen menetelmä HIV-1 p24-antigeenin sekä HIV-1- ja HIV-2-vasta-aineiden (anti-HIV-1, anti-HIV-2) määrittämiseksi. Yksi reagenssipakkaus sisältää reagenssit ja materiaalit 60 testille. Taulukossa 5 on esitetty opinnäytetyössä käytetyn reagenssipakkauksen erätiedot. (Liite 6)

Taulukko 5. VIDAS HIV DUO Ultra -reagenssipakkauksen erätiedot.

	LOT#	EXP. DATE	REF#
Reagenssipakkaus	1002456970	15.9.2014	30 443
Master Lot (STR®)	140915-0	15.9.2014	30 443
SPR®-kärki	DDR	17.10.2014	30 443
Vakio, S1	1064110	24.3.2015	30 443
Vakio, S2	1064140	24.3.2015	30 443
Kontrolli, C1	1064120	24.3.2015	30 443
Kontrolli, C2	1064130	24.3.2015	30 443
Kontrolli, C3	1064150	24.3.2015	30 443

Kolmivaiheiseen entsyymi-immunologiseen määrittelykseen (ELFA) perustuvassa menetelmässä käytetään SPR-kärkeä, jonka yläosan sisäpinta on päällystetty monoklonaalisella p24-vasta-aineella. Alempi osa kärkeä on päällystetty HIV-1 gp160 -proteiinilla sekä HIV-1 ryhmän O ja HIV-2 spesifisillä synteettisillä peptideillä. Ylemmällä osalla tunnistetaan p24-antigeeni ja alemmalla osalla HIV-1- ja HIV-2-vasta-aineet. (Liite 6)

Ensimmäisessä vaiheessa näytteen p24-antigeenit sitoutuvat anti-p24-kiinteäfaasivasta-aineeseen. Biotinyloitu (biotiniipitoinen) anti-p24-nestefaasivasta-aine sitoutuu p24-antigeeniin muodostaen ”sandwich”-kompleksin p24-vasta-aineesta, p24-antigeenista ja biotinyloidusta p24-vasta-aineesta. Samanaikaisesti näytteen mahdolliset HIV-1- ja/tai HIV-2-vasta-aineet sitoutuvat SPR:n alaosan sisäpintaan. Toisessa vaiheessa biotinyloidulla p24-antigeenillä käsitellään vain SPR:n alempi osa, jolloin p24-antigeeni sitoutuu HIV-vasta-aineisiin. Kolmannessa vaiheessa alkaalisella fosfaatasilla leimattu streptavidiini sitoutuu biotinyloituun p24-vasta-aineeseen kärjen yläosassa ja biotinyloituun p24-antigeeniin kärjen alaosassa. MUP-substraatti inkuboidaan aluksi kärjen alaosassa. MUP-substraatti hydrolysoituu fluoresoivaksi tuotteeksi (MU) alkaalisen fosfataasin katalysoimana ja fluoresenssi mitataan 450 nm aallonpituudella. Fluoresenssin intensiteetti on verrannollinen HIV (1+2) -vasta-aineiden pitoisuuteen näytteessä. MUP-substraatti inkuboidaan koko kärjessä ja fluoresenssi mitataan. Saa-dun fluoresenssin intensiteetti on verrannollinen HIV-1 p24 -antigeenin pitoisuuteen näytteessä. (Liite 6)

HIV DUO Ultra -testi tulee vakioida reagenssipakkauksen S1- (HIV% antibody standard) ja S2- (HIV5 p24 antigen standard) -standardeilla uuden reagenssierän käyttöönoton yhteydessä sekä 14 päivän välein reagenssipakkauksen avaamisesta. Standardien tulosten perusteella määritetään vakioille suhteelliset fluoresenssiarvot (std RFV Ab ja std RFV Ag), joihin vertaamalla määritetään näytteiden ja kontrollien numeeriset antigeeni- ja vasta-ainetestitulokset (*TV*) (kaavat 5 ja 6). (Liite 6)

Kaava 5. Standardin suhteellisen fluoresenssiarvon määrittäminen fluoresenssilukemista.

$std\ RFV = reagenssiliuskankin\ fluoresenssilukema - taustan\ fluoresenssilukema$

Kaava 6. Testituloksen (*TV*) määrittäminen RFV-arvoista.

$TV = (näytteen\ RFV) / (vakion\ RFV)$

miniVIDAS laskee testituloksen automaattisesti ja tulkitsee sen taulukon 6 mukaan. Testitulos on negatiivinen (negative) jos näytteen antigeeni- ja vasta-ainedetektiot ovat suhteessa vakioiden RFV-vertailuarvoihin alle 0,25 (<0,25). Testitulos on positiivinen (positive) jos näytteen antigeeni- tai vasta-ainedetektiot ovat suhteessa vakioiden RFV-vertailuarvoihin yhtä suuri tai suurempi kuin 0,25 (≥0,25). Korkeat RFV-vasta-ainedetektiot saattavat peittää antigeenitulokset, tai toisin päin. Tällöin peittyneen tuloksen tilalla lukee ND (Not Determinable). Testitulos on validi ja se tulkitaan positiivisena. Jos antigeenitulos on ND, Not Determinable, ja vasta-ainetulos on alhainen (<0,25) tulkitaan tulos negatiiviseksi. Antigeenidetektio on liian alhainen tulkittavaksi numeerisesti. Raporttiin tulostuvat antigeeni- ja vasta-ainetulosten ja tulkintojen lisäksi vakioinnin ja näytteiden tiedot. (Liite 6)

Taulukko 6. Testitulosten tulkinta.

Testitulos (TV)	Tulkinta (interpretation)
<0,25 (antigeeni- ja vasta-ainedetektiot)	negatiivinen
≥0,25 (vasta-aine tai antigeenidetektio)	positiivinen

3.6 Quality Control VIDAS® -laadunvarmistustesti

Quality Control VIDAS -laadunvarmistustestiä käytetään varmistamaan pipetointimekanismin ja optisen systeemin kunto. Yksi reagenssipakkaus sisältää reagenssit ja materiaalit 60 testille. Taulukossa 7 on esitetty opinnäytetyössä käytetyn reagenssipakkauksen erätiedot. [29]

Taulukko 7. VIDAS Quality Control -reagenssipakkauksen erätiedot.

	LOT#	EXP. DATE	REF#
Reagenssipakkaus	1002679440	15.11.2014	30 706
Master Lot (STR®)	141115-0	15.11.2014	30 706
SPR®-kärki	DMP	15.11.2014	30 706

Tuloksena saadaan TV1 (Test Value), joka kuvastaa pipetointimekanismin kuntoa ja R3, joka kuvastaa optisen systeemin kuntoa. TV1-tuloksen tulee olla reagenssipakkauksen kyljessä olevaa raja-arvoa suurempi tai yhtä suuri (taulukko 8). Fluoresenssiarvon R3, tulee olla suurempi tai yhtä suuri kuin 4100 RFU. QCV-testi tulee suorittaa kerralla jokaisella näytepaikalla (12 testiä). [29]

Taulukko 8. QCV-testin raja-arvot.

	Raja-arvot
TV1	$\geq 5,7$
R3	≥ 4100 RFU

4 Vertailututkimusmenetelmät

Vertailututkimusmenetelmät ovat Veripalvelun infektioseulontalaboratoriossa rutiinikäytössä olevia verenluovuttajanäytteiden seulontamenetelmiä (liite 1). Kaikista verenluovuttajanäytteistä tutkitaan primaariseulonnassa HB-viruksen pinta-antigeeni, HC-viruksen vasta-aineet sekä HI-viruksen antigeenit ja vasta-aineet *Abbott Architect* -analysointilaitteella sekä HCV-, HBV- ja HIV-1-nukeliinihapot *Novartiksen Tigris* -analysointilaitteella. Serologiset jatkotutkimukset suoritetaan *Abbott AxSYM* -analysointilaitteella ja varmistustestit joko *Architect*-laitteella tai *INNO-LIA™* immunoblotmenetelmällä. [5.]

4.1 Architect

Architect-analysointilaitetta käytetään muun muassa luovuttajanäytteiden serologiseen infektioseulontaan. Seulontatutkimuksena tehtäviä testejä ovat *HBsAg Qualitative II*, *Anti-HCV* ja *HIV Ag/Ab Combo*. Varmistustestejä ovat *Anti-HBcII* ja *Anti-HBs*. *HBsAg-QII*-testillä seulotaan verenluovutusnäytteistä hepatiitti B -viruksen pinta-antigeenejä, *Anti-HCV* -testillä seulotaan hepatiitti C -viruksen vasta-aineita ja *HIV Ag/Ab Combo* -testillä HIV-1- ja HIV-2-vasta-aineita sekä HIV-1-antigeeniä. *Anti-HBcII*- ja *Anti-HBs*-menetelmillä suoritetaan hepatiitti B -viruksen ydin- ja pinta-antigeenien varmistustestit jatkotutkimuksessa reaktiivisen tuloksen saaneista näytteistä (liite 1). *Architect*-laitteen testit perustuvat EIA-menetelmään (Enzyme Immuno Assay) ja CMIA-tekniikkaan (Chemiflex), jossa käytetään magneettisten mikropartikkeleiden pintaan kiinnitettyjä antigeenejä tai vasta-aineita ja akridiinileimattuja konjugaattimolekyylejä. Kemiluminesenssireaktiossa muodostuva valo mitataan suhteellisena valoyksikkönä (relative light unit, RLU). Tulos ilmoitetaan näytteen signaalin ja cut-off -signaalin suhteena (S/CO). *HBsAg*, *anti-HCV*, *HIVAg/Ab Combo* ja *anti-HBcII* -testeissä RLU-raja-arvo on 1 S/CO. Jos suhdeluku on alle yhden (<1,00 S/CO) tulkitaan tulos negatiiviseksi (negative) ja jos suhde on suurempi tai yhtä suuri kuin yksi ($\geq 1,00$ S/CO) tulkitaan tulos reaktiiviseksi

(reactive). *Anti-HBs*-testissä raja-arvo on 10 IU/ml. Alle 10 IU/ml tulos tulkitaan negatiiviseksi ja suurempi tai yhtä suuri kuin 10 IU/ml tulkitaan reaktiiviseksi. [30.]

Architect HBsAg QII -primaariseulonta tulkitaan reaktiiviseksi tai negatiiviseksi numeerisen tuloksen mukaan (liite 1). *Anti-HBcII*-varmistustesti tulkitaan ei-reaktiiviseksi (non-reactive) tai reaktiiviseksi. Lopullinen tulkinta ilmoitetaan positiivisena (positive), negatiivisena tai luokittelemattomana (unclassified) *HBsAg QII* -primaariseulonta- ja *AxSYM*-tulosten sekä *ID-NAT*-tulosten perusteella. Mikäli *Anti-HBcII*-tulos on reaktiivinen ja *HBsAg* on *Architectilla* ja *AxSYM*:llä reaktiivinen, sekä *ID-NAT* antaa myös reaktiivisen tuloksen, tulkitaan näyte HBV-positiiviseksi. Mikäli jompikumpi, *AxSYM HBsAg* tai *Architect Anti-HBcII*, on reaktiivinen ja toinen negatiivinen on lopullinen tulkinta luokittelematon. Varmistetussa negatiivisessa tulokinnassa on näyte negatiivinen *ID-NAT*, *Architect anti-HBcII* ja *AxSYM HBsAg* -tutkimuksissa. [30] *Architect Anti-HBs* -menetelmä ei varsinaisesti ole varmistustesti, sillä myös HBV-rokotteen saaneen veressä on *HBs*-vasta-aineita, jotka reagoivat *Anti-HBs* -testissä antaen reaktiivisen tuloksen [31.].

Kvalitatiivinen *Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory* -testi on CE-merkitty ja tarkoitettu reaktiivisten hepatiitti B -viruksen pinta-antigeenin testitulosten varmistamiseen. Taulukossa 9 on esitetty opinnäytetyössä käytetyn reagenssipakkauksen erätiedot. Testissä *Architect*-laite tekee kaksi rinnakkaista näytettä, joista toiseen lisätään neutraloivaa *HBsAg*:n vasta-ainetta ja toiseen puskuria (vertailunäyte ilman neutraloivaa vasta-ainetta). Mikäli näyte sisältää *HBs*-antigeeniä, se neutraloituu lisätyn vasta-aineen vaikutuksesta ja testitulos on matalampi kuin vertailunäytteessä, johon ei ole lisätty *HBsAg*:n vasta-ainetta. Mikäli vertailunäytteen tulos on vähintään 0,70 S/CO ja neutralisaatioprosentti (N%) vähintään 50 % vertailunäytteeseen verrattuna, niin *HBsAg*-tulos on varmistettu positiivinen. Jos varmistustestin testitulos on negatiivinen, niin kyseessä on väärä reaktiivinen *HBsAg*-tulos. Korkeissa positiivisissa tuloksissa (>10 S/CO) näyte tulee manuaalisesti laimentaa puskurilla ennen varmistustestiä hyväksyttävän tuloksen saamiseksi, mikäli neutralisaatioprosentti jää pienemmäksi kuin 50 %. Mikäli tulos on yli 10 S/CO ja N% on yli 50 %, on *HBsAg*-tulos varmistettu positiivinen. Jos neutralisaatioprosentti laskee pienemmäksi kuin 15 %, tulee näyte mitata uudelleen. Alle 0,70 S/CO tuloksen saaneet näytteet saavat neutralisaatioprosentin sijaan "Not Applicable" eli "ei käyttökelpoinen" -tuloksen, jolloin tulkinta on ei-varmistettu *HBsAg*-tulos. [32.]

Taulukko 9. Architect HBsAg QII Confirmatory -reagenssipakkauksen erätiedot.

	LOT#	EXP. DATE	REF#
Reagenssipakkaus	36036LF00	6.8.2014	2G23
Vakio, S1	34099LF00	26.5.2014	2G24
Kontrolli, C1	35525LF00		2G22-10
Kontrolli, C2	35525LF00		2G22-10

4.2 AxSYM

Abbott AxSYM on automaattinen immunokemian analysaattori. Määritykset perustuvat mikropartikkeleiden entsyymi-immunoanalyyysiin (MEIA). Alle millimetrin halkaisijaltaan olevat mikropartikkelit on päällystetty antigeeneillä tai vasta-aineilla. Alkalinen fosfataasi -konjugaatti katalysoi substraatin (MUP) fluoresoivaksi tuotteeksi (MU), jonka muodostumisnopeus on verrannollinen näytteen antigeeni- tai vasta-ainepitoisuuteen. Näyte on reaktiivinen, jos sen värinmuodostumisnopeus on yhtä suuri tai suurempi kuin raja-arvonopeus, joka on määritetty vakioinnissa. Veripalvelun virusosaston jatkotutkimuskäytössä olevia *AxSYM*-menetelmämäärityksiä ovat hepatiitti C -virusvasta-aineiden määrittäminen (*anti-HCV*), HIV-1- ja HIV-2-vasta-aineiden ja HIV-antigeenin määrittäminen (*HIVAB/Ag*) sekä hepatiitti B -viruksen pinta-antigeenin määrittäminen (*HBsAg*). [33.]

4.3 ID-NAT

ID-NAT on nukleinihappojen monistustekniikkaan perustuva määrittäminen. HI-1-viruksen (HIV) RNA, hepatiitti C -viruksen (HCV) RNA ja hepatiitti B -viruksen (HBV) DNA voidaan määrittää *Procleix Ultrio Plus Assay* -testillä sekä varmentaa *Procleix Ultrio Plus HIV-1, HCV* ja *HBV Discriminatory Assay* -testillä käyttäen Novartiksen Tigris-analysaattoria. *Procleix*-testit koostuvat kolmesta vaiheesta, jotka suoritetaan yhdessä koeputkessa. Ensimmäisessä vaiheessa tapahtuu kohteen poiminta, toisessa monistus ja kolmannessa vaiheessa tunnistus. [34.]

