



## LIAISON® ACTH (313221) АКТГ

### 1. Назначение

Количественное определение адренокортикотропного гормона в человеческой плазме с ЭДТА (после замораживания) методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIAISON® с целью выявления нарушения функций надпочечников.

### 2. Введение

Адренокортикотропный гормон (АКТГ), или кортикотропин, – короткий пептид длиной в 39 аминокислотных остатков, секретируемый передней долей гипофиза.

Его функция заключается в стимуляции секреции глюкокортикоидов, таких как кортизол, корой надпочечников, а также, в меньшей степени, в контроле секреции альдостерона, другого стероидного гормона, секретируемого корой надпочечников.

Секреция АКТГ гипофизом регулируется с помощью кортикотропин-рилизинг гормона (КРГ) гипоталамуса, пептида длиной в 41 аминокислотный остаток, высвобождаемого в ответ на боль, страх или стресс. Секреция КРГ, в свою очередь, подавляется глюкокортикоидами по классическому механизму отрицательной обратной связи. Аналогичным образом кортизол влияет и на секрецию АКТГ.

Секреция кортикотропина также подчиняется циркадному ритму, что, в свою очередь, обусловлено воздействием нескольких факторов, в том числе и света. К патологическим состояниям, сопровождающимся изменениями нормального суточного ритма секреции АКТГ, относятся синдром Кушинга и эктопическая секреция АКТГ, а также физиологический стресс и хирургическое вмешательство. Секреция АКТГ начинает возрастать во время сна через 3-5 часов после засыпания и остается на максимальном уровне до пробуждения и через 1 час после пробуждения. В связи с суточными колебаниями концентрации АКТГ забор плазмы необходимо производить между 8 и 10 часами утра. Синдром Кушинга характеризуется отсутствием суточного ритма секреции АКТГ, для дифференциации больных и здоровых людей необходимо производить определение АКТГ в вечерних пробах (с 22 до 24 часов).

В гипофизе АКТГ продуцируется в процессе, в котором образуются некоторые другие гормоны. Предшественник АКТГ, большой белок, называемый проопиомеланокортином, синтезируется и протеолитически расщепляется на фрагменты, в число которых входит липотропин (предшественник бета-эндорфина и мет-энкефалина) и меланоцитостимулирующий гормон.

Определение АКТГ в плазме полезно в целях диагностики нарушений функций гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы.

Повышение концентрации АКТГ	Понижение концентрации АКТГ
Дифференциальная диагностика гипофизарной болезни Кушинга (вторичный гиперкортизолизм)	Аденома надпочечников (первичный синдром Кушинга)
Болезнь Аддисона (гипокортизолизм)	Вторичная недостаточность надпочечников
Автономные АКТГ-продуцирующие опухоли (эктопический АКТГ-синдром)	

Самым распространенным нарушением функций организма с участием глюкокортикоидов является вторичный синдром Кушинга, или гипернадпочечниковый синдром, при котором повышается концентрация АКТГ. Наиболее частыми причинами синдрома Кушинга, когда исключено введение глюкокортикоидов в терапевтических целях, являются билатеральная гиперплазия надпочечников (как следствие гиперсекреции АКТГ гипофизом, называемой болезнью Кушинга), аденома надпочечников или кортикотропная гиперплазия.

Лабораторная диагностика болезни Кушинга заключается в проведении стимулирующих и подавляющих тестов, таких как введение высоких доз дексаметазона (подавление секреции АКТГ и кортизола), введение низких доз дексаметазона, повышенная секреция кортизола в ответ на введение метирапона и нормальная/повышенная концентрация АКТГ.

Другое нарушение функций организма, сопровождающееся повышением концентрации АКТГ, называется синдромом Нельсона; это редкое состояние, встречающееся у 15-25% пациентов, подвергнутых операции удаления надпочечников в результате болезни Кушинга. Оно характеризуется аномальной секрецией гормона, увеличением размеров гипофиза и развитием больших и инвазивных аденом.

Помимо состояний, вызванных гиперфункцией коры надпочечников, уровень АКТГ может изменяться как следствие недостаточности надпочечников (гипокортизолизм). В этих случаях само по себе определение концентрации кортизола недостаточно для дифференциации первичных причин недостаточности надпочечников (вследствие болезни Аддисона) от вторичных. Определение АКТГ в этих случаях помогает правильно определить тип болезни.