4.4 Immunoblottaus

INNO-LIA™ HCV- ja HIV I/II Score -menetelmiä (*INNO-Genetics*) käytetään infektioseulonnan varmistustestinä hepatiitti C-, HIV-1- ja HIV-2 -virusvasta-aineiden osoittamiseen jatkoseulonnassa reaktiivisiksi todetuista verenuovutusnäytteistä (liite 1). Menetelmä perustuu nylon-liuskalle kiinnitettyihin antigeenivyöhykkeisiin. Inkuboitessa antigeeniliuskaa näytteen kanssa, näytteen mahdollisesti sisältämät HIV- tai HCV-vasta-aineet sitoutuvat vastaaviin antigeenivyöhykkeisiin. Näin muodostuneet immunkompleksit saadaan näkyvään muotoon käsittelemällä niitä anti-humaani-IgG:llä, joka on konjugoitu alkaliseen fosfataasientsyymiin. Näkyvä vyöhyke muodostuu entsyymien reagoitessa substraatin kanssa. Vyöhykkeen intensiteetti on suoraan verrannollinen virusvasta-aineen määrään. Nylon-liuskoille on kiinnitetty myös neljä erillistä kontrollivyöhykettä. Näistä yksi toimii raja-arvovyöhykkeenä (cut-off), kaksi positiivisina kontrollivyöhykkeinä ja yksi ns. streptavidini-vyöhykkeenä (kontrolloi epäspesifistä sitoutumista streptavidiniin kanssa koska osa antigeenivyöhykkeistä sisältää streptavidinia). Tulos tulkitaan positiiviseksi, negatiiviseksi tai luokittelemattomaksi (liite 1). [35; 36.] Kolme kertaa luokittelemattoman tai negatiivisen immuno-blot -tuloksen saanut näyte luokitellaan VIPO:ksi, jolloin verenuovuttaja saa väliaikaisen luovutuskiellon [31.].

5 Työn suoritus

Opinnäytetyö suoritettiin kokonaisuudessaan Helsingin Kivihaassa SPR Veripalvelun tiloissa infektioseulontalaboratoriolle. Työ sisälsi, koskien *bioMérieux VIDAS* -analysointilaitetta ja sen menetelmiä, tutkimussuunnitelman (liite 7), laiteohjeen ja menetelmäohjeiden laatimisen (liitteet 3 - 6), laitteen vastaanottamisen ja asentamisen, laitepohjeytyksen laitevalmistajan edustajalta, näytteiden valitsemisen ja mittaamisen, vertailu- ja mittaustulosten taulukointit (liitteet 8 - 10) ja analysoinnit sekä englanninkielisen tutkimusraportin laatimisen (liite 11). Lisäksi työhön kuului *Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory* -menetelmän testaus sekä tulosten taulukointi (liite 9, taulukko 2) ja raportointi (liite 11). Työ suoritettiin SPR Veripalvelun laatuvaatimusten mukaisesti. Kaikki laaditut dokumentit tarkastettiin ja hyväksyttiin asiantuntijan toimesta. Dokumentit ja primaaritulokset säilytetään Veripalvelussa Kivihaan toimipisteessä.

5.1 Suunnitelman ja työohjeiden laatiminen

Opinnäytetyö aloitettiin laatimalla tutkimussuunnitelma Veripalvelun sisäisten laatuvaatimusten mukaan (liite 7). Tutkimussuunnitelman tuli sisältää kansilehti, jossa lukee ohjetyyppi, koodi, tutkimuksen nimi, testausaikataulu, suunnitelman laatijat sekä suunnitelman hyväksyjät. Tavoitteiden lisäksi johdannossa kuvattiin tutkimuksen sisältö

sekä käytettävät laitteet ja menetelmät. Muut tutkimussuunnitelman kohdat olivat testauksen tarkoitus, tutkimusmenetelmät ja laitteet, reagenssit, suoritus, näytteet, käyttövaatimukset ja kontrollit, työturvallisuus ja riskit sekä tulosten raportointi ja säilyttäminen. Laitemanuaalin ja reagenssipakkausselosteiden lisäksi tutkimussuunnitelman laatimisessa käytettiin hyväksi Veripalvelun sisäisiä ohjeistuksia. Tutkimussuunnitelman tarkastimisesta oli vastuussa infektioseulontalaboratorion asiantuntija, joka merkitsi korjausta vaativat kohdat ja palautti suunnitelman korjattavaksi. Tutkimussuunnitelma hyväksyttiin Veripalvelun johtoportaalilla ennen varsinaista työn suorittamista.

Laitte- ja työohjeiden (liitteet 3 - 6) laatiminen aloitettiin perehtymällä *bioMérieux miniVidas blue* -immunoanalysaattoriin laitemanuaalin (miniVidas procedures manual, bioMérieux) ja laitevalmistajan perehdytysesityksen avulla sekä HCV-, HBV- ja HIV-menetelmiin reagenssipakkausselosteiden (Vidas anti-HCV package insert, Vidas HBsAg Ultra package insert, Vidas HIV DUO Ultra package insert) avulla. Ohjeet laadittiin Veripalvelun mallipohjien ja sisäisten laatuvaatimusten mukaan. Infektioseulontalaboratorion asiantuntija tarkasti ja hyväksyi ohjeet. Jokainen laite- ja menetelmäohje koodattiin ja tallennettiin Veripalvelun sisäiseen verkkoon, Vernettiin. Ohjeet voidaan jatkossa päivittää ja ottaa käyttöön, jos VIDAS-analysaattori ja sen menetelmät päätetään validoida infektioseulontalaboratorion rutiinikäyttöön.

5.2 Näyteaineisto

Näyteaineisto valittiin niin, että näytteillä olisi mahdollisimman monen eri menetelmän tulos. Primaarikriteeri näytevalinnassa oli, että näyte on ollut *Architect*-primaariseulonnassa toistuvasti reaktiivinen. Näyteaineisto koostui verenluovuttajanäytteistä, jotka oli kerätty elokuun 2013 - huhtikuun 2014 välisenä aikana sekä vuodelta 2013 koostuvista ulkoisista laadunohjausnäytteistä, joilla täydennettiin muuten vajaaksi jäänyttä näyteaineistoa (taulukko 10). Näytteet voitiin jakaa kolmeen kategoriaan:

- a. Primaariseulonta- (*Architect*) ja jatkoseulontamenetelmillä (*AxSYM*) reaktiivisia ja varmistustutkimuksissa negatiivisia, luokittelemattomia tai positiivisia plasmanäytteitä
- b. Primaariseulontamenetelmällä (*Architect*) reaktiivisia ja jatkoseulontamenetelmällä (*AxSYM*) negatiivisia plasmanäytteitä
- c. Ulkoisia negatiivisia ja positiivisia laadunohjausnäytteitä

Näytteitä säilytettiin pakastettuina (-20 °C) tutkimusmenetelmäohjeiden mukaisesti. Näytteet sulatettiin ja sentrifugoitiiin juuri ennen analysoimista. Käytettävissä oli yksi reagenssipakkaus, joka sisältää 60 testiä, menetelmää kohden.

Taulukko 10. Tutkimuksen näyteaineisto ja kontrollit.

	Verenluovuttajänäytteet		Ulkoiset laadunohjausnäytteet		Kontrollit	
	AxSYM pos.	AxSYM neg.	pos.	neg	Sisäinen	PeliSpy
VIDAS Anti-HCV	39	15	0	0	2	2
VIDAS HBsAg Ultra	4	43	6	0	2	3
VIDAS HIV DUO Ultra	20	18	6	6	3	3
Architect HBsAgQII C	4	42	0	0	1	1

5.2.1 VIDAS HCV-, HBV- ja HIV -näytteet

bioMérieux miniVIDAS -analysaattorilla mitattiin yhteensä 157 näytettä, joista 139 oli verenluovuttajanäytteitä ja 18 oli ulkoisia laadunohjausnäytteitä. Ulkoiset laadunohjausnäytteet kuuluivat vuoden 2013 aikana suoritettuihin infektioseulonnan laadun-tarkkailukierroksiin.

VIDAS anti-HCV -mittauksissa käytettiin ainoastaan verenluovuttajanäytteitä (liite 8, taulukko 1). Yhteensä mitattiin 54 HCV-primaariseulontareaktiivista (*Architect*) näytettä. Näistä 39 näytettä oli jatkoseulontareaktiivisia (*AxSYM*) ja 15 jatkoseulontanegatiivisia. Jatkoseulonnassa reaktiivisen tuloksen saaneet näytteet testattiin vielä *HCV INNO-LIA immunoblot* -menetelmällä (liite 8, taulukko 2). Negatiivisista jatkoseulonta näytteistä 2 tutkittiin immunoblottauksella reaktiivisen *VIDAS*-tuloksen takia (liite 8, taulukko 2).

VIDAS HBsAg Ultra -näytteitä oli yhteensä 53, joista 47 oli HBV-primaariseulontareaktiivisia (*Architect*) verenluovuttajanäytteitä ja 6 oli HBsAg-positiivisia ulkoisia laadunohjausnäytteitä (taulukko 12). Primaariseulontareaktiivisista näytteistä 4 oli *AxSYM*-jatkoseulontareaktiivisia ja 43 jatkoseulontanegatiivisia. Yksi jatkoseulontanegatiivinen näyte mitattiin myös *Architect anti-HBs* -menetelmällä reaktiivisen *VIDAS*-tuloksen takia (liite 9, taulukko 3). Kaikista *VIDAS* HBV -näytteistä mitattiin myös Hbc-vasta-aine *Architect*-laitteella (liite 9, taulukko 3). *VIDAS* HBV -näytteitä käytettiin myös *Architect* neutralisaatiotestissä (ks. 5.2.2 *Architect HBsAg* -neutralisaatiotestinäytteet).

VIDAS HIV DUO Ultra -näyteaineisto koostui yhteensä 50 näytteestä (liite 10). HIV-primaariseulontareaktiivisia (*Architect*) näytteitä oli 37, primaariseulontanegatiivisia näytteitä oli 1 ja ulkoisia laadunohjausnäytteitä oli 12 (taulukko 14). Primaariseulontareaktiivisista näytteistä 20 oli *AxSYM*-jatkoseulontareaktiivisia ja 17 jatkoseulontanegatiivisia. Laadunohjausnäytteistä puolet oli positiivisia ja puolet negatiivisia näytteitä. Primaariseulontanegatiivinen näyte valittiin mukaan vain täydentämään näyteaineistoa.

5.2.2 Architect HBsAg QII Confirmatory -näytteet

Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory -testissä käytettiin samoja näytteitä kuin *VIDAS HBsAg Ultra* -testissä, lukuun ottamatta ulkoisia laadunohjausnäytteitä, jotka jätettiin pois liian suuren HBs-antigeenipitoisuuden takia (liite 9, taulukko 2). Yhteensä mitattiin 46 näytettä *HBsAg QII C* -menetelmällä. Näistä 4 oli jatkoseulontareaktiivisia (*AxSYM*) ja 42 jatkoseulontanegatiivisia (*AxSYM*). Kaikista *HBsAg QII C* -näytteistä suoritettiin samalla myös *Architect anti-HBc* -testi, mikäli näytteellä ei vielä ollut tulosta kyseisestä menetelmästä.

5.2.3 Kontrollit

Jokainen *VIDAS*-reagenssipakkaus sisälsi menetelmäkohtaiset kontrollit (taulukot 1, 3 ja 5). Kontrollit mitattiin kertaalleen yksittäismäärityksinä kalibraation oikeellisuuden tarkastamiseksi. *VIDAS HCV* -reagenssipakkaus sisälsi HCV-vasta-ainepositiivisen ja -negatiivisen kontrollin, HBV-reagenssipakkaus sisälsi HBsAg-positiivisen ja -negatiivisen kontrollin ja HIV-reagenssipakkaus sisälsi HIV-vasta

-ainepositiivisen, HIV-antigeeniposiitiivisen ja -negatiivisen kontrollin. Kontrollien erätiedot on kirjattu taulukoihin 1, 3 ja 5. Kontrollit on tarkemmin kuvattu liitteissä 4 - 6.

Reagenssipakkausten kontrollien lisäksi mitattiin jokaisena testipäivänä yksittäismäärityksenä reagenssivalmistajasta riippumaton, kaupallinen, matalapitoisuusinen anti-HCV-, HBsAg- ja anti-HIV-1-positiivinen PeliSpy-kontrolli (PeliSpy Multi-Marker type 26, AcroMetrix Europe). PeliSpy-kontrolli on tarkemmin kuvattu liitteessä 7, kappaleessa: reagenssivalmistajasta riippumattomat kontrollit.

5.3 Analysointi miniVIDAS[®]-analyssaattorilla

miniVIDAS-analyssaattorin pipetointimekanismi ja optiikka testattiin QCV-testillä. QCV-reagenssipakkauksen master lot syötettiin MLE-kortilta laitteelle (taulukko 7). Master lot sisälsi TV1-raja-arvon, jolla määritellään pipetointimekanismin kunto (taulukko 8). Optisen systeemin raja-arvo, R3, on vakio ja se ilmoitettiin reagenssipakkausselosteessa [29]. QCV-testi suoritettiin jokaisella näytepaikalla molemmilla lohkoilla. Reagenssiliuskat ja SPR-kärjet asetettiin laitteeseen, valittiin QCV-ohjelma ja käynnistettiin molemmat lohkot. QCV-ohjelma kesti noin 20 minuuttia.

Analysoinnit *bioMérieux miniVIDAS* -analyssaattorilla aloitettiin *VIDAS anti-HCV* -menetelmällä. *miniVIDAS*-laitteen menetelmäkirjastosta puuttui *anti-HCV*-testi, joten kirjasto päivitettiin. *Anti-HCV*-menetelmä lisättiin kirjastoon reagenssipakkauksen (taulukko 1) selosteesta löytyvällä viivakoodilla, joka luettiin ulkoisella viivakoodinlukijalla. Päivityksestä tulostettiin raportti, joka tallennettiin menetelmäkohtaiseen kansioon. Reagenssierän master lot syötettiin reagenssipakkauksen mukana tulleella MLE-kortilla (Master Lot Entry). MLE-kortti sisältää reagenssiliuskojen erätiedot, kontrollien tulosten vaihteluvälit, standardin RFV-vaihteluvälin ja suurimman sallitun hajonnan rinnakkaisien standardien välillä. Master lot -raportti tulostettiin ja talletettiin menetelmäkohtaiseen kansioon. *Anti-HCV*-testin yksipistevakiointi suoritettiin *anti-HCV*-menetelmäohjeen mukaan (liite 4). Vakioinnissa käytettiin taulukossa 1 esitettyä standardia, S1. Menetelmäksi *miniVIDAS*-analyssaattorilta valittiin *anti-HCV* ja näytteeksi standardi kahtena rinnakkaisena, jolloin *miniVidas* automaattisesti laskee standardin tulosten keskiarvon. Standardin tulos toimii vertailuarvona HCV-näytteiden tuloksia laskettaessa (kaavat 1 ja 2). Vakiointi on *anti-HCV*-menetelmällä voimassa 28 vuoro-

kautta, jonka jälkeen se tulee uusiksi. Vakiointi tarkastettiin reagenssipakkauksen C1- ja C2-kontrolleilla. Lisäksi mitattiin PeliSpy-kontrolli yksittäismäärityksenä.

Näytteet mitattiin yksittäismäärityksinä. Kerralla mahtui yhteensä 12 näytettä kahteen näytelohkoon (2 x 6 testiä). Mittaukset suoritettiin liitteiden 3 ja 4 mukaan. Laitteelta valittiin anti-HCV-menetelmä ja yritettiin lukea näyteputkien ISBT128-viivakoodit. ISBT128-viivakoodi on kansainvälisen verensiirtoyhteisön (International Society of Blood Transfusion, ISBT) kehittämä verivalmisteille spesifisesti suunniteltu viivakoodijärjestelmä, jota käytetään Veripalvelun verenluovuttajanäytteiden seurannassa [37]. *miniVIDAS* ei kyennyt lukemaan ISBT128-viivakoodia, joka alkaa = -merkillä. Lisäksi havaittiin, ettei näytetietokenttään mahdu kuin 12 merkkiä vaikka tarvetta olisi 15 merkille. Näytetunnisteista syötettiin manuaalisesti 11 viimeistä merkkiä laitteelle. Näytteitä annosteltiin 100 µl reagenssiliuskan näytekaivoon ja kirjattiin liuskan näytetietokenttään tussilla näytetunnisteen kolme viimeistä numeroa. Reagenssiliuskat ja SPR-kärjet asetettiin laitteeseen ja käynnistettiin analyysi. Näytelohkot toimivat erillisinä yksikköinä ja ne täytyi ohjelmoida erikseen. *Anti-HCV*-mittaus kesti noin 40 minuuttia. HCV-testejä tehtiin yhteensä 60, joista kaksi oli vakiointiin, kaksi reagenssipakkauksen kontrolleihin, kaksi PeliSpy-kontrolleihin ja 54 verenluovuttajanäytteisiin. PeliSpy-kontrollit mitattiin yksittäismäärityksinä molemmissa lohkoissa.

VIDAS HBsAg Ultra -testillä (liite 5) suoritettiin yhteensä 60 testiä, joista kaksi oli vakiointiin, kaksi reagenssipakkauksen kontrolleihin, kolme PeliSpy-kontrolleihin ja 53 testinäytteisiin. Ennen näytteiden mittaamista syötettiin reagenssieräkohtainen master lot MLE-kortilta *miniVIDAS*-laitteelle (taulukko 3). Master lot sisälsi reagenssierän vaihteluvälit ja suurimmat sallitut hajonnat rinnakkaisten vakioiden välillä. Master lot -raportti talletettiin menetelmäkohtaiseen kansioon. Vakiointi suoritettiin kahtena rinnakkaisena S1-standardilla. S1-standardi valmistettiin lisäämällä 1 ml steriiliä vettä kylmäkuivattuun vakioon ja sekoitettiin vorteksilla. Vakio säilyy pakastettuna kuusi kuukautta. Vakiointi on voimassa 14 vuorokautta. Vakioinnilla määritettiin HBs-antigeenin std RFV -vertailuarvo, jonka mukaan HBV-näytteiden tulos lasketaan (kaavat 3 ja 4). Vakiointi tarkastettiin reagenssipakkauksen C1- ja C2-kontrolleilla. PeliSpy-kontrolli mitattiin niin, että molemmilla lohkoilla määritettäisiin PeliSpy-kontrolli ainakin kertaalleen opinnäytetyön suorituksen aikana. Näytteet mitattiin HBL-ohjelmalla eli *HBsAg Ultra* pitkällä ohjelmalla, jonka kesto oli 90 minuuttia. HBL poikkeaa HBS-lyhytohjelmasta kestoensa lisäksi myös herkkydessä: HBL-ohjelman testituloksen raja-arvot (taulukko 4) ovat HBS-lyhytohjelmasta matalammat. *miniVIDAS*-laitteelta valittiin HBL-ohjelma ja

näytetunnisteiden viimeiset 11 merkkiä syötettiin manuaalisesti näytetietokenttään. Reagenssiliuskalle annosteltiin 150 µl näytettä ja liuska identifioitiin näytetunnisteen kolmella viimeisellä merkillä. Reagenssiliuskat ja SPR-kärjet asetettiin laitteeseen ja HBL-ohjelma käynnistettiin lohko kohtaisesti.

VIDAS HIV DUO Ultra -menetelmällä (liite 6) suoritettiin yhteensä 60 testiä, joista neljä oli vakiointiin, kolme reagenssipakkauksen kontrolleihin, kolme PeliSpy-kontrolleihin ja 50 testinäytteisiin. *HIV DUO Ultra* -reagenssipakkauksen master lot -erätiedot syötettiin miniVidakselle MLE-kortilta (taulukko 5). Master lot -erätiedot sisälsivät vaihteluvälin kontrolleille, vaihteluvälin S1- ja S2-vakioille sekä suurimman sallitun hajonnan rinnakkaisien vakioiden välille. Vakiot valmistettiin lisäämällä kylmäkuivattuun vakioon 2 ml steriiliä vettä ja sekoitettiin vorteksilla. Vakiot säilyvät kylmässä (2 - 8 °C) 2 kk. Vakiointi suoritettiin kahtena rinnakkaisena molemmilla standardeilla. S1-standardilla määritettiin HIV-vasta-aineen std RFV -vertailuarvo ja S2-standardilla HIV p24 -antigeenin std RFV -vertailuarvo. Std RFV -vertailuarvoilla miniVidas laski HIV-näytteiden HIVAb ja HIVAg-tulokset (kaavat 5 ja 6). Vakiointi tarkastettiin C1-, C2- ja C3-kontrolleilla.

Näytteet mitattiin HIV5-ohjelmalla, joka on lyhenne *HIV DUO Ultra* -menetelmästä VIDAS-menetelmäkirjastossa. HIV5-ohjelma valittiin kirjastosta ja näytetunnisteiden 11 viimeistä merkkiä syötettiin manuaalisesti laitteelle. Reagenssiliuskannäytekaivoon annosteltiin 200 µl näytettä ja liuska identifioitiin näytetunnisteen kolmella viimeisellä merkillä. Reagenssiliuskat ja SPR-kärjet asetettiin laitteeseen ja ohjelma käynnistettiin lohko kohtaisesti. Ohjelman kesto oli noin 2 h.

5.4 Analysointi Architect-laitteella

Abbott Architect -analysointilaitteella analysoitiin *HBsAg Qualitative II Confirmatory* -neutralisaationäytteet. Analysointi suoritettiin englanninkielisen *HBsAg Qualitative II Confirmatory* -reagenssipakkauksen mukaisesti. Taulukossa 9 on esitetty käytetty reagenssierä ja lot-tiedot. Käytetyt kontrollit (taulukko 9) ovat samoja, joita käytetään myös *Architect HBsAg Qualitative II* -testissä verenluovuttajanäytteiden primääriselonnassa. Kalibroinnin jälkeen mitattiin HBsAgQII- ja PeliSpy-kontrollit. Näytteet mitattiin 46 näytteen sarjana. Vaikka invalideja eli kelvottomia tuloksia tuli, ei mittauksia uusittu.

6 Tulokset ja tulosten tarkastelu

6.1 Tulokset

VIDAS-tulokset taulukoitiin menetelmäkohtaisiin Excel-taulukoihin, jotka on esitetty näytekohtaisesti liitteiden 8, 9 ja 10 taulukoissa 1, AxSYM-tulosten rinnalla. Primaaritulokset arkisoitiin menetelmäkohtaisiin kansioihin ja ne säilytetään Veripalvelun Kivihaan toimipisteessä. Liitteiden 8 ja 10 taulukoissa 2 sekä liitteen 9 taulukossa 3 on esitetty vertailumenetelmien tulokset. *Architect HBsAgQIIC* -neutralisaatiotestin tulokset on esitetty liitteen 9 taulukossa 2. VIDAS-testien ja *Architectin HBsAg*-neutralisaatiotestin tuloksista on laadittu tulosten tarkastelua helpottavat yhteenvedot kaavioissa 1 - 11. VIDAS-testien kontrollien tulokset on esitetty taulukoissa 12, 14 ja 17. Taulukoissa 13 ja 16 on ulkoisten laadunohjausnäytteiden näytetiedot. Taulukossa 15 on esitetty HBsAg-neutralisaatiotestin kontrollitulokset.

Quality Control VIDAS -laadunvarmistustesti suoritettiin molempien lohkojen jokaisessa näytepaikassa. Sekä TV1 että R3 olivat hyväksytysti taulukossa 8 esitettyjen tavoiterajojen yläpuolella (taulukko 11). *miniVidas*-analysointimekanismi ja optinen järjestelmä toimivat vaatimusten mukaisesti.

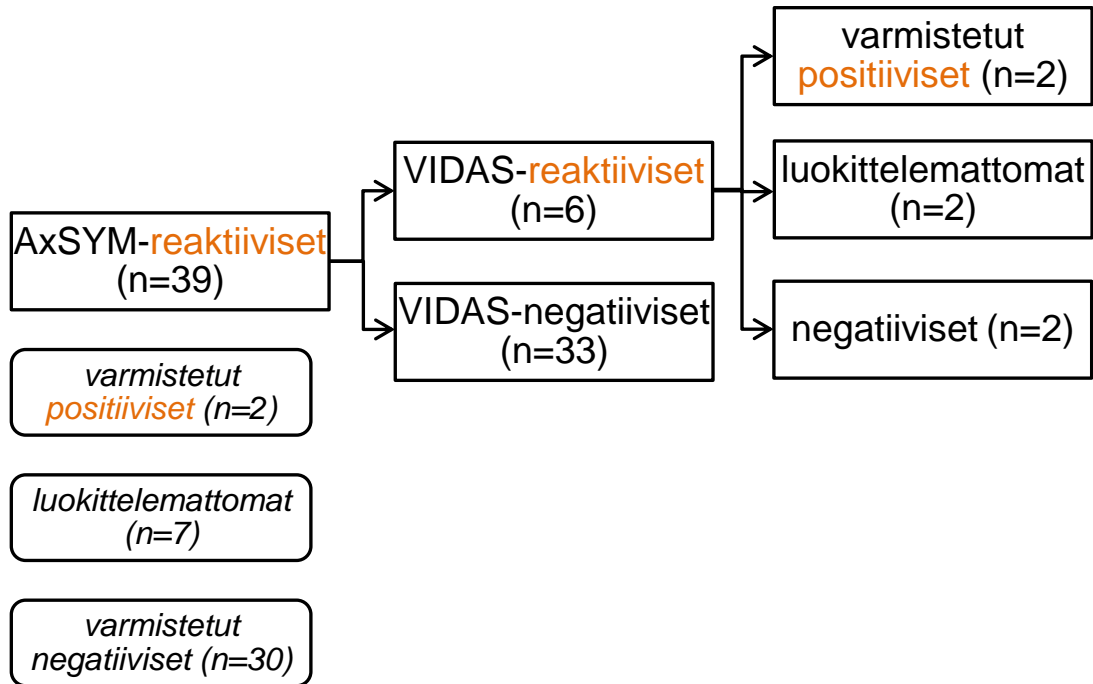
Taulukko 11. QCV-testin tulokset ja tulkinta.

Näytepaikka	TV1-tulos	R3-tulos	Tulkinta
A1	7,78	7264	Hyväksytty
A2	7,64	7387	Hyväksytty
A3	7,64	7120	Hyväksytty
A4	7,46	7472	Hyväksytty
A5	7,11	7162	Hyväksytty
A6	7,00	6628	Hyväksytty
B1	7,61	7177	Hyväksytty
B2	7,35	7289	Hyväksytty
B3	7,71	7284	Hyväksytty
B4	7,09	6760	Hyväksytty
B5	6,86	7322	Hyväksytty
B6	6,99	7151	Hyväksytty

VIDAS *anti-HCV* -testillä mitattiin 39 AxSYM-reaktiivista verenluovuttajanäytettä. Kaaviossa 1 on AxSYM-tulosten alapuolella esitetty vertailumenetelmillä varmistetut tulokset kyseisille näytteille. 2 näytettä oli varmistettu positiivisiksi, 7 jäi luokittelemattomiksi ja 30 varmistettiin negatiivisiksi. AxSYM-reaktiivisista näytteistä 6 näytettä antoi

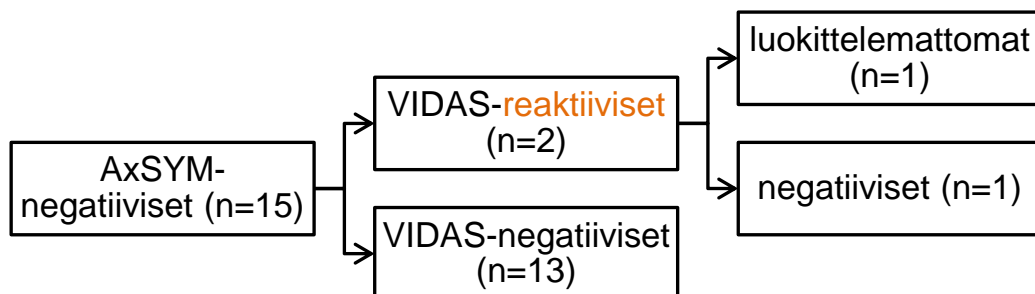
Vidaksella reaktiivisen tuloksen ja 33 negatiivisen tuloksen. Reaktiivisista VIDAS-näytteistä 2 oli entuudestaan varmistettuja positiivisia näytteitä, 2 jäi luokittelemattomiksi ja 2 varmistettiin negatiivisiksi.

Kaavio 1. AxSYM-reaktiiviset HCV-näytteet, jotka tutkittiin VIDAS anti-HCV -testillä. AxSYM-tulosruudun alla on esitetty kyseisten näytteiden vertailumenetelmällä varmistetut tulokset.



VIDAS anti-HCV -testillä mitattiin 15 AxSYM-negatiivista verenluovuttajanäytettä, joista 2 antoi Vidaksella reaktiivisen tuloksen ja 13 negatiivisen tuloksen (kaavio 2). VIDAS-reaktiiviset näytteet tutkittiin immunoblot-varmistustutkimuksella. Toinen antoi negatiivisen tuloksen ja toinen jäi luokittelemattomaksi.

Kaavio 2. AxSYM-negatiiviset HCV-näytteet, jotka tutkittiin VIDAS anti-HCV -testillä.



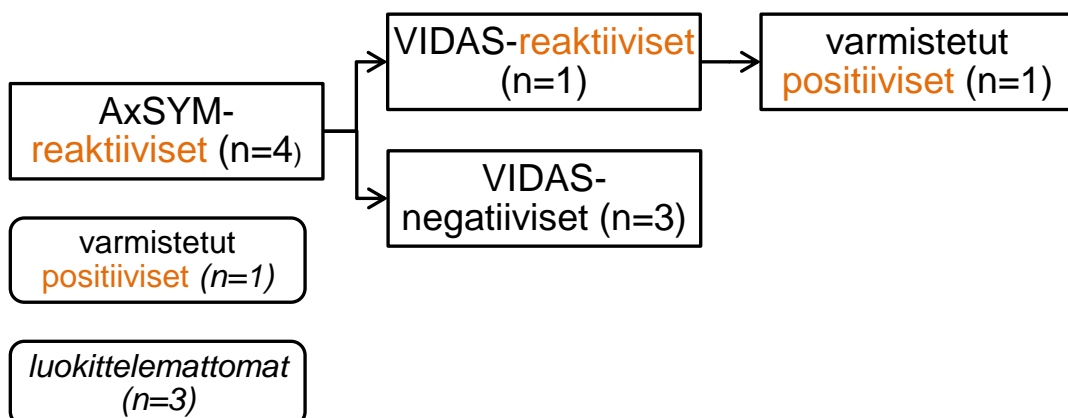
Anti-HCV-testillä mitattiin reagenssipakkauksen kontrollien lisäksi reagenssivalmistajasta riippumaton PeliSpy-kontrolli. Reagenssipakkauksen kontrollien ja PeliSpy-kontrollin tulokset on esitetty taulukossa 12. Reagenssipakkauksen kontrollien tulokset olivat valmistajan määrittämien raja-arvojen sisäpuolella. PeliSpy-kontrolli mitattiin kahdena testipäivänä ja molemmat tulokset olivat odotetusti positiivisia. Tavoitepitoisuutta ja raja-arvoja ei PeliSpy-kontrollille testivaiheessa määritetty.

Taulukko 12. HCV-kontrollien tulokset.

Kontrolli	Mittauspäivä	Lohko	VIDAS anti-HCV (TV)	
			tulos	tulkinta
Vidas Positive Control, C1	1.4.2014	A	2,53	positiivinen
Vidas Negative Control, C2	1.4.2014	A	-0,01	negatiivinen
PeliSpy type 26 Control	3.4.2014	A	2,69	positiivinen
PeliSpy type 26 Control	3.4.2014	B	2,42	positiivinen

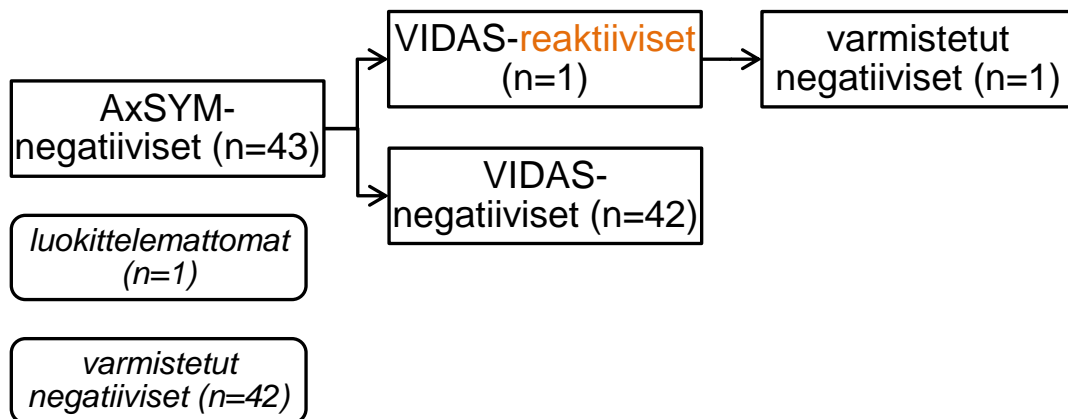
VIDAS HBsAg Ultra -testillä mitattiin 47 verenluovuttajanäytettä, joista 4 oli *AxSYM*-reaktiivisia ja 43 *AxSYM*-negatiivisia näytteitä (kaaviot 3 ja 4). Lisäksi mitattiin 6 ulkoista positiivista laadunohjausnäytettä (kaavio 5). *AxSYM*-reaktiivisten näytteiden vertailumenetelmällä varmistetut tulokset on esitetty kaavion 3 *AxSYM*-näyteruudun alapuolella. Varmistettuja positiivisia näytteitä oli 1 ja luokittelemattomiksi näytteiksi jäi 3 kappaletta. *AxSYM*-reaktiivisista näytteistä 1 oli Vidaksella reaktiivinen ja loput 3 olivat negatiivisia (kaavio 3). *VIDAS*-reaktiivinen näyte oli vertailumenetelmällä varmistettu positiivinen näyte.