Заболевание	Концентрация кортизола	Концентрация АКТГ
Болезнь Кушинга (АКТГ-продуцирующая опухоль гипофиза)	высокая	высокая
«Эктопический» АКТГ-синдром (АКТГ синтезируется опухолью вне гипофиза)	высокая	высокая
Опухоль надпочечников	высокая	низкая
Болезнь Аддисона (повреждение надпочечников)	низкая	высокая
Гипопитуитаризм	низкая	низкая

### 3. Принцип метода

Метод количественного определения АКТГ (1-39) представляет собой 1-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) по принципу сэндвича. Специфические мышинные моноклональные антитела к АКТГ (к N-концевому участку молекулы АКТГ) связаны с магнитными микрочастицами, другие мышинные моноклональные антитела к АКТГ (к C-концевому участку молекулы АКТГ) мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время инкубации молекулы АКТГ (1-39), присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, связываются с антителами твердой фазы и, затем, с антителами, меченными изолюминолом. Сэндвич образуется только при наличии в пробе молекул АКТГ. После инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию АКТГ в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

### 4. Состав набора

#### 1. Картридж реактивов

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые мышинными моноклональными антителами к АКТГ, стабилизированные в буфере с БСА; азид натрия.
Конъюгат (23 мл)	Мышинные моноклональные антитела к АКТГ, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолюминолом); TRIS-буфер; БСА; мышинные IgG; азид натрия.
Количество определений	100

Все реагенты готовы к использованию. Порядок расположения реактивов в таблице отражает их расположение в картридже реактивов.

#### 2. Набор также содержит калибраторы

Калибратор 1 (3 x 1,5 мл)	Лиофилизированный порошок человеческого сывороточного альбумина, содержащего низкую концентрацию АКТГ человека; азид натрия.
Калибратор 2 (3 x 1,5 мл)	Лиофилизированный порошок человеческого сывороточного альбумина, содержащего низкую концентрацию АКТГ человека; азид натрия.

## Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
Кюветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200).  Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025)	Реакционные модули (каталожный номер 319130).  Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 310990).

### Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

LIAISON® АКТГ контроль (кат.№ 319132)

LIAISON® Дилуэнт для эндокринологических проб (кат.№ 319133)

## 5. Предупреждение

Только для *In vitro* диагностики.

Все образцы человеческой сыворотки/плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, а также HBs-антигена и были признаны отрицательно реагирующими в вышеуказанных тестах. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с набором, как с потенциально инфекционным.

## 6. Меры предосторожности

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику в лаборатории, где проводятся анализы.

Не пипетируйте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая защитную одежду, такую как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. В конце каждого анализа тщательно мойте руки.

Избегайте всплесков или образования аэрозолей. Любую утечку биологического реагента следует смыть с помощью раствора гипохлорита натрия с 0,5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в анализе, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты. С отходами следует обращаться с осторожностью и утилизировать их в соответствии с лабораторными нормами и нормами законов, действующими в стране. Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и нормами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Реагенты, содержащие азид натрия (<0,1 %) [ЕС №247-852-1]:

<b>DIRECTIVE</b>	<b>EC No. 1272/2008</b>
<b>HAZARD / RISK STATEMENTS</b>	<b>EUH 210 - Safety data sheet available on request</b>

## 7. Подготовка интегрального картриджа реактивов.

### 7.1 Интегральный картридж реактивов.

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

**Вспенивание реагентов**

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов.

Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

Установка интеграла в область загрузки реактивов Анализатор LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.

- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.

б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.

- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

## 7.2 Калибраторы

LIAISON® АКТГ калибраторы поставляются лиофилизированными.

Восстановите каждый флакон с 1,5 мл деионизированной или дистиллированной воды. Закройте флакон с резиновой пробкой, затем дважды осторожно переверните флакон, чтобы полностью восстановить лиофилизат. Избегайте образования пены. Не вихревые.

Дайте флаконам отстояться в течение 15 минут при температуре примерно 18-25 ° C для достижения полного растворения.

Назначенные значения калибратора для разных типов анализаторов LIAISON® могут отличаться.

При необходимости, алиquotируйте калибраторы, как указано в параграфе 8, и маркируйте пробирки прилагаемыми маленькими белыми метками.

## 7.3. Контроли

Обратитесь к инструкции по использованию контроля LIAISON® АСТН для правильной подготовки и обработки.