Kaavio 3. *AxSYM* reaktiiviset HBV-näytteet, jotka tutkittiin *VIDAS HBsAg Ultra* -testillä. *AxSYM*-tuloksruudun alla on esitetty kyseisten näytteiden vertailumenetelmällä varmistetut tulokset.



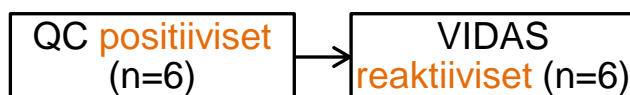
AxSYM-negatiivisista näytteistä 1 antoi reaktiivisen tuloksen Vidaksella ja loput 42 antoivat negatiivisen tuloksen (kaavio 4). VIDAS-reaktiivinen näyte varmistettiin vertailumenetelmillä negatiiviseksi. AxSYM-tulosruudun alapuolella on kaaviossa 4 esitetty kyseisten 43 negatiivisen näytteen vertailumenetelmillä varmistetut tulokset: 1 jäi luokittelemattomaksi ja loput 42 varmistettiin negatiivisiksi.

Kaavio 4. AxSYM-negatiiviset HBV-näytteet, jotka tutkittiin VIDAS HBsAg Ultra -testillä.



Ulkoiset, hepatiitti B -viruksen pinta-antigeeniposiitiviset laadunohjausnäytteet mitattiin Vidaksella verenluovuttaja näytteiden lisäksi. Kaikki 6 positiivista näytettä antoivat Vidaksella reaktiivisen tuloksen (kaavio 5). Taulukossa 13 on esitetty ulkoisten laadunohjausnäytteiden tiedot.

Kaavio 5. Ulkoiset HBV-positiiviset laadunohjausnäytteet.



Taulukko 13. Ulkoisten laadunohjausnäytteiden tiedot.

Järjestäjä	Odotustulos	Kierros
UK NEQAS	positiivinen	5/2013
UK NEQAS	positiivinen	7/2013
UK NEQAS	positiivinen	8/2013
UK NEQAS	positiivinen	9/2013
UK NEQAS	positiivinen	10/2013
UK NEQAS	positiivinen	11/2013

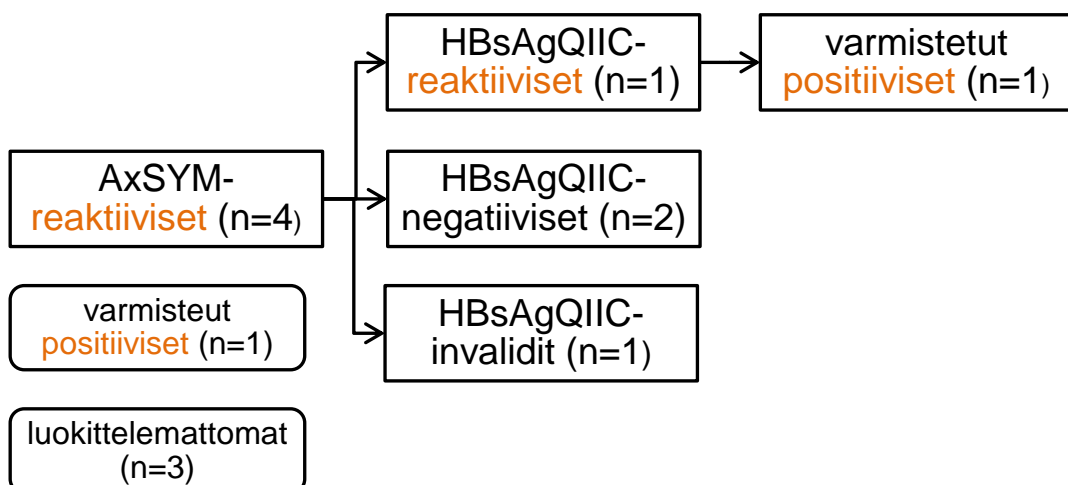
VIDAS HBsAg Ultra -testillä mitattiin reagenssipakkauksen kontrollit sekä reagenssi-valmistajasta riippumaton PeliSpy-kontrolli. Taulukossa 14 on esitetty kontrollien tulokset. Reagenssipakkauksen kontrollit olivat valmistajan määrittämien raja-arvojen sisäpuolella. PeliSpy-kontrolli mitattiin yksittäismäärityksinä kolmena testipäivänä ja tulokset olivat odotetusti positiivisia. Tavoitepitoisuutta ja raja-arvoja ei PeliSpy-kontrollille testivaiheessa määritetty.

Taulukko 14. HBV-kontrollien tulokset.

Kontrolli	Mittauspäivä	Lohko	VIDAS anti-HCV (TV)	
			tulos	tulkinta
Vidas HBV Positive Control, C1	5.4.2014	A	3,44	positiivinen
Vidas HBV Negative Control, C2	5.4.2014	A	0,01	negatiivinen
PeliSpy type 26 Control	5.4.2014	A	0,45	positiivinen
PeliSpy type 26 Control	7.4.2014	B	0,44	positiivinen
PeliSpy type 26 Control	8.4.2014	A	0,44	positiivinen

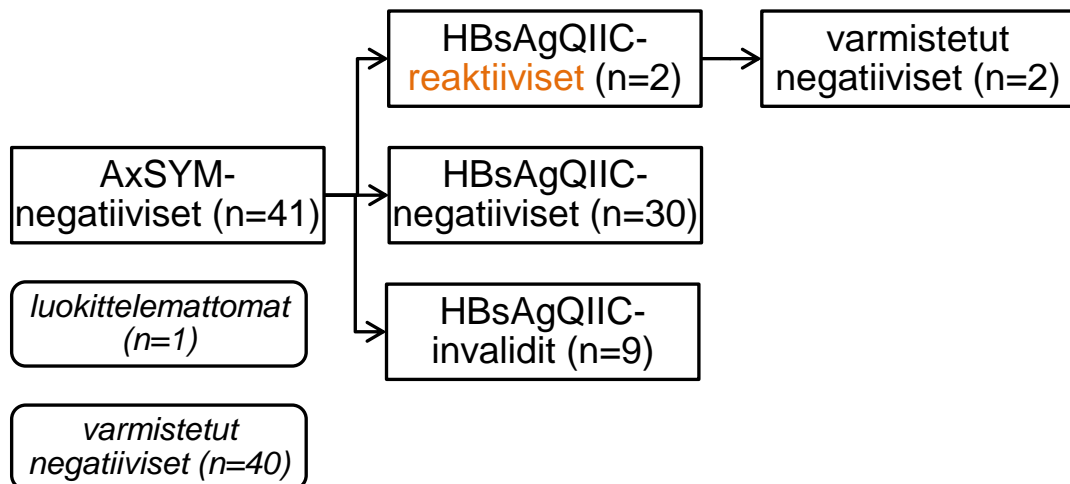
Architect-analysaattorilla suoritettiin HBsAgQII Confirmatory -testi samoilla verenluovuttajanäytteillä, joita käytettiin myös VIDAS HBsAg -testissä. Yhteensä 46 verenluovuttajanäytettä testattiin HBsAgQII C-neutralisaatiotestillä. AxSYM-reaktiivisia näytteitä oli 4 ja AxSYM-negatiivisia oli 41. AxSYM-reaktiivisista näytteistä Architect-neutralisaatiotestillä saatiin 1 reaktiivinen tulos, 1 invalidi-tulos ja 2 negatiivista tulosta (kaavio 6). Neutralisaatiotestissä saatu reaktiivinen tulos oli vertailumenetelmällä varmistettu positiivinen näyte. Invalidin eli epäkelvon tuloksen saanut näytettä ei mitattu uudelleen.

Kaavio 6. AxSYM-reaktiiviset Architect HBsAgQIIC -näytteet. AxSYM-tulosruudun alapuolella on esitetty kyseisten näytteiden varmistetut tulokset.



Architect HBsAgQII C -testillä mitattiin 41 *AxSYM*-negatiivista näytettä (kaavio 7). Kyseisistä näytteistä 2 antoi neutralisaatiotestissä reaktiivisen tuloksen, 30 negatiivisen tuloksen ja 9 antoi invalidin tuloksen. Reaktiiviset näytteet varmistettiin vertailumenetelmillä negatiivisiksi. Invalideja tuloksia saaneita näytteitä ei uusittu.

Kaavio 7. *AxSYM* negatiiviset *Architect HBsAgQIIC* -näytteet. *AxSYM*-tuloruudun alapuolella on esitetty kyseisten näytteiden varmistetut tulokset.



HBsAg QII Confirmatory -testillä mitattiin HBsAg-positiivinen HBsAgQII-kontrolli (ks. 5.4 Analysointi *Architect*-laitteella) ja PeliSpy-kontrolli (taulukko 15). HBsAg-kontrollin tulokset olivat tavoiterajojen sisäpuolella ja PeliSpy-kontrolli antoi odotetusti reaktiivisen tuloksen.

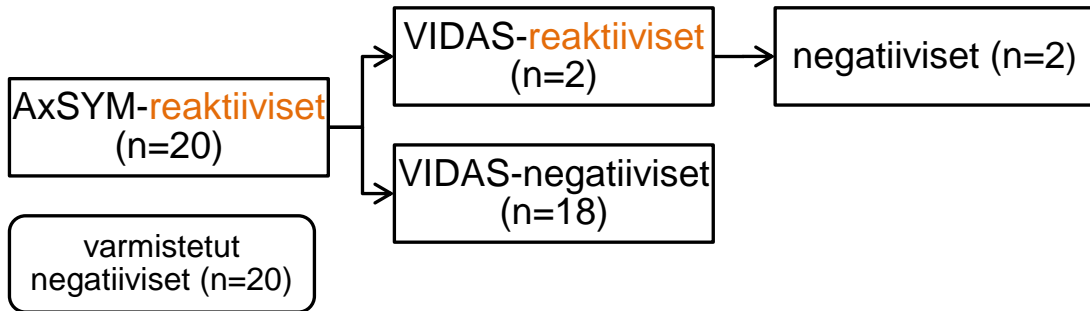
Taulukko 15. *Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory* -testillä mitatut kontrollit.

Kontrolli	Mittaus-päivä	C1 -tulos (S/CO)	C1 -alue (S/CO)	C2 -tulos (S/CO)	C2 -alue (S/CO)	%N (%)
HBsAg Positive Control	9.4.2014	0,38	0,00-1,00	3,2	1,65-4,96	
PeliSpy type 26 Control	9.4.2014	0,41	-	4,89	-	97

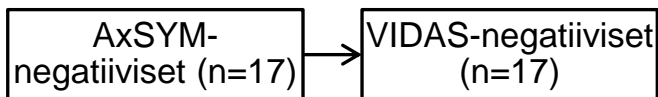
VIDAS HIV DUO Ultra -testillä mitattiin yhteensä 50 näytettä, joista 20 oli *AxSYM*-reaktiivisia verenluovuttajanäytteitä, 17 *AxSYM*-negatiivisia näytteitä ja 12 ulkoisia laadunohjausnäytteitä. Kaikki *AxSYM*-analysaattorilla reaktiivisen HIV-tuloksen saaneet näytteet varmistettiin vertailumenetelmillä negatiivisiksi. *AxSYM*-reaktiivisista näytteistä kaksi oli *VIDAS*-laitteella HIV-reaktiivisia ja loput 18 näytettä olivat negatiivisia (kaavio 8). *VIDAS*-reaktiiviset näytteet varmistettiin vertailumenetelmillä negatiivisiksi.

AxSYM-analysointilaitteella negatiivisen HIV-tuloksen saaneet 17 näytettä mitattiin VIDAS HIV DUO Ultra -testillä. Kaikki tulokset olivat Vidaksella negatiivisia (kaavio 9).

Kaavio 8. AxSYM-reaktiiviset HIV-näytteet, jotka mitattiin VIDAS HIV DUO Ultra -testillä. AxSYM-tulosruudun alapuolella on esitetty kyseisten näytteiden varmistetut tulokset

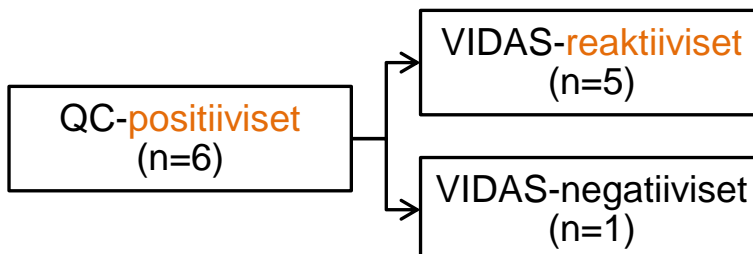


Kaavio 9. AxSYM negatiiviset HIV-näytteet.

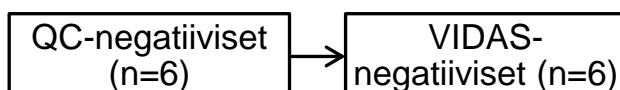


Ulkoisia HIV-laadunohjausnäytteitä mitattiin VIDAS-laitteella 6 positiivista ja 6 negatiivista. Positiivisista näytteistä 5 antoi reaktiivisen tuloksen ja 1 antoi negatiivisen tuloksen (kaavio 10). Negatiivisen tuloksen saanut näyte oli myös AxSYM-analysointilaitteella negatiivinen laadunohjauskierroksen aikana (liite 10, taulukko 1: näyte HIV 39 EQC). Kaikki negatiiviset laadunohjausnäytteet antoivat VIDAS-menetelmällä negatiivisen tuloksen (kaavio 11). Taulukossa 16 on esitetty ulkoisten laadunohjausnäytteiden tiedot.

Kaavio 10. Ulkoiset HIV-positiiviset laadunohjausnäytteet



Kaavio 7. Ulkoiset HIV-negatiiviset laadunohjausnäytteet.



Taulukko 16. Ulkoisten laadunohjausnäytteiden tiedot.

Järjestäjä	Odotustulos	Kierros
Equalis	positiivinen	3/2013
Labquality	positiivinen	3/2013
Labquality	negatiivinen	3/2013
Labquality	negatiivinen	3/2013
Labquality	positiivinen	6/2013
Labquality	negatiivinen	6/2013
Labquality	negatiivinen	6/2013
Labquality	positiivinen	9/2013
Labquality	positiivinen	9/2013
Labquality	negatiivinen	9/2013
Labquality	positiivinen	12/2013
Labquality	negatiivinen	12/2013

VIDAS HIV DUO Ultra -testillä mitattiin reagenssipakkauksen kontrollit sekä reagenssi-valmistajasta riippumaton PeliSpy-kontrolli. Taulukossa 17 on esitetty kontrollien tulokset. Reagenssipakkauksen kontrollit olivat valmistajan määrittämien raja-arvojen sisäpuolella. PeliSpy-kontrolli mitattiin kolmena testipäivänä ja tulokset olivat odotetusti positiivisia. Tavoitepitoisuutta ja raja-arvoja ei PeliSpy-kontrollille testivaiheessa määritetty.

Taulukko 17. HIV-kontrollien tulokset. Ab viittaa vasta-aineeseen ja Ag antigeeniin.

Kontrolli	Mittauspäivä	Lohko	VIDAS anti-HCV (TV)		
			Ab-tulos	Ag-tulos	Tulkinta
Vidas HIV Positive Control, C1	9.4.2014	B	0,75	ND*	positiivinen
Vidas HIV Negative Control, C2	9.4.2014	B	0,1	0	negatiivinen
Vidas HIV Positive Control, C3	9.4.2014	B	0,24	1,45	positiivinen
PeliSpy type 26 Control	9.4.2014	B	1,79	ND*	positiivinen
PeliSpy type 26 Control	10.4.2014	A	1,93	ND*	positiivinen
PeliSpy type 26 Control	11.4.2014	A	1,71	ND*	positiivinen

* ND=Not Determinable: Korkea Ab-RFV-arvo saattaa peittää Ag-tuloksen, tai Ag-tulos on liian matala laskettavaksi Ab-tuloksen jälkeen - tulokset ovat kelvollisia ja tulkinta määräytyy Ab-tuloksen mukaan.

6.2 miniVIDAS®-tulosten tarkastelu

VIDAS Anti-HCV -menetelmällä noin 15 % (8/54) mitatuista *Architect*-primaariseulontareaktiivisista verenluovuttajanäytteistä antoi reaktiivisen tuloksen. Näistä kaksi oli varmistettuja positiivisia, kolme luokittelemattomia ja kolme varmistettua negatiivista. Luokittelemattomien ja varmistettujen negatiivisten voidaan tulkita olleen ”väärä” reaktiivisia, mikä vastaa noin 11,5 % (6/52) varmistetuista negatiivisista ja luokittelemattomista näytteistä. Kaikki varmistetut positiiviset näytteet antoivat reaktiivisen tuloksen, eikä yhtään invalidia tulosta tullut. Reagenssipakkauksen kontrollit sekä PeliSpy-kontrolli olivat odotetuissa rajoissa.

VIDAS HBsAg Ultra -menetelmällä noin 4 % (2/47) mitatuista *Architect*-primaariseulontareaktiivisista verenluovuttajanäytteistä antoi reaktiivisen tuloksen. Näistä toinen varmistettiin positiiviseksi ja toinen negatiiviseksi. Virheellisesti reaktiivinen tulos voidaan tulkita ”vääräksi” reaktiiviseksi, joka vastaa noin 2 % (1/46) negatiivisista ja luokittelemattomista näytteistä. Kaikki positiiviset ulkoiset laadunohjausnäytteet antoivat odotetusti reaktiivisen tuloksen. Kaikki kontrollien tulokset olivat tavoitteissa, eikä yhtään invalidia tulosta tullut.

VIDAS HIV DUO Ultra -menetelmällä noin 6 % (2/37) mitatuista *Architect*-primaariseulontareaktiivisista verenluovuttajanäytteistä antoi reaktiivisen tuloksen. Molemmat reaktiivisen tuloksen saaneet näytteet varmistettiin negatiivisiksi. Positiivisista ulkoisista laadunohjausnäytteistä 5/6 antoi odotetun reaktiivisen tuloksen. Yksi positiivinen laadunohjausnäyte antoi virheellisen negatiivisen tuloksen. Sama näyte oli myös *AxSYM*-menetelmällä negatiivinen. Kyseinen näyte oli matalan pitoisuuden näyte pitoisuudella 1,5 IU HIV p24-Ag/ml (liite 10, taulukko 1: näyte HIV 39 EQC). Kaikki negatiiviset ulkoiset laadunohjausnäytteet antoivat odotetut negatiiviset tulokset. Yhtään invalidia tulosta ei tullut ja kaikki kontrollien tulokset olivat tavoitteissa.

6.3 HBsAg-neutralisaatiotestin tulosten tarkastelu

Architect HBsAg -neutralisaatiotestin (*HBsAg Qualitative II Confirmatory*) näytteistä 10 antoi invalidin tuloksen, mikä olisi johtanut näytteiden laimentamiseen ja/tai uusintamittauksiin. Invalidien tulosten osuus näyteaineistosta oli noin 22 % (10/46 näytettä). Negatiivisista *AxSYM*-näytteistä *HBsAgQIIC*-testillä saatiin kaksi ”väärää” reaktiivista

tulosta, jotka varmistettiin negatiivisiksi. Noin 4,5 % (2/45 näytettä) neutralisaatiotestillä mitatuista varmistetuista HIV-negatiivisista näytteistä sai siis ”väärän” reaktiivisen tuloksen. Yhtään ”väärää” negatiivista tulosta ei saatu, mutta varmistettujen reaktiivisten näytteiden määrä tutkimuksessa oli liian pieni lopullisten päätelmien tekemiseen.

6.4 Raportointi

Tutkimuksesta laadittiin Veripalvelun laatuvaatimusten mukainen asiantuntijan hyväksymä englanninkielinen tutkimusraportti, jossa esiteltiin käytetty analysaattori, menetelmät, tulokset ja niiden tulkinnat, tulosten analysointi sekä tulosten vaikutus projektin jatkotoimenpiteisiin (liite 11). Tutkimusraportti säilytetään Veripalvelun Kivihaan toimipisteessä ja sitä voidaan hyödyntää ja siihen voidaan viitata projektin edetessä jatkoseulontamenetelmien validointiin.

7 Päätelmät

7.1 VIDAS-sarjan analysaattori

Käytössä ollut *bioMérieux miniVIDAS blue* -analysaattori ei sovellu Veripalvelun infektiöseulonnan jatkotutkimusanalysaattoriksi koska se ei tue ISBT128-viivakoodia. Lisäksi päätökseen luopua *miniVidas blue* -vaihtoehdosta vaikuttivat yksisuuntainen laiteliittymämahdollisuus ja manuaalinen näyteannostelu, joka lisää virheriskiä. *VIDAS*- ja *VIDAS3*-analysaattorit tukevat = -merkillä alkavaa Veripalvelussa verenluovuttajanäytteissä käytettävää ISBT128-viivakoodia [38.]. Lisäksi molemmissa on kaksisuuntainen laiteliittymämahdollisuus. *VIDAS3* on automatisoitu näyteviivakoodin lukemisesta ja näytteen annostelusta aina lopulliseen tulosten tulkintaan, kun taas *VIDAS*-laitteelle tulee manuaalisesti lukea näyteviivakoodi näyteputkesta ulkoisella viivakoodinlukijalla ja annostella näyte manuaalisesti reagenssiliuskalle. [25.] Ominaisuuksiltaan kumpi tahansa, *VIDAS* tai *VIDAS3*, sopisivat Veripalvelun infektiöseulonnan jatkotutkimuskäyttöön korvaamaan Abbott AxSYM -mikropartikkelianalysaattorin.

7.2 VIDAS-menetelmät

VIDAS anti-HCV -menetelmä vähentäisi HCV-jatkotutkimusreaktiivisten tulosten määrää 38 %:sta (liitteet 12 ja 13, 2012 - 2013 keskiarvo: $392/1035 \cdot 100$ %) 15 %:iin (ks. kappale 6.1). Varmistustestien osalta tämä tarkoittaisi HCV-immunoblot -varmistustestien vähenemistä noin 200 testistä 75 testiin vuodessa (liite 13, 2012 - 2013 keskiarvo). Samanlaisia tuloksia on saatu myös muualla, muun muassa siirryttäessä *Mikrogen RecomLine HCV IgG* -menetelmästä *VIDAS anti-HCV* -menetelmään [39]. HCV-vasta-ainereaktiiviset tulokset laskivat noin kolmasosan (634 reaktiivista → 404 reaktiivista) [39]. Tutkimustulosten pohjalta *VIDAS anti-HCV* -menetelmän voidaan todeta olevan *AxSYM HCVAb* -menetelmää soveltuvampi HCV-vasta-aineseulontaan verenluovuttajanäytteistä.

VIDAS HBsAg Ultra -menetelmä vähentäisi HBV-jatkotutkimusreaktiivisten tulosten määrää 5 %:sta (liitteet 12 ja 13, 2012 - 2013 keskiarvo: $31/671 \cdot 100$ %) 4 %:iin (ks. kappale 6.1). HBV-varmistustestien osalta suurta muutosta ei tulisi, sillä varmistustestien määrä on jo hyvin matala (liite 13), eikä tutkimustulosten määrä ole riittävä luotettavaan arvioon pidemmällä aikavälillä. Vasta laajempi validointi osoittaisi, kuinka suuresta muutoksesta olisi kyse. Tutkimustulosten pohjalta *VIDAS HBsAg Ultra* -menetelmän voidaan todeta olevan ainakin yhtä pätevä HBV-pinta-antigeeniseulontaan verenluovuttajanäytteistä kuin *AxSYM HBsAg* -menetelmä.

VIDAS HIV DUO Ultra -menetelmä vähentäisi HIV-jatkotutkimusreaktiivisten tulosten määrää 17 %:sta (liitteet 12 ja 13, 2012 - 2013 keskiarvo: $43/249 \cdot 100$ %) 6 %:iin (ks. kappale 6.1). Tämä tarkoittaisi HIV-immunoblot-varmistustestien vähenemistä 20:sta noin 8 testiin vuodessa (liite 13). Käytännössä tuskin huomattavaa muutosta tapahtuisi varmistustestien määrässä, sillä varmistustestien määrä on jo hyvin matala, eikä *VIDAS HIV DUO Ultra* -tutkimustuloksia ole riittävästi luotettavaan arvioon. Vasta laajempi validointi osoittaisi kuinka suuresta muutoksesta olisi kyse. Tutkimustulosten pohjalta *VIDAS HIV DUO Ultra* -menetelmän voidaan todeta olevan ainakin yhtä pätevä HIV-seulontaan verenluovuttajanäytteistä kuin *AxSYM HBsAg* -menetelmä.

7.3 Architect HBsAgQII Confirmatory -menetelmä

Vaikka *Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory* on herkkä testi, ei se ole vaihtoehto hepatiitti B -viruksen pinta-antigeenien jatko- tai varmistustestiksi Veripalvelun infektioseulontalaboratorioon. Testi ei ole kovin käyttäjäystävällinen tai luotettava, johtuen suuresta määrästä (noin 22 %) invalideja tuloksia, verrattuna *bioMérieux VIDAS HBsAg Ultra* -menetelmään. Tutkimustulosten pohjalta päätettiin, ettei *Abbott Architect Qualitative II Confirmatory* -neutralisaatiotestiä validoida käyttöön.

7.4 Vastaukset tutkimuskysymyksiin

Kappaleessa 1 (Johdanto) esitettiin tutkimuskysymykset, joihin opinnäytetyössä etsittiin vastauksia. Seuraavassa ovat vastaukset numeroituna kysymysten esittämisjärjestyksessä.

1. *bioMérieux miniVIDAS® blue* -immunoanalyysointilaite **ei sovellu** SPR Veripalvelun infektioseulonnan jatkotutkimuskäyttöön korvaamaan nykyistä *Abbott AxSYM* -mikropartikkelianalyysointilaitea, koska *miniVIDAS blue* ei tue verenluovuttajanäytteissä käytettyä ISBT128-viivakoodia. *VIDAS*-sarjan kaksi muuta analyysointilaitea, *VIDAS* ja *VIDAS3*, soveltuvat korvaamaan *AxSYM*-analyysointilaitteen.
2. *bioMérieux VIDAS® anti-HCV, HBsAg Ultra* ja *HIV DUO Ultra* -menetelmät **soveltuvat** SPR Veripalvelun infektioseulonnan jatkotutkimuskäyttöön korvaamaan nykyiset *Abbott AxSYM HBsAg, HCVAb* ja *HIVAb/Ag* -menetelmät.
3. *Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory* **ei sovellu** jatko- tai varmistustestiksi SPR Veripalvelun infektioseulontaan. *bioMérieux VIDAS® HBsAg Ultra* -menetelmällä saatiin parempia tuloksia ja se soveltuu infektioseulonnan jatkotutkimuskäyttöön *Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory* -menetelmää paremmin.

Opinnäytetyön tutkimustulosten pohjalta päätettiin SPR Veripalvelussa *Abbott AxSYM* -analyysointilaite ja sen menetelmät korvata *bioMérieux VIDAS-* tai *VIDAS3* -analyysointilaitteilla ja *VIDAS anti-HCV, HBsAg Ultra* ja *HIV DUO Ultra* -menetelmillä.

8 Yhteenveto

Opinnäytetyö tehtiin SPR Veripalvelun infektioseulontalaboratoriolle. Työn tavoitteena oli testata ELFA-tekniikkaan perustuvien bioMérieux'n *VIDAS anti-HCV*-, *HBsAg Ultra*- ja *HIV DUO Ultra* -menetelmien soveltuvuus infektioseulonnan jatkotutkimuskäyttöön hepatiitti B- ja C -virusten sekä HI-viruksen osalta.

VIDAS-menetelmien testaus suoritettiin VIDAS-sarjan *miniVIDAS blue* -immunoanalysaattorilla. Lisäksi testattiin *Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory* -menetelmän soveltuvuus jatko- ja varmistustutkimuskäyttöön. Testaus suoritettiin verenluovuttajanäytteillä sekä ulkoisilla laadunohjausnäytteillä. VIDAS-menetelmillä saatuja tuloksia verrattiin jatkotutkimuskäytössä oleviin *Abbott'n AxSYM*-menetelmien tuloksiin. Tulokset varmistettiin infektioseulonnan muilla tutkimuksilla.

Opinnäytetyön perusteella virheellisten reaktiivisten tulosten määrä väheni jokaisen viruksen osalta, etenkin hepatiitti C -viruksen osalta. Näin ollen siirryttäessä *AxSYM*-menetelmistä VIDAS-menetelmien rutiinikäyttöön verenluovuttajanäytteiden jatkotutkimuksissa, vähenisivät tehdyt varmistustestit, työmäärä ja kulut.

VIDAS-menetelmien todettiin soveltuvan verenluovuttajanäytteiden infektioseulontaan ja Veripalvelu päätti ottaa bioMérieux'n *VIDAS anti-HCV*-, *HBsAg Ultra*- ja *HIV DUO Ultra* -menetelmät jatkotutkimuskäyttöön korvaamaan käytössä olevat *Abbott'n AxSYM*-menetelmät. *Abbott Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory* -testi ei Veripalvelun käyttötarkoitukseen ollut riittävän käyttäjystävällinen tai toimintavarma, joten menetelmästä luovuttiin. Opinnäytetyössä selvisi myös *miniVIDAS*-analysaattorin kykenemättömyys lukea verenluovuttajanäytteissä käytettävää ISBT128- viivakoodia. VIDAS-sarjan VIDAS- ja VIDAS3-analysaattorit tukevat ISBT128-viivakoodia ja soveltuvat Veripalvelun käyttöön. Opinnäytetyössä laadittuja ohjeita ja dokumentteja sekä saatuja tutkimustuloksia käytetään hyväksi VIDAS-menetelmien lopullisessa validoinnissa.

Lähteet

- 1 *Veripalvelun vuosi 2012*. SPR Veripalvelu. Verkkojulkaisu.
< <http://www.veripalvelu.fi/www/1194> >
Viitattu 27.3.2014.
- 2 *SPR Veripalvelu. 2014*. Verkkojulkaisu.
< <http://www.veripalvelu.fi> >
Viitattu 27.3.2014.
- 3 Krusius, Tom; Pastila, Satu. 2011: Verensiirtoinfektiot. Teoksessa Hedman, Klaus; Heikkinen, Terho; Huovinen, Pentti; Järvinen, Asko; Meri, Seppo; Vaara, Martti (toim.) 2011: *Infektiosairaudet - Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- 4 *Luovuttajanäytteiden infektioseulonnat virustutkimuslaboratoriossa, VI-YO-003*. 2013. Yleisohje SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.
Viitattu 28.3.2014.
- 5 *Verenluovuttajien infektiotutkimukset, LP-YO-301*. 2013. Yleisohje SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.
Viitattu 28.3.2014.
- 6 Reed, Karen; Rice, Charles. 1998: Molecular Characterization of Hepatitis C Virus. Teoksessa Reesink, H.W. (toim.) 1998: *Hepatitis C Virus* (2nd edition). Amsterdam: Karger.
- 7 Meurman, Olli. 2005. Virologia. Teoksessa Hellstén, Soile (toim.) 2005: *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. Jyväskylä: Suomen Kuntaliitto.
- 8 McGarvey, Michael; Houghton, Michael. 2014: Structure and molecular virology. Teoksessa Thomas, Howard; Lok, Anna; Locarnini, Stephen; Zuckerman, Arie. 2014: *Viral Hepatitis* (4th edition). Somerset, New Jersey, USA: Wiley.
e-kirja: ebrary.com
- 9 Bronkhorst, C; Kate, F. 1998: Liver Histology in Hepatitis C. Teoksessa Reesink, H.W. (toim.) 1998: *Hepatitis C Virus* (2nd edition). Amsterdam: Karger.
- 10 Thimme, Robert; Khakoo, Salim. 2014: The immune response to HCV in acute and chronic infection. Teoksessa Thomas, Howard; Lok, Anna; Locarnini, Stephen; Zuckerman, Arie. 2014: *Viral Hepatitis* (4th edition). Somerset, New Jersey, USA: Wiley.
- 11 *VIDAS[®] Anti-HCV*. REF 30 308. 2012. Reagenssipakkauksen seloste. bioMérieux SA. Ranska.