## 8. Хранение и стабильность интегрального картриджа реактивов

### 8.1. Интегральный реагент

**Не открытый:** стабильный при 2-8 ° C до истечения срока годности.

**Открытый:** на борту или при 2-8 ° C: стабильность 2 недели (см. §12)

После этого периода все еще можно продолжать использовать интеграл реагентов при условии, что контроли находятся в ожидаемых диапазонах.

Всегда используйте один и тот же анализатор LIAISON® для уже открытого интеграла реагента.

Не замораживать.

Хранить в вертикальном положении для хранения, чтобы облегчить последующее надлежащее ресуспендирование магнитных частиц.

Используйте стеллаж для хранения, поставляемый с семейством анализаторов LIAISON®, для правильного хранения интегрального реагента.

Хранить вдали от прямого света.

### 8.2. Калибраторы

**Лиофилизированный:** Стабилен при 2-8 ° C до истечения срока годности.

**Восстановленный:** Стабильный в течение 1 дня при правильном хранении при 2-8 ° C.

**Замороженные:** алиquotы могут храниться при -20 ° C до 1 месяца.

Молекула АСТН обладает ограниченной устойчивостью к тепловому стрессу в жидких растворах: не оставляйте восстановленные калибраторы при комнатной температуре дольше, чем время, необходимое для их обработки на

семействе анализаторов LIAISON®.

Сразу после полного восстановления калибраторы должны быть либо испытаны, либо аликвотированы для более длительного хранения. Аликвотируйте калибраторы в пластиковых или силиконизированных стеклянных пробирках и подвергайте их глубокой заморозке. После оттаивания калибраторы должны быть использованы в тот же день. Минимальный объем аликвоты составляет 600 мкл (калибратор 450 мкл + мертвый объем 150 мкл).

Для каждой аликвоты разрешен только 1 цикл замораживания и оттаивания.

Во время обработки соблюдайте соответствующие меры предосторожности, чтобы избежать бактериального загрязнения калибраторов.

### **9. Подготовка исследуемого материала**

**Молекула АКТГ в пробе быстро деградирует; при обращении с пробой следует тщательно придерживаться нижеприведенных рекомендаций.**

Единственный тип пробы, который может быть исследован с помощью данного набора, – плазма с ЭДТА после замораживания.

Кровь должна быть отобрана в силиконизированные стеклянные пробирки, вакутейнеры с фиолетовой крышкой или эквивалентные пробирки, содержащие ЭДТА в качестве антикоагулянта. Избегайте гемолиза. Немедленно после забора крови поместите пробирки в ледяную баню и храните на холоду.

Отцентрифугируйте содержимое пробирок не позднее, чем через 120 минут после забора, используя охлаждаемую центрифугу, после чего заморозьте аликвоты в пластиковых силиконизированных стеклянных пробирках при температуре -20°C и ниже. Минимальный объем аликвоты 300 мкл.

Перед исследованием аккуратно разморозьте содержимое пробирок, перемешайте и удалите пузыри с поверхности, если они есть. После размораживания пробы должны храниться при температуре 2-8°C не более 6 часов.

Не рекомендуется исследовать сильно гемолизованные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации.

Избегайте повторного замораживания пробы. Остатки проб после исследования необходимо утилизировать.

Минимально необходимый объем 300 мкл (150 мкл на исследование + 150 мкл мертвый объем).

### **10. Калибровка**

Исследование калибраторов, входящих в состав набора, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки калибраторов.

**Калибраторы должны использоваться только с соответствующей партией реагентов. Не используйте калибраторы, совмещенные с другой серией реагентов в одном и том же анализе. Для правильного соответствия партии номер партии калибратора также напечатан на встроенной этикетке реагента.**

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 1 недели с момента последней калибровки.
- Используется новый интеграл.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

LIAISON®: информация о концентрации калибраторов – на внутреннем штрих-коде.

LIAISON®XL: информация о концентрации калибраторов – на радиочастотном чипе.

### **11. Подготовка и хранение калибраторов**

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

**Анализатор LIAISON®.** Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации с штрих-кода не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

**Анализатор LIAISON® XL.** Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.

2. Добавление магнитных частиц и конъюгата
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

## 12. Контроль качества

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль производства компании DiaSorin или другой коммерческий контроль:

- а. по меньшей мере 1 раз в день перед постановкой проб пациентов
- б. каждый раз при использовании нового реагентного картриджа
- в. Каждый раз после калибровки набора
- г. каждый раз при использовании нового лота Starter Kit
- д. для того, чтобы оценить адекватность работы открытого интеграла через 3 недели в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций.

Контроли LIAISON® следует ставить в 1 повторности для контроля эффективности анализа. Контрольные значения должны лежать в пределах ожидаемого диапазона: всякий раз, когда один или оба контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, следует провести калибровку и повторить тестирование контроля. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, повторно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, тестирование следует повторить с использованием неоткрытого контрольного флакона.

Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты не должны сообщаться пациенту. Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным анализом перед их использованием. Затем следует установить соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

## 13. Интерпретация результатов

Анализатор автоматически рассчитывает концентрации АКТГ (адренокортикотропного гормона) для неизвестных образцов, выраженных в пг/мл. Для получения подробной информации обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

Калибраторы и контроли могут давать различные относительные световые единицы или результаты по дозам на анализаторах LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты для пациентов являются эквивалентными.

**13.1. Диапазон количественного анализа.** Анализатор напрямую рассчитывает концентрации АКТГ до 1500 пг/мл.

Переводный коэффициент:

пг/мл	x	0.2202	=	0.2202	пмоль/л
пг/мл	x	4.5413	=	4.5413	пг/мл

## 13.2. Основной диапазон нормальных значений:

Для оценки диапазона нормальных значений АКТГ тест-набора LIAISON® АСТН было проведено клиническое исследование на 589 образцах, планомерно собранных у субъектов европейского происхождения и отправленных в лабораторию для тестирования АКТГ. Субъекты (мужчины = 270, женщины = 313, неизвестные = 6) были классифицированы как физически здоровые при тестировании эталонным методом.

Исследование дало среднее значение 16.3 пг/мл и основные значения АКТГ в диапазоне от 4,7 до 48,8 пг/мл (5<sup>-й</sup> и 95<sup>-й</sup> процентиля соответственно). Каждая лаборатория должна установить свой собственный основной диапазон нормальных значений.

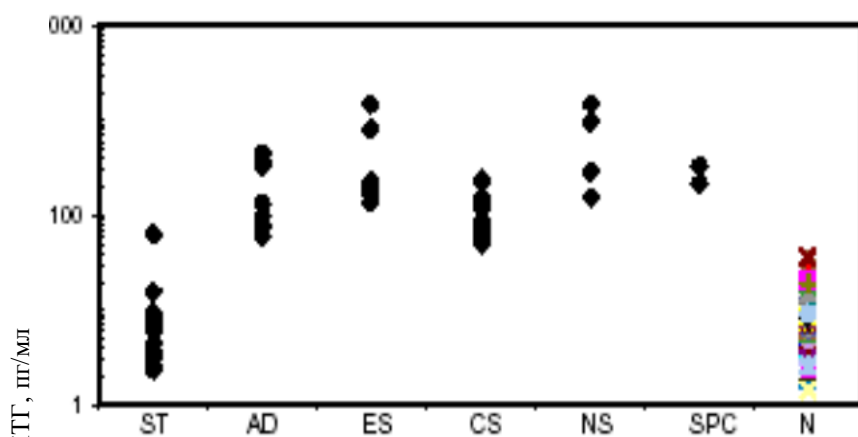
**Клинические образцы:** было также проведено клиническое исследование на 51 патологическом образце. Статистический анализ нормальных и патологических образцов приведен в следующей таблице. Корреляция клинических уровней, полученных в общей сложности от 640 образцов, взятых у физически здоровых субъектов и пациентов с гипотизарно-надпочечниковыми заболеваниями, показана на следующем графике.

Клинические условия	n*	Среднее знач. пг/мл	S.D.** пг/мл	2.5 <sup>-й</sup> процентиль пг/мл	Среднее 50 <sup>-й</sup> Процентиль пг/мл	97.5 <sup>-й</sup> процентиль пг/мл	Миним. знач. пг/мл	Максим.зн ач. пг/мл
Дексаметазоновый тест на супрессию (ST)	15	10.3	15.0	2.5	6.7	46.6	2.4	63.0

Аддисонова болезнь (AD)	9	219.1	157.3	62.8	134.3	437.0	59.4	450.0
Этопический АКТГ-синдром (ES)	8	424.6	489.9	143.7	187.7	1381.0	139.0	1500.0
Синдром Иценко-Кушинга (CS)	12	116.8	64.7	52.0	103.1	236.1	50.0	240.0
Синдром Нельсона (NS)	4	729.8	625.9	165.2	632.1	1460.0	155.0	1500.0
Катеризация каменистого синуса (SPC)	3	298.1	67.7	225.9	337.1	337.3	220.0	337.0
Физически здоровые субъекты (N)	589	16.3	14.6	3.6	16.3	60.5	1.4	106.1

n\* - количество определений

S.D.\*\* - стандартное отклонение



относительно расшифровки аббревиатур (ST, AD, ES, CS, NS, SPC и N) см. таблицу выше.