- 12 *Interferonihoito*. Syöpäjärjestöt. Verkkojulkaisu.
< <http://www.cancer.fi/tietoasystovasta/hoidot/interferonihoito/> >
Viitattu 23.4.2014.
- 13 *Hepatiitti C*. 2014. Infektiotaudit. THL. Verkkojulkaisu.
< http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/hepatiitti-c >
Viitattu 23.4.2014.
- 14 *C-hepatiittiin tehokas lääkeyhdistelmä*. 15.4.2014: Helsingin Sanomat.
Verkkojulkaisu. < <http://www.hs.fi/tiede/a1397474578140> >
Viitattu 23.4.2014.
- 15 Chang, Tiffany. 1999: *The History of Hepatitis*. Yhdysvallat: Stanfordin yliopisto.
Verkkojulkaisu. < <http://www.stanford.edu/group/virus/1999/tchang/index.htm> >
Viitattu 24.4.2014.
- 16 *The Hepatitis Virus Database*. 2008: IBI Biosolutions Pvt. Ltd. Intia.
Verkkojulkaisu. < <http://www.ibibiobase.com/projects/hepatitis/hepatitis-aB.htm> >
Viitattu 24.4.2014.
- 17 Cann, Alan. 2012: *Principles of Molecular Virology* (5th edition). Iso-Britannia:
Elsevier.
- 18 Pastila, Satu. 2005: Infektiotaudit. Teoksessa Hellstén, Soile (toim.) 2005:
Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa. Jyväskylä: Suomen Kuntaliitto.
- 19 *Hepatiitti B*. 2014. Infektiotaudit THL. Verkkojulkaisu.
< http://www.thl.fi/fi_FI/web/infektiotaudit-fi/hepatiitti-b >
Viitattu 24.4.2014.
- 20 Leikola, Juhani. 1987: *Verensiirtojen immunologia - Immunologian opaskirja opiskelijoille ja laboratorioille*. SPR Veripalvelu. Helsinki: Grafitex Oy.
- 21 Teoksessa Thomas, Howard; Lok, Anna; Locarnini, Stephen; Zuckerman, Arie.
2014: *Viral Hepatitis* (4th edition). Somerset, New Jersey, USA: Wiley.
- 22 Levy, Jay. 2007: *HIV and the Pathogenesis of AIDS* (3rd edition). Washington,
Yhdysvallat: ASM Press. e-kirja: ebrary.com
- 23 *VIDAS® HIV DUO Ultra*. REF 30 443. 2010. Reagenssipakkauksen seloste.
bioMérieux SA. Ranska.

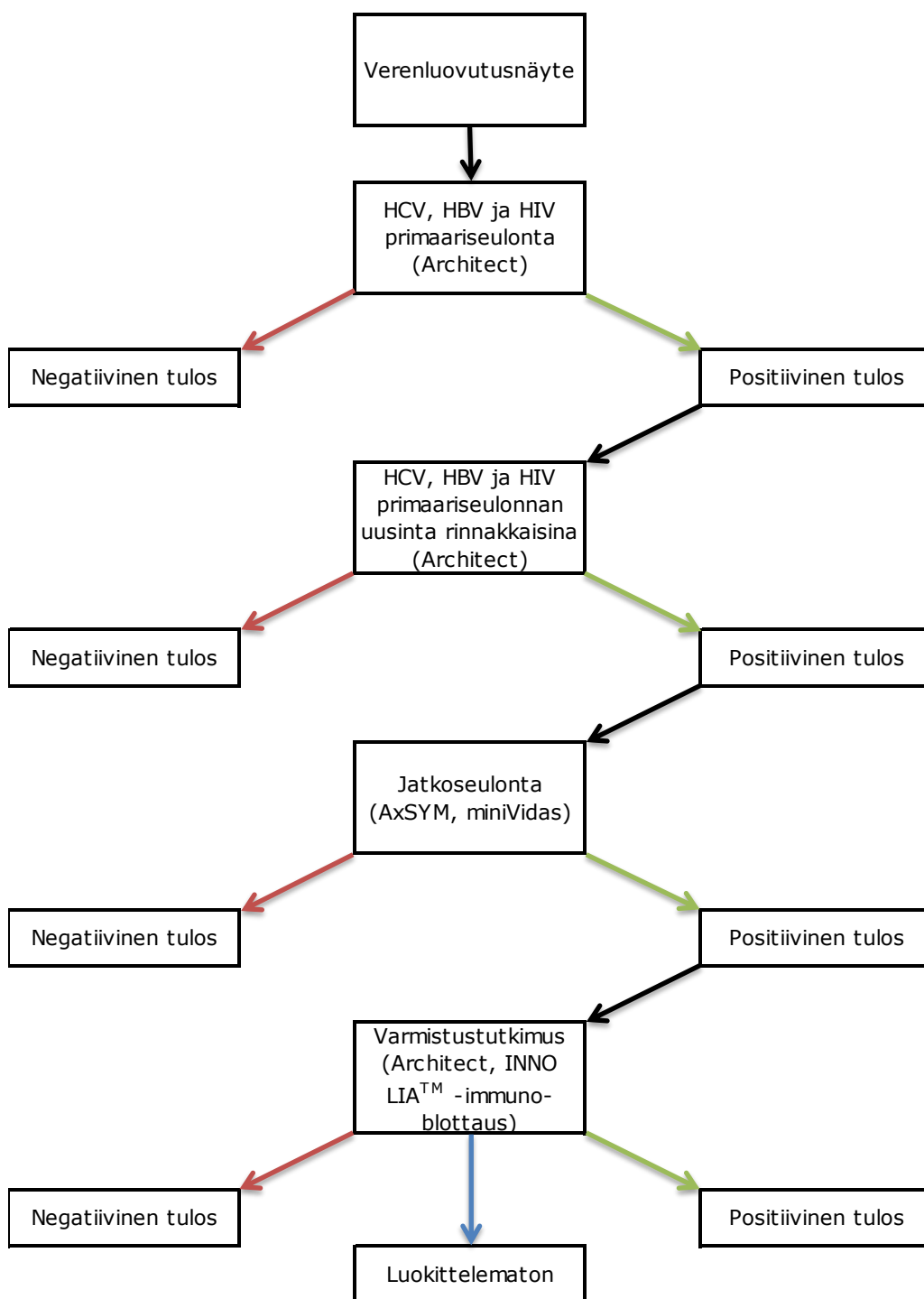
- 24 Leinikki, Pauli. 2009: *HIV-infektio ja AIDS*. Duodecim Terveyskirjasto: Kustannus Oy Duodecim. Verkkojulkaisu.
< http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=seh00123&p_haku=aids > Viitattu 24.4.2014.
- 25 VIDAS®. bioMérieux SA. Verkkojulkaisu.
< <http://www.biomerieux-diagnostics.com> > Viitattu 26.4.2014 ja 21.5.2014.
- 26 Yolken, Robert; Stopa, Peter. 1979. *Enzyme-Linked Fluorescence Assay: Ultrasensitive Solid-Phase Assay for Detection of Human Rotavirus*. Teoksessa *Journal of Clinical Microbiology* 1979, vol 10, no. 3, s. 317-321. Yhdysvallat.
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC273160/pdf/jcm00182-0073.pdf> > Viitattu 24.4.2014.
- 27 *bioMérieux VIDAS System*. PowerPoint-perehdytysmateriaali 2014. Ranska: bioMérieux. Viitattu 25.4.2014.
- 28 Crowther, John. 2001. *The ELISA Guidebook*. New Jersey: Humana press inc.
- 29 *Quality Control VIDAS*. REF 30 706. 2013. Reagenssipakkauksen seloste. bioMérieux SA. Ranska.
- 30 *Architect-analysaattori*, VI43354. 2013. Laiteohje SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.
Viitattu 28.4.2014.
- 31 Wessberg, Susanna. 2014. Asiantuntija. SPR Veripalvelu, laboratoriotutkimukset. Suulliset tiedonannot sekä sähköpostikeskustelut 1.4–31.5.2014.
- 32 *Architect HBsAg Qualitative II Confirmatory*. REF 2G23. 2012. Reagenssipakkauksen seloste. Abbott Laboratories. Irlanti.
- 33 *Abbottin AxSYM-analysaattori*, VI-43181. 2009. Laiteohje SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.
Viitattu 28.4.2014.
- 34 *HI-1-viruksen, hepatiitti C -viruksen sekä hepatiitti B -viruksen osoitus Procleix Ultrio Plus Assay -menetelmällä ja Procleix Ultrio Plus Discriminatory HIV-1, HCV ja HBV Assay -menetelmällä*, VI3853. 2013. Tutkimusmenetelmä SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön. Viitattu 28.4.2014.
- 35 *Hepatiitti C -virus (HCV)-vasta-aineiden varmistus INNO-LIA™ HCV Score (Innogenetics) -menetelmällä*, VI-3811. 2010. Tutkimusmenetelmä SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön. Viitattu 28.4.2014.

- 36 *HIV-1 / HIV-2 vasta-aineiden varmistus INNO-LIA™ HIV I/II Score (Inno-genetics) menetelmällä*, VI-3831. 2010. Tutkimusmenetelmä SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön. Viitattu 28.4.2014.
- 37 *International Society of Blood Transfusion 128 - Labeling Standard*. 2003. <<http://web.archive.org/web/20060930040114/http://www.militaryblood.dod.mil/library/guidelines/labeling.htm>> Viitattu 30.4.2014.
- 38 Murtomäki-Repo, Sanna. 2014. Laitevalmistajan yhteyshenkilö. bioMérieux Suomi Oy. Sähköpostikeskustelut 1.4–31.5.2014.
- 39 Furlini, G; Foschi, C; Nardini, P; Galli, S; Meliconi, M.G ; Landini, M.P. 2014. *Performance of VIDAS® Anti-HCV as a second-line test for the detection of anti-HCV antibodies*. Tutkimusraportti. Microbiology Unit, Sant'Orsola Hospital, Bologna, Italy.
- 40 *Hepatitis C virus (HCV): model structure and genome organization*. 2003. Verkkojulkaisu. <http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM5_28/S1462399403006926sup002.htm> Viitattu 22.4.2014.
- 41 Perkins, James. 2002. *The Hepatitis Virus Database*. Verkkojulkaisu. <<http://www.ibibiobase.com/projects/hepatitis/hepatitis-aB.htm>> Viitattu 24.4.2014.
- 42 Structure of the HIV virion. University of London. Verkkojulkaisu. <<http://idshowcase.lshtm.ac.uk/id501/ID501/S1S2/images/fig50.gif>> Viitattu 24.4.2014.

Infektioseulonnan algoritmi

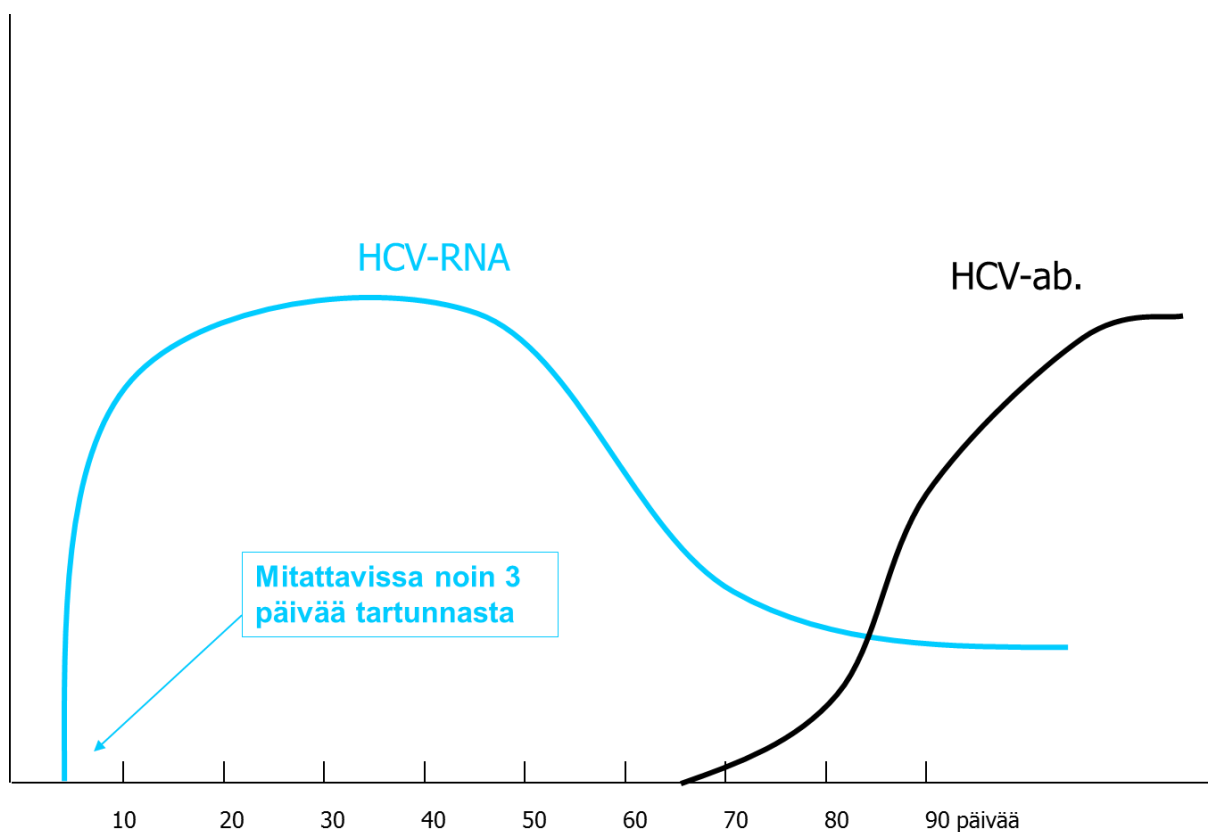
HCV-, HBV- ja HIV-infektioseulonnan supistettu algoritmi.

Lähteenä käytetty SPR Veripalvelun LP-YO-301 -yleisohjeen liitteitä 1 ja 2.