#### 14. Ограничения процедуры

Реагенты следует использовать только на анализаторах семейства LIAISON®.

Отдельные компоненты набора реагентов нельзя доставать из набора.

Этот набор нельзя использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке упаковки.

Для получения надежных результатов необходимы профессиональная техника выполнения и строгое соблюдение инструкций.

Бактериальное загрязнение или тепловая инактивация образцов могут повлиять на результаты испытаний.

Результат непатологического образца не всегда исключает наличие дисфункции надпочечников и должен интерпретироваться вместе с другими диагностическими процедурами.

Результаты теста сообщаются количественным образом. Тем не менее, диагноз заболевания надпочечников не должен быть установлен на основе одного результата тестирования, а должен быть определен в сочетании с клиническими данными и в связи с медицинским заключением. Любое терапевтическое решение также должно приниматься с учетом специфики каждого конкретного случая.

Анализ для определения АКТГ в тест-наборе LIAISON®ACTH был разработан для определения анализируемого вещества в его неповрежденном и неизменном состоянии. Разложение молекулы на фрагменты может изменить характеристики связывания антитела и повлиять на конечные результаты. Такие образцы могут демонстрировать противоречивые результаты между различными анализами, поскольку влияние таких измененных состояний является специфическим для каждого определенного используемого реагента антитела.

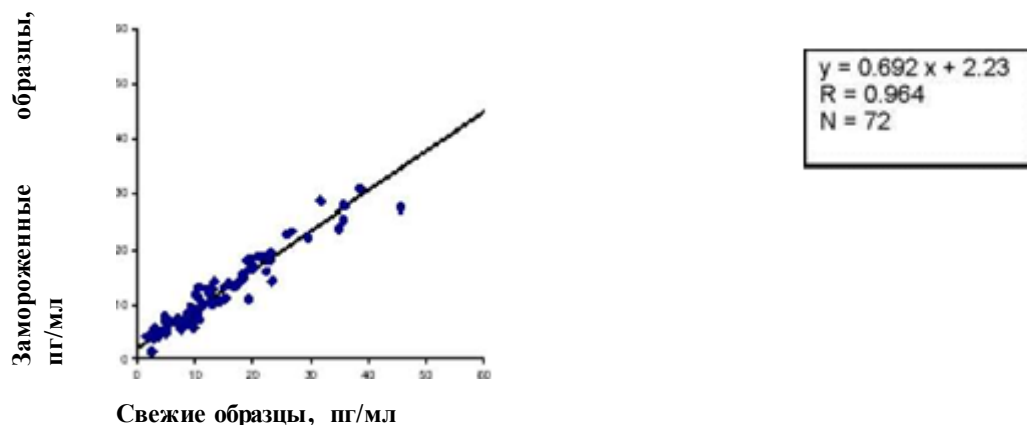
Несмотря на то, что добавляются нейтрализующие НАМА агенты, чрезвычайно высокие концентрации НАМА (человеческие антимышьиные антитела) могут иногда влиять на результаты.

Образцы с уровнями АКТГ выше диапазона анализа могут быть предварительно разбавлены эндокринологическим разбавителем LIAISON® (Кат. № 319133).

Не допускается использование наборов в разных типах анализаторов (LIAISON® и LIAISON® XL). Как только набор загружен в определенный тип анализатора, он должен использоваться в этом анализаторе все время до конца его использования. Из-за проблем прослеживаемости, вытекающих из вышеприведенного утверждения, может оказаться невозможным дать заключения при обследованиях пациентов при использовании различных типов анализаторов. Все исследования должны быть выполнены на одном отдельном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

## Предупреждение:

Анализ был разработан для тестирования замороженных ЭДТА-образцов, поэтому основной диапазон нормальных значений, и все предоставленные рабочие характеристики были получены при работе с замороженными ЭДТА-образцами плазмы. В случае использования свежих образцов каждая лаборатория должна установить собственный диапазон ожидаемых значений. В качестве примера мы сообщаем об обнаруживаемой корреляции между свежими и замороженными образцами, полученной с помощью исследования методом тест-набора LIAISON®ACTH, в котором был установлен основной диапазон нормальных значений (см. пункт «Интерпретация результатов»).



Образцы крови хранили охлажденными до 15 минут.

Клинические образцы с очень высокими уровнями АКТГ, выше 20 000 пг/мл, не тестировались. В указанной литературе сообщаются (1) случаи синдрома Нельсона с чрезвычайно высокой концентрацией АКТГ, превышающей 20 000 пг/мл. Если есть подозрение на такую патологию, необходимо внимательно оценить значения, обнаруженные в пределах диапазона анализа, чтобы исключить эффект насыщения высокой дозой (см. § 15.4), и следует провести повторное тестирование после разбавления образца.

## 15. Специфические рабочие характеристики

### 15.1. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность может определяться, как способность анализа точно обнаруживать определенное анализируемое вещество в присутствии потенциальных помех в матрице образца (например, гемолиз, липемия, билирубинемия).

### 15.2. Помехи

Контролируемые изучения потенциально мешающих веществ или состояний показали, что на результаты анализа не повлияли концентрации билирубина 0.1 мг/мл, гемоглобина <500 мг/дл или триглицеридов <30 мг/мл.

### 15.3. Перекрестные реакции

Присутствие следующих потенциально перекрестно-реактивных молекул в анализе не показало никакого влияния на результаты анализа.

Состав	Добавленное количество, пг/мл	% перекрестной реактивности
АКТГ (1-10)	250,000	необнаруживаемый
АКТГ (1-24)	1,400	0.034
АКТГ (18-39)	1,600	0.2
АКТГ (11-24)	9,800	0.03
Альфа-МСГ	3,000	0.04
Бета-МСГ	2,450	0.06
Бета-Эндорфин	49,000	0.01
Соматостатин	9,800	0.09
Нейротензин	9,800	< 0.01
Энкефалин	9,800	< 0.01

### 15.4. Точность анализатора LIAISON®

Различные образцы, содержащие различные концентрации АКТГ, были проверены методом количественного анализа для оценки повторяемости и воспроизводимости метода (то есть, вариативности результатов внутри анализа и между анализами).



**Повторяемость (вариативность результатов внутри анализа).** В одном прогоне исследовали сорок повторений для оценки повторяемости.

**Воспроизводимость (вариативность результатов разных анализов).** Для оценки воспроизводимости двадцать повторений проверяли в разные дни на двух различных партиях наборов реагентов.

Вариативность результатов внутри одного анализа			Вариативность результатов разных анализов		
Среднее значение (пг/мл)	Коэффициент вариации (%)	n*	Среднее значение (пг/мл)	Коэффициент вариации (%)	n*
20.4	4.9	40	46.3	8.9	20
70.2	2.6	40	262.8	5.5	20
396.7	2.7	40	880.1	7.9	20

n\* - количество определений

#### 15.5. Точность анализатора LIAISON® XL

Различные образцы, содержащие различные концентрации АКТГ были проверены методом количественного анализа для оценки повторяемости и воспроизводимости метода (то есть, вариативности результатов внутри анализа и между анализами).

**Повторяемость (вариативность результатов внутри анализа).** В одном прогоне исследовали двадцать повторений для оценки повторяемости.

**Воспроизводимость (вариативность результатов разных анализов).** Для оценки воспроизводимости двадцать повторений проверяли за 10 различные дни.

Вариативность результатов внутри одного анализа			Вариативность результатов разных анализов		
Среднее значение (пг/мл)	Коэффициент вариации (%)	n*	Среднее значение (пг/мл)	Коэффициент вариации (%)	n*
33.7	4.3	20	23.6	5.5	20
56.8	2.4	20	57.2	3.2	20
317.2	2.7	20	255.2	2.6	20

n\* - количество определений

#### 15.6. Достоверность анализа

Достоверность анализа была проверена тестами на разбавление и восстановление.

#### 15.7. Тест на разбавление

Образцы плазмы, содержащие высокие концентрации АКТГ, были протестированы как таковые и после последовательного разбавления разбавителем образца. Измеренные концентрации АКТГ по сравнению с ожидаемыми концентрациями были проанализированы с помощью линейной регрессии. Коэффициенты корреляции (r) варьировались от 0.993 до 1.000.