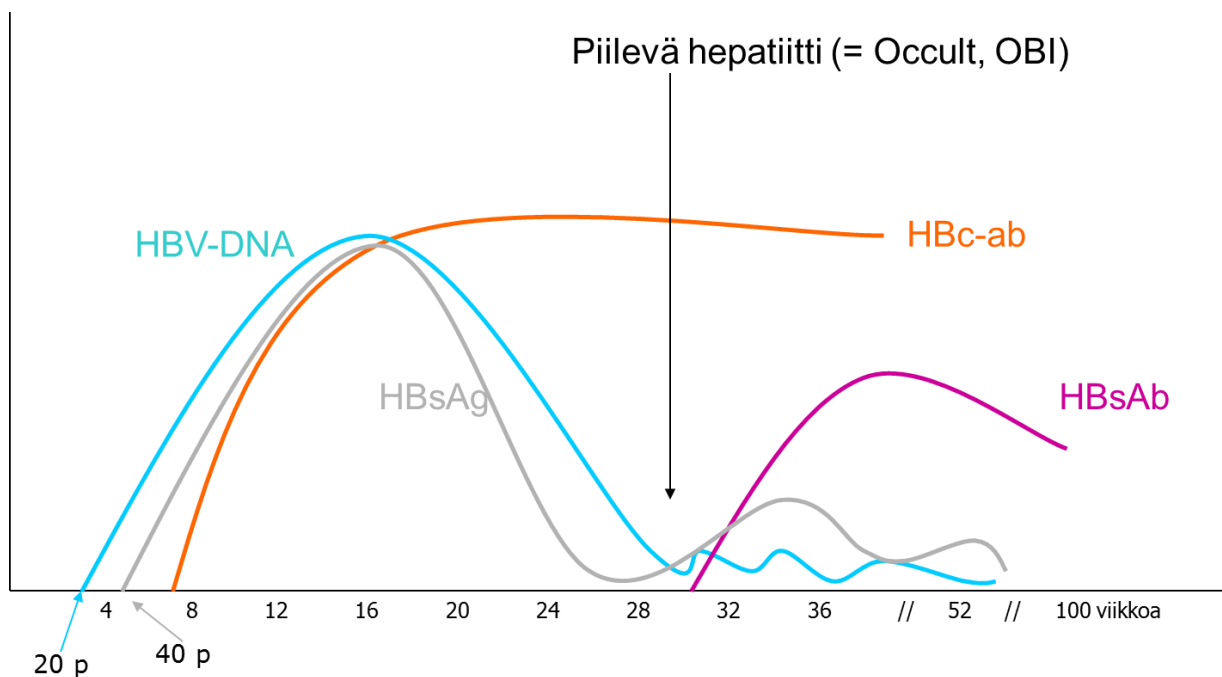


HI-, HB- ja HC-virusten esiintyvyys veressä ajan funktiona

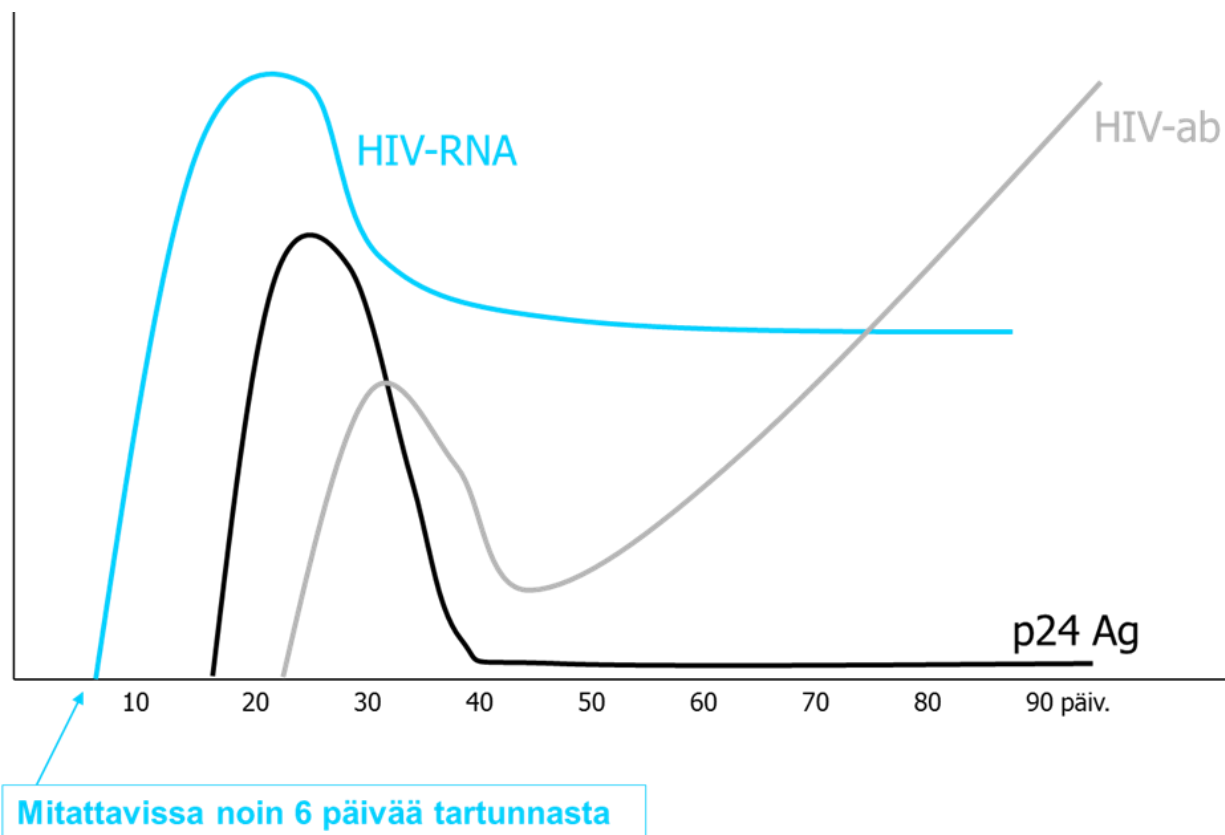
HI-, hepatiitti B - ja hepatiitti C -virusten itämisajat sekä esiintyvyydet veressä ajan funktiona. Lähde: Serologinen infektiöseulonta, Architect-perehdytys. 2013. SPR Veripalvelu.



Kuva 1. Hepatiitti C -viruksen itäminen ja esiintyvyys veressä ajan funktiona.



Kuva 2. Hepatiitti B -viruksen itäminen ja esiintyvyys veressä ajan funktiona.



Kuva 3. HI-viruksen itäminen ja esiintyvyys veressä ajan funktiona.

miniVidas-laiteohje

bioMérieux miniVidas blue -analysointilaitteen laiteohje. Heikki Nuutisen laatima ja asiantuntija Susanna Wessbergin tarkastama. Laiteohje on Veripalvelun laatuvaatimusten mukainen.

Laiteohje on tarkoitettu ainoastaan SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.

Anti-HCV-menetelmäohje

bioMérieux VIDAS anti-HCV -menetelmäohje. Heikki Nuutisen laatima ja asiantuntija Susanna Wessbergin tarkastama. Ohje on Veripalvelun laatuvaatimusten mukainen.

Menetelmäohje on tarkoitettu ainoastaan SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.

HBsAg-menetelmäohje

bioMérieux VIDAS HBsAg Ultra -menetelmäohje. Heikki Nuutisen laatima ja asiantuntija Susanna Wessbergin tarkastama. Ohje on Veripalvelun laatuvaatimusten mukainen.

Menetelmäohje on tarkoitettu ainoastaan SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.

HIVAb/Ag-menetelmäohje

bioMérieux VIDAS HIV DUO Ultra -menetelmäohje. Heikki Nuutisen laatima ja asiantuntija Susanna Wessbergin tarkastama. Ohje on Veripalvelun laatuvaatimusten mukainen.

Menetelmäohje on tarkoitettu ainoastaan SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.

Tutkimussuunnitelma

Tutkimussuunnitelma VIDAS HCV, HBV ja HIV -menetelmien, miniVidas-analysaattorin sekä Abbott Architect HBsAg-neutralisaatiomenetelmän soveltuvuuksien testauksesta Veripalvelun käyttöön. Laatinut Heikki Nuutinen ja tarkastanut asiantuntija Susanna Wessberg. Ohje on Veripalvelun laatuvaatimusten mukainen.

Tutkimussuunnitelma on tarkoitettu ainoastaan SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.

HCV-näytteiden tulokset

Taulukossa 1 on taulukoituna HCV-näytteiden tyyppi sekä AxSYM- ja VIDAS-tulokset.

Taulukossa 2 on taulukoituna HCV-näytteiden muiden vertailumenetelmien tulokset.

BDS tarkoittaa verenluovuttajanäytettä (Blood Donor Sample).

Taulukko 1. HCV-näytteiden AxSYM- ja VIDAS-tulokset.

Sample	Sample kind	AxSYM (S/CO)		VIDAS anti-HCV (TV)	
		result	interpret.	result	interpret.
HCV 1	BDS	1,45	reactive	0,11	negative
HCV 2	BDS	1,86	reactive	0,16	negative
HCV 3	BDS	2,89	reactive	0,10	negative
HCV 4	BDS	1,41	reactive	0,20	negative
HCV 5	BDS	1,09	reactive	0,21	negative
HCV 6	BDS	1,61	reactive	0,16	negative
HCV 7	BDS	3,79	reactive	0,33	negative
HCV 8	BDS	1,72	reactive	0,33	negative
HCV 9	BDS	3,64	reactive	10,55	reactive
HCV 10	BDS	1,04	reactive	0,75	negative
HCV 11	BDS	1,78	reactive	0,19	negative
HCV 12	BDS	57,81	reactive	26,14	reactive
HCV 13	BDS	2,34	reactive	6,53	reactive
HCV 14	BDS	1,12	reactive	0,29	negative
HCV 15	BDS	1,00	reactive	0,18	negative
HCV 16	BDS	1,59	reactive	0,83	negative
HCV 17	BDS	1,09	reactive	0,41	negative
HCV 18	BDS	1,47	reactive	0,07	negative
HCV 19	BDS	1,10	reactive	0,62	negative
HCV 20	BDS	1,78	reactive	0,59	negative
HCV 21	BDS	5,43	reactive	0,50	negative
HCV 22	BDS	1,09	reactive	0,42	negative
HCV 23	BDS	1,05	reactive	0,24	negative
HCV 24	BDS	3,97	reactive	0,14	negative
HCV 25	BDS	1,17	reactive	0,84	negative
HCV 26	BDS	1,05	reactive	0,67	negative
HCV 27	BDS	1,64	reactive	0,28	negative
HCV 28	BDS	1,65	reactive	0,34	negative
HCV 29	BDS	1,15	reactive	0,66	negative
HCV 30	BDS	1,05	reactive	0,35	negative
HCV 31	BDS	1,02	reactive	0,38	negative
HCV 32	BDS	1,21	reactive	10,78	reactive
HCV 33	BDS	1,65	reactive	5,39	reactive
HCV 34	BDS	1,58	reactive	0,25	negative
HCV 35	BDS	5,61	reactive	0,31	negative
HCV 36	BDS	1,06	reactive	0,66	negative

HCV 37	BDS	1,30	reactive	0,42	negative
HCV 38	BDS	1,56	reactive	9,75	reactive
HCV 39	BDS	1,50	reactive	0,27	negative
HCV 40	BDS	0,93	negative	0,17	negative
HCV 41	BDS	0,43	negative	0,23	negative
HCV 42	BDS	0,97	negative	0,49	negative
HCV 43	BDS	0,59	negative	0,95	negative
HCV 44	BDS	0,92	negative	0,59	negative
HCV 45	BDS	0,72	negative	0,46	negative
HCV 46	BDS	0,66	negative	1,61	reactive
HCV 47	BDS	0,46	negative	0,33	negative
HCV 48	BDS	0,36	negative	0,17	negative
HCV 49	BDS	0,43	negative	0,25	negative
HCV 50	BDS	0,88	negative	0,33	negative
HCV 51	BDS	0,52	negative	0,36	negative
HCV 52	BDS	0,73	negative	3,48	reactive
HCV 53	BDS	0,42	negative	0,43	negative
HCV 54	BDS	0,79	negative	0,62	negative

Taulukko 2. HCV-näytteiden Architect HCVAb primaariseulonta-, immunoblot-, ja ID-NAT -tulokset.

Sample	Architect HCV (S/CO)				Inno-Lia - immunoblot conf.test interpret.	HCV NAT (Tigris)
	primary	1. rerun	2. rerun	interpret.		
HCV 1	5,55	5,80	6,09	reactive	negative	negative
HCV 2	1,47	1,49	1,51	reactive	negative	negative
HCV 3	1,12	0,98	1,06	reactive	negative	negative
HCV 4	1,06	1,23	1,19	reactive	negative	negative
HCV 5	2,14	2,02	2,25	reactive	negative	negative
HCV 6	1,13	1,26	1,25	reactive	negative	negative
HCV 7	2,15	2,16	2,12	reactive	VIPO	negative
HCV 8	1,96	1,80	1,76	reactive	VIPO	negative
HCV 9	5,11	5,42	5,38	reactive	VIPO	negative
HCV 10	1,07	1,22	1,28	reactive	negative	negative
HCV 11	1,49	1,40	1,54	reactive	negative	negative
HCV 12	11,68	11,91	11,75	reactive	positive	positive
HCV 13	-	2,98	3,13	reactive	positive	negative
HCV 14	1,22	1,28	1,22	reactive	negative	negative
HCV 15	2,77	2,24	2,17	reactive	negative	negative
HCV 16	2,37	2,27	2,22	reactive	VIPO	negative
HCV 17	1,11	1,26	1,17	reactive	negative	negative
HCV 18	1,06	1,03	1,04	reactive	VIPO	negative
HCV 19	1,25	1,22	1,14	reactive	negative	negative
HCV 20	1,30	1,40	1,26	reactive	negative	negative
HCV 21	1,36	1,50	1,47	reactive	negative	negative
HCV 22	1,29	1,38	1,34	reactive	negative	negative
HCV 23	3,05	2,99	2,85	reactive	negative	negative
HCV 24	3,34	3,06	3,13	reactive	negative	negative
HCV 25	-	1,27	1,26	reactive	unclassified	negative

HCV 26	2,94	2,71	2,69	reactive	negative	negative
HCV 27	1,28	1,21	1,36	reactive	unclassified	negative
HCV 28	-	2,29	2,06	reactive	unclassified	negative
HCV 29	1,12	1,11	1,17	reactive	negative	negative
HCV 30	1,27	1,24	1,18	reactive	negative	negative
HCV 31	1,51	1,42	1,42	reactive	negative	negative
HCV 32	-	3,88	3,45	reactive	unclassified	negative
HCV 33	2,89	3,10	3,06	reactive	negative	negative
HCV 34	1,27	1,44	1,43	reactive	VIPO	negative
HCV 35	1,30	1,15	1,23	reactive	VIPO	negative
HCV 36	1,38	1,19	1,25	reactive	VIPO	negative
HCV 37	1,09	1,02	1,07	reactive	unclassified	negative
HCV 38	3,66	3,77	3,29	reactive	unclassified	negative
HCV 39	-	1,34	1,43	reactive	negative	negative
HCV 40	1,61	1,73	1,65	reactive	-	negative
HCV 41	2,17	2,23	2,14	reactive	-	negative
HCV 42	3,37	3,32	3,47	reactive	-	negative
HCV 43	1,26	1,32	1,41	reactive	-	negative
HCV 44	1,34	1,12	1,20	reactive	-	negative
HCV 45	2,71	2,70	2,60	reactive	-	negative
HCV 46	1,03	1,30	1,17	reactive	negative	negative
HCV 47	1,64	1,59	1,74	reactive	-	negative
HCV 48	1,06	1,10	1,11	reactive	-	negative
HCV 49	1,74	1,86	2,12	reactive	-	negative
HCV 50	1,69	1,41	1,48	reactive	-	negative
HCV 51	1,62	1,46	1,48	reactive	-	negative
HCV 52	1,33	1,28	1,28	reactive	unclassified	negative
HCV 53	1,42	1,41	1,51	reactive	-	negative
HCV 54	1,12	1,03	0,98	reactive	-	negative

HBV-näytteiden tulokset

Taulukossa 1 on taulukoituna HBV-näytteiden tyyppi sekä AxSYM- ja VIDAS-tulokset. Architect-neutralointitestin tulokset on esitetty taulukossa 2. Taulukossa 3 on taulukoituna HBV-näytteiden muiden vertailumenetelmien tulokset. BDS tarkoittaa verenluovuttajanäytettä (Blood Donor Sample) ja EQC tarkoittaa ulkoista laadunohjausnäytettä (External Quality Control).

Taulukko 1. HBV-näytteiden AxSYM- ja VIDAS-tulokset.

Sample	Sample kind	AxSYM HBsAg (S/CO) sup.test		VIDAS HBsAg	
		result	interpret.	result	interpret.
HBV 1	BDS	-		0,01	negative
HBV 2	BDS	162,84	reactive	8,87	reactive
HBV 3	BDS	1,90	reactive	0,02	negative
HBV 4	BDS	28,34	reactive	0,00	negative
HBV 5	BDS	1,44	reactive	0,01	negative
HBV 6	BDS	0,38	negative	0,00	negative
HBV 7	BDS	0,78	negative	0,00	negative
HBV 8	BDS	0,44	negative	0,01	negative
HBV 9	BDS	0,64	negative	0,00	negative
HBV 10	BDS	0,46	negative	0,00	negative
HBV 11	BDS	0,60	negative	0,00	negative
HBV 12	BDS	0,40	negative	0,07	negative
HBV 13	BDS	0,40	negative	0,00	negative
HBV 14	BDS	0,58	negative	0,01	negative
HBV 15	BDS	0,50	negative	0,01	negative
HBV 16	BDS	0,73	negative	0,01	negative
HBV 17	BDS	0,54	negative	0,00	negative
HBV 18	BDS	0,45	negative	0,00	negative
HBV 19	BDS	0,42	negative	0,00	negative
HBV 20	BDS	0,45	negative	0,00	negative
HBV 21	BDS	0,53	negative	0,00	negative
HBV 22	BDS	0,51	negative	0,00	negative
HBV 23	BDS	0,50	negative	0,00	negative
HBV 24	BDS	0,59	negative	0,00	negative
HBV 25	BDS	0,49	negative	0,00	negative
HBV 26	BDS	0,44	negative	0,00	negative
HBV 27	BDS	0,44	negative	0,01	negative
HBV 28	BDS	0,52	negative	0,01	negative
HBV 29	BDS	0,56	negative	0,01	negative
HBV 30	BDS	0,55	negative	0,00	negative
HBV 31	BDS	0,51	negative	0,00	negative
HBV 32	BDS	0,41	negative	0,01	negative
HBV 33	BDS	0,84	negative	0,15	reactive

HBV 34	BDS	0,45	negative	0,01	negative
HBV 35	BDS	0,61	negative	0,00	negative
HBV 36	BDS	0,47	negative	0,01	negative
HBV 37	BDS	0,60	negative	0,01	negative
HBV 38	BDS	0,46	negative	0,01	negative
HBV 39	BDS	0,64	negative	0,01	negative
HBV 40	BDS	0,46	negative	0,01	negative
HBV 41	BDS	0,51	negative	0,00	negative
HBV 42	BDS	0,59	negative	0,01	negative
HBV 43	BDS	0,46	negative	0,00	negative
HBV 44	BDS	0,41	negative	0,00	negative
HBV 45	BDS	0,55	negative	0,00	negative
HBV 46	BDS	0,50	negative	0,00	negative
HBV 47	BDS	0,51	negative	0,00	negative
HBV 48	EQC			1,73	reactive
HBV 49	EQC			8,98	reactive
HBV 50	EQC			9,01	reactive
HBV 51	EQC			8,67	reactive
HBV 52	EQC			8,85	reactive
HBV 53	EQC			8,53	reactive

Taulukko 2. HBV-näytteiden Architect HBs Qualitative II Confirmatory -testin tulokset.

Sample	Architect neutr.test				
	HBsAg QII C1 (S/CO)	HBsAg QII C2 (S/CO)		HBsAG QII %N (%)	
	result	result	interpret.	result	final interpret.
HBV 1	5,72	5,67	valid	-1,0	negative
HBV 2	2721,45	6857,12	valid	60,3	positive
HBV 3	2,09	2,16	valid	3,4	negative
HBV 4	10,83	10,34	valid	-4,9	invalid
HBV 5	3,36	3,18	valid	-6,1	negative
HBV 6	4,29	4,00	valid	-7,7	negative
HBV 7	1,88	2,12	valid	13,1	negative
HBV 8	2,79	2,88	valid	3,7	negative
HBV 9	2,89	2,94	valid	1,7	negative
HBV 10	2,69	2,59	valid	-4,4	negative
HBV 11	7,93	7,77	valid	-2,2	negative
HBV 12	0,32	1,26	valid	96,5	positive
HBV 13	1,76	1,94	valid	10,5	negative
HBV 14	0,59	0,53	invalid	not applicable	negative
HBV 15	11,93	11,21	valid	-6,6	invalid
HBV 16	2,01	1,60	valid	-31,1	invalid
HBV 17	3,58	3,53	valid	-1,4	negative
HBV 18	1,14	1,04	valid	-13,1	negative
HBV 19	0,82	0,84	valid	3,6	negative
HBV 20	1,19	1,18	valid	-2,0	negative
HBV 21	4,87	4,47	valid	-9,5	negative

HBV 22	1,73	1,59	valid	-11,2	negative
HBV 23	14,55	15,08	valid	3,6	invalid
HBV 24	1,03	0,98	valid	-7,3	negative
HBV 25	1,24	1,18	valid	-6,4	negative
HBV 26	2,70	2,62	valid	-3,6	negative
HBV 27					
HBV 28	2,53	2,16	valid	-19,8	invalid
HBV 29	1,51	1,45	valid	-5,1	negative
HBV 30	3,32	2,78	valid	-21,8	invalid
HBV 31	0,55	0,51	invalid	not applicable	negative
HBV 32	2,38	2,17	valid	-11,0	negative
HBV 33	0,35	2,13	valid	96,6	positive
HBV 34	2,57	2,28	valid	-15,0	negative
HBV 35	0,63	0,54	invalid	not applicable	negative
HBV 36	1,88	1,60	valid	-21,5	invalid
HBV 37	0,52	0,45	invalid	not applicable	negative
HBV 38	0,41	0,36	invalid	not applicable	negative
HBV 39	0,51	0,51	invalid	not applicable	negative
HBV 40	4,24	4,09	valid	-3,9	negative
HBV 41	1,42	1,23	valid	-20,9	invalid
HBV 42	1,81	1,34	valid	-44,7	invalid
HBV 43	2,54	2,33	valid	-10,5	negative
HBV 44	3,30	3,18	valid	-4,0	negative
HBV 45	0,97	0,87	valid	-16,2	invalid
HBV 46	1,41	1,31	valid	-9,9	negative
HBV 47	1,43	1,29	valid	-13,6	negative
HBV 48					
HBV 49					
HBV 50					
HBV 51					
HBV 52					
HBV 53					

Taulukko 3. HBV-näytteiden Architect HBsAg primaariseulonta-, Architect HBcAb-, Architect HBsAb- ja ID-NAT -tulokset.

Sample	Architect HBsAg (S/CO) prim.				HBcAb (S/CO) conf.test interpret.	HBV conf.test final interpret.	HBsAb (IU/L) interpret.	HBV NAT (Tigris)
	result	rerun	rerun	interpret.				
HBV 1	2,27	2,22	2,34	reac.	nonreac.	no interpret.	-	negative
HBV 2	4618	4840	4695	reac.	reactive	positive	neg.	reactive
HBV 3	-	1,40	1,34	reac.	nonreac.	unclassified	neg.	negative
HBV 4	6,28	7,00	6,52	reac.	nonreac.	unclassified	neg.	negative
HBV 5	2,25	2,54	2,67	reac.	nonreac.	unclassified	pos.	negative
HBV 6	-	1,07	1,05	reac.	nonreac.	negative	neg.	negative
HBV 7	2,58	2,69	2,76	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 8	3,59	3,41	3,27	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 9	1,65	1,59	1,70	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 10	2,13	2,41	2,45	reac.	nonreac.	negative	-	negative

HBV 11	6,21	6,02	5,99	reac.	reactive	unclassified	neg.	negative
HBV 12	1,19	1,23	1,23	reac.	nonreac.	negative	neg.	negative
HBV 13	1,27	1,12	0,98	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 14	1,12	1,15	1,12	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 15	12,39	12,56	12,73	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 16	1,49	1,85	1,81	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 17	2,37	2,34	2,41	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 18	1,19	1,17	1,13	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 19	1,12	2,21	0,94	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 20	1,43	1,52	1,47	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 21	1,63	1,79	1,79	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 22	1,09	1,08	1,09	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 23	18,93	18,72	17,79	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 24	1,07	1,09	1,13	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 25	1,19	1,09	1,06	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 26	2,90	2,78	2,77	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 27	5,74	5,96	5,29	reac.	-	-	-	negative
HBV 28	4,43	4,59	4,69	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 29	1,38	1,36	1,39	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 30	1,52	1,56	1,50	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 31	1,36	1,33	1,28	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 32	2,36	2,57	2,49	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 33	3,25	3,14	3,18	reac.	nonreac.	negative	neg.	negative
HBV 34	3,43	3,37	3,38	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 35	1,88	1,99	2,02	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 36	2,27	2,50	2,52	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 37	2,20	2,12	2,17	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 38	1,29	1,48	1,53	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 39	1,12	1,92	1,96	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 40	4,63	4,61	4,59	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 41	1,86	1,81	1,76	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 42	4,03	3,74	4,20	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 43	1,05	1,12	1,11	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 44	1,95	1,88	1,94	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 45	1,19	1,30	1,21	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 46	1,81	1,83	1,88	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 47	1,34	1,46	1,48	reac.	nonreac.	negative	-	negative
HBV 48	37,5	33,4	33,4	reac.				
HBV 49	4881	4969	4976	reac.				
HBV 50	3319	3366	3394	reac.				
HBV 51	1220	1255	1250	reac.				
HBV 52	5227	5290	5298	reac.				
HBV 53	779	729	728	reac.				

HIV-näytteiden tulokset

Taulukossa 1 on taulukoituna HIV-näytteiden tyyppi sekä AxSYM- ja VIDAS-tulokset. Taulukossa 2 on taulukoituna HIV-näytteiden muiden vertailumenetelmien tulokset. BDS tarkoittaa verenluovuttajanäytettä (Blood Donor Sample) ja EQC tarkoittaa ulkoista laadunohjausnäytettä (External Quality Control).

Taulukko 1. HIV-näytteiden AxSYM- ja VIDAS-tulokset.

Samples	Sample kind	AxSYM (S/CO)		VIDAS HIVAb/Ag		
		result	interpret.	Ab result	Ag result	interpret.
HIV 1	BDS	0,60	negative	0,11	0,00	negative
HIV 2	BDS	0,36	negative	0,11	0,00	negative
HIV 3	BDS	0,67	negative	0,10	ND	negative
HIV 4	BDS	0,66	negative	0,10	ND	negative
HIV 5	BDS	0,45	negative	0,10	0,00	negative
HIV 6	BDS	0,36	negative	0,10	ND	negative
HIV 7	BDS	0,49	negative	0,10	0,00	negative
HIV 8	BDS	1,62	reactive	0,10	ND	negative
HIV 9	BDS	1,72	reactive	0,11	0,00	negative
HIV 10	BDS	0,43	negative	0,10	0,00	negative
HIV 11	BDS	0,50	negative	0,10	0,02	negative
HIV 12	BDS	15,11	reactive	1,97	ND	reactive
HIV 13	BDS	0,43	negative	0,11	ND	negative
HIV 14	BDS	0,41	negative	0,11	0,00	negative
HIV 15	BDS	0,43	negative	0,11	ND	negative
HIV 16	BDS	0,43	negative	0,10	0,00	negative
HIV 17	BDS	0,50	negative	0,11	0,00	negative
HIV 18	BDS	0,49	negative	0,10	ND	negative
HIV 19	BDS	0,57	negative	0,08	0,00	negative
HIV 20	BDS	0,46	negative	0,10	ND	negative
HIV 21	BDS			0,11	0,01	negative
HIV 22	BDS	2,27	reactive	0,14	0,00	negative
HIV 23	BDS	3,40	reactive	0,15	0,02	negative
HIV 24	BDS	14,11	reactive	0,10	ND	negative
HIV 25	BDS	2,11	reactive	0,10	0,00	negative
HIV 26	BDS	3,10	reactive	0,10	ND	negative
HIV 27	BDS	1,18	reactive	0,10	0,00	negative
HIV 28	BDS	2,54	reactive	0,10	0,00	negative
HIV 29	BDS	1,08	reactive	2,39	ND	reactive
HIV 30	BDS	3,38	reactive	0,10	0,00	negative
HIV 31	BDS	4,32	reactive	0,10	0,00	negative
HIV 32	BDS	1,95	reactive	0,11	0,00	negative
HIV 33	BDS	8,08	reactive	0,18	0,01	negative
HIV 34	BDS	1,64	reactive	0,10	0,00	negative
HIV 35	BDS	5,77	reactive	0,13	0,00	negative

HIV 36	BDS	3,33	reactive	0,09	0,00	negative
HIV 37	BDS	4,40	reactive	0,10	0,00	negative
HIV 38	BDS	3,56	reactive	0,10	0,00	negative
HIV 39	EQC	0,99	negative	0,10	0,09	negative
HIV 40	EQC	29,85	reactive	14,19	ND	reactive
HIV 41	EQC	0,55	negative	0,11	ND	negative
HIV 42	EQC	0,40	negative	0,10	0,01	negative
HIV 43	EQC			10,84	ND	reactive
HIV 44	EQC	0,40	negative	0,10	ND	negative
HIV 45	EQC	0,35	negative	0,10	0,00	negative
HIV 46	EQC	76,67	reactive	15,22	ND	reactive
HIV 47	EQC	34,79	reactive	13,87	ND	reactive
HIV 48	EQC	0,32	negative	0,11	0,00	negative
HIV 49	EQC	70,39	reactive	14,84	ND	reactive
HIV 50	EQC	0,38	negative	0,11	0,00	negative

Taulukko 18. HIV-näytteiden Architect HIV -primaariseulonta-, immunoblot- ja ID-NAT -tulokset.

Samples	Architect HIV (S/CO)				Inno-Lia - immunoblot conf.test	HIV NAT (Tigris)
	primary	1. rerun	2. rerun	interpret.		
HIV 1	3,50	3,29	3,48	reactive	-	negative
HIV 2	2,44	2,14	2,08	reactive	-	negative
HIV 3	2,02	2,31	2,37	reactive	-	negative
HIV 4	3,47	5,05	4,65	reactive	-	negative
HIV 5	6,03	6,64	5,97	reactive	-	negative
HIV 6	3,50	3,85	4,08	reactive	-	negative
HIV 7	1,40	1,32	1,40	reactive	-	negative
HIV 8	1,24	1,33	1,32	reactive	negative	negative
HIV 9	1,94	1,90	2,02	reactive	negative	negative
HIV 10	2,69	2,61	2,41	reactive	-	negative
HIV 11	15,38	15,21	15,37	reactive	-	negative
HIV 12	8,01	8,01	8,27	reactive	negative	negative
HIV 13	7,03	6,73	6,81	reactive	-	negative
HIV 14	1,36	1,46	1,51	reactive	-	negative
HIV 15	131,25	151,31	142,22	reactive	VIPO	negative
HIV 16	131,25	151,31	142,22	reactive	VIPO	negative
HIV 17	3,33	3,88	3,79	reactive	-	negative
HIV 18	2,52	2,88	3,02	reactive	-	negative
HIV 19	13,59	11,25	11,81	reactive	-	negative
HIV 20	2,98	2,98	2,92	reactive	-	negative
HIV 21	0,09			negative	-	negative
HIV 22	1,23	1,22	1,28	reactive	negative	negative
HIV 23	2,37	3,16	3,02	reactive	negative	negative
HIV 24	2,15	1,95	1,88	reactive	negative	-
HIV 25	1,25	1,53	1,55	reactive	negative	negative
HIV 26	1,70	1,81	1,79	reactive	negative	negative
HIV 27	1,41	1,73	1,80	reactive	negative	negative
HIV 28	1,47	1,15	1,42	reactive	negative	negative
HIV 29	1,76	1,89	1,76	reactive	negative	negative
HIV 30	1,21	1,25	1,36	reactive	negative	negative

HIV 31	1,80	1,81	1,86	reactive	negative	negative
HIV 32	1,05	1,21	1,26	reactive	VIPO	negative
HIV 33	1,67	1,18	1,38	reactive	negative	negative
HIV 34	1,24	1,31	1,75	reactive	VIPO	negative
HIV 35	1,21	1,02	1,08	reactive	negative	negative
HIV 36	1,78	1,12	1,09	reactive	negative	negative
HIV 37	1,40	1,29	1,23	reactive	negative	negative
HIV 38	3,26	3,28	3,40	reactive	negative	negative
HIV 39	2,06	1,80	1,94	reactive	negative	
HIV 40	515,99	514,05	517,14	reactive	positive	
HIV 41	0,13			negative	negative	
HIV 42	0,14			negative	negative	
HIV 43	150,03	147,05	153,91	reactive	positive	
HIV 44	0,45			negative	negative	
HIV 45	0,28			negative	negative	
HIV 46	130,66			reactive	positive	
HIV 47	547,41			reactive	positive	
HIV 48	0,10			negative	negative	
HIV 49	954,65	979,50	987,03	reactive	positive	
HIV 50	0,07			negative		

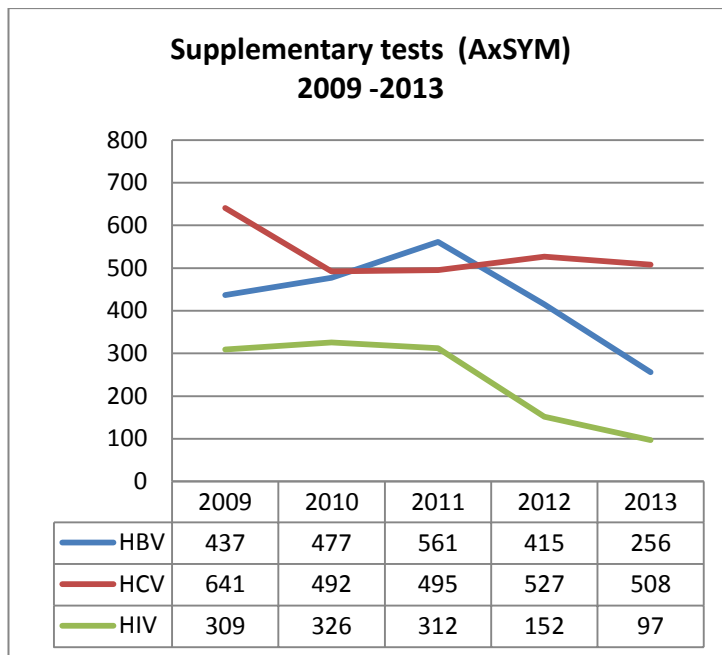
Tutkimusraportti

Englanninkielinen Veripalvelun laatuvaatimusten mukainen asiantuntija Susanna Wessbergin hyväksymä tutkimusraportti. Laatinut Heikki Nuutinen.

Tutkimusraportti on tarkoitettu ainoastaan SPR Veripalvelun sisäiseen käyttöön.

AxSYM-jatkotutkimukset 2009 - 2013

AxSYM-jatkotutkimusten määrä vuosina 2009 - 2013. Lähde: SPR Veripalvelu.



Varmistustestit 2009 - 2013

Varmistustestien määrä vuosina 2009 - 2013. Lähde: SPR Veripalvelu