Разбавление	Ожидаемое значение, (пг/мл)	Измеренное значение, (пг/мл)	% восстановления
1:2	180.0	168.1	107
1:4	87.2	84.0	104
1:8	46.3	42.0	110
1:16	23.9	21.0	114

#### 15.8. Тест на восстановление

Образцы плазмы с добавлением АКТГ были протестированы для оценки восстановления анализа LIAISON® ACTH. Исходная концентрация **образца 1:** 6.76 пг/мл и **образца 2:** 60.73 пг/мл.

Образец 1			Образец 2		
Ожидаемое значение, (пг/мл)	Измеренное значение, (пг/мл)	% восстановления	Ожидаемое значение, (пг/мл)	Измеренное значение, (пг/мл)	% восстановления
123.60	119.00	104	336.9	318.9	106
95.86	96.55	99	291.7	267.3	109

76.68	74.10	103	233.0	215.6	108
49.48	51.66	96	173.7	164.0	106
27.07	29.20	93	115.8	112.4	103

### 15.9. Эффект насыщения высокой дозой

Эффект насыщения высокой дозой определяли путем добавления рекомбинантного АКТГ в накопители с человеческой плазмой до максимальной величины 155 000 пг/мл.

Всякий раз, когда тестируются образцы, содержащие чрезвычайно высокие концентрации анализируемого вещества, эффект насыщения может привести к концентрациям, которые будут ниже, чем реальные. Анализ эффекта насыщения был проведен путем тестирования образца с добавлением к нему 5-ти кратных концентраций АКТГ. Все образцы дали значения концентрации выше диапазона анализа, что указывает на отсутствие ошибочной классификации образцов.

### 15.10. Аналитическая и функциональная чувствительность

#### Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность определяется как минимальная обнаруживаемая доза, которую можно отличить от нуля посредством 2 стандартных отклонений.

#### Функциональная чувствительность

Функциональная чувствительность, определяемая как самая низкая концентрация аналита, которую можно определить с помощью коэффициента вариации между анализами, ( $CV < 20\%$ ).

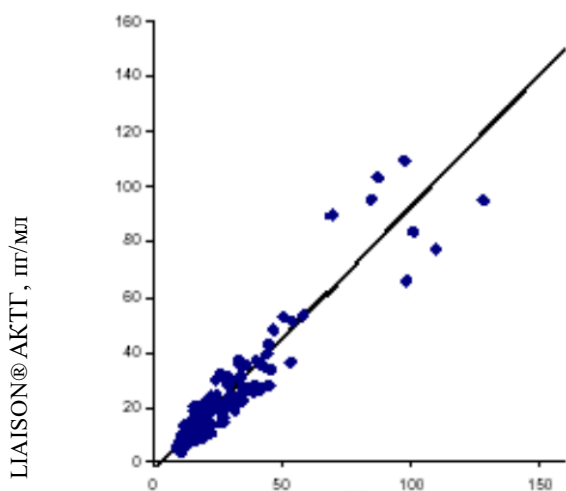
	Аналитическая чувствительность	Функциональная чувствительность
Анализатор семейства LIAISON®	1.6 пг/мл	3.8 пг/мл

### 15.11. Точность

Точность анализа LIAISON® АСТН оценивалась по главному неизотопному методу, выбранному в качестве «истинного» эталона на 118 образцах, и была получена следующая корреляция:

$LIAISON® АСТН = 0.894 \times \text{неизотопный метод определения АКТГ} - 1,32$  с коэффициентом корреляции  $r = 0.935$ .

Номинальные значения калибраторов тест-набора LIAISON® АСТН предназначены для отражения точных данных. Чтобы привести значения калибраторов к международному стандарту ВОЗ 74/555, необходимо использовать коэффициент умножения 1.85.



Неизотопный метод на определение АКТГ, пг/мл

## 16. БИБЛИОГРАФИЯ

1. Williams, Textbook of Endocrinology, 9th Edition, Saunders
2. Harrison's Principle of Internal Medicine, XXth Edition
3. Reader, S.C.J., Alaghband-Zadeh, R. Daly and W.R. Robertson, Journal of Endocrinology, 92:443 (1982)
4. Krieger, D.T., The Medical Clinics of North America, 62:251 (1978)
5. Odell, W.D., et al., The Use of ACTH and Cortisol Assays in the Diagnosis of Endocrine Disorders