



ЛИАЗОН Анти-ТПО (LIAISON® Anti-TPO) (REF 311701)

1. ПРЕДПОЛАГАЕМОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

В лабораторном анализе ин-витро для количественного определения аутоиммунных антител к тиреоидной пероксидазе (ТПО) в сыворотке человека, а также в ЭДТА-цитратной и гепаринизированной плазме человека. Тест должен выполняться на анализаторе семейства LIAISON®.

2. РЕЗЮМЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ ТЕСТА

С 1980-х гг. стало известно, что тиреоидная пероксидаза (ТПО) идентична микросомальному антигену, по отношению к внеклеточной части которого направлены аутоиммунные антитела, присутствующие при аутоиммунном заболевании щитовидной железы (3). Тиреоидная пероксидаза - гемопротейн, присутствующий в апикальной клеточной мембране клеток щитовидной железы, имеет молекулярный вес 103 000 D и катализирует йодирование тироглобулина (1). Аутоиммунные антитела к ТПО преобладают у почти 90% пациентов с хроническими аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы и у 70% пациентов с базедовой болезнью (5, 7).

Независимо от аутоиммунного заболевания щитовидной железы антитела к ТПО обнаруживаются у женщин старше 60 лет, а также у беременных и после родов (2,4,6).

Антитела к ТПО также находят при некоторых других аутоиммунных расстройствах, как, например, сахарный диабет I типа или системная красная волчанка. Применение рекомбинантного антигена для покрытия твердой фазы (микрочастиц) обеспечивает высокую диагностическую специфичность и чувствительность данного анализа.

3. ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Методом количественного определения анти-ТПО является сэндвич иммунохемилюминесцентный анализ.

Рекомбинантная ТПО наносится на магнитные частицы (твердая фаза); Антитела к человеческому IgG связываются с производным изолюминола (изолюминол-конъюгат антитела).

Образцы предварительно разбавляются анализатором. При первой инкубации ТПО на магнитных частицах связывается с антителами к ТПО.

После инкубации несвязанный материал удаляется во время цикла промывки.

В ходе второй инкубации антитела к человеческому IgG связываются с комплексом ТПО/анти-ТПО.

После инкубации несвязанный материал удаляется во время цикла промывки.

Впоследствии добавляются начальные реагенты, и таким образом, индуцируется реакция флэш-хемилюминесценции. Световой сигнал, а, следовательно, объем изолюминол-конъюгат антитела, измеряется фотоумножителем в качестве относительной световой единицей и определяется концентрация анти-ТПО в калибраторах, образцах или контролях.

4. СОСТАВ НАБОРА

Порядок реагентов отражает схему контейнеров в реагентном картридже

Интеграл реагента для 100 определений

2,3 мл SORB	Твердая фаза: содержит магнитные частицы, покрытые ТПО (рекомбинантной), БСА, 0,09% азида натрия.
1,0 мл CAL 1	Калибратор 1, низкий: содержит смешанную сыворотку человека с антителами к ТПО, БСА, 0,09% азида натрия.
1,0 мл CAL 2	Калибратор 2, высокий: содержит смешанную сыворотку с антителами к ТПО высокого титра, БСА, 0,09% азида натрия.
28,0 мл BUF A	Буфер А: содержит БСА, 0,09% азида натрия.
28,0 мл DIL SPE	Разбавитель образца: содержит БСА, 0,09% азида натрия.
11,5 мл CONJ	Конъюгат: содержит поликлональные античеловеческие антитела IgG (козы), меченные изолюминолом, БСА, 0,09% азида натрия.

Все реагенты предоставляются в готовом к использованию виде.

Материалы необходимые, но не предоставленные (связанные с системой).

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
LIAISON® Жидкость промывки системы (REF 319100) LIAISON® XL Мешки для отходов (REF X0025) LIAISON® XL Кюветы (REF X0016) LIAISON® XL Стартерный набор (REF 319200)	LIAISON® Жидкость промывки системы (REF 319100) LIAISON® Мешки для отходов (REF 450003) LIAISON® Модуль (REF 319130) LIAISON® XL Стартерный набор (REF 319102) или LIAISON® XL Стартерный набор (REF 319200) LIAISON® Набор для очистки (REF 310990) LIAISON® Реагент для контроля системы (REF 319150)
LIAISON® XL Одноразовые наконечники (REF X0015)	

Дополнительные требуемые материалы
LIAISON® Контроль Анти-ТПО (REF 319106)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Все материалы человеческого происхождения, используемые для производства компонентов, представленных в данном наборе, тестировались на присутствие HBsAG, антитела к ВГС, антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и признаны нереактивными. Однако, так как ни один метод тестирования не может абсолютно точно гарантировать отсутствие патогенов, все образцы человеческого происхождения должны считаться потенциально инфекционными, и с ними следует обращаться осторожно.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во время анализа не ешьте, не пейте, не курите и не пользуйтесь косметикой.

Не производите пипетирование ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая лабораторную одежду, защитные очки и одноразовые перчатки. После окончания каждого анализа тщательно вымойте руки.

Избегайте разбрызгивания или образование аэрозоли. Любые капли биологического реагента должны удаляться с помощью раствора гипохлорита натрия с 0,5% активного хлора, а с используемыми средствами необходимо обращаться как с инфицированными отходами.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические реагенты, используемые для анализа, должны считаться потенциально способными переносить инфекционные агенты; с отходами необходимо обращаться осторожно, и утилизировать их необходимо в соответствии с лабораторными требованиями и действующими в каждой стране уставными положениями. Любые повторно используемые материалы должны соответственно стерилизоваться в соответствии с местными законами и нормами. Проверьте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Не применяйте наборы или компоненты после истечения срока годности, указанного на ярлыке.

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

ДИРЕКТИВА №	ЕС № 1272/2008
ВРЕД / РИСК	ЕУН 210 – Паспорт безопасности предоставляется по запросу

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

7.1. Реагент:

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

перемешает 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 перемешает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.

Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

7.2. КОНТРОЛЬ

Инструкции по правильному приготовлению и уходу см. в инструкции LIAISON® Control Anti-TPO.

8. ХРАНЕНИЕ И УСТОЙЧИВОСТЬ РЕАГЕНТА

8.1. Интеграл реагента

В закрытом состоянии: устойчив при 2-8°C до истечения срока годности.

Открытый или при 2-8°C: устойчив в течение 14 дней (см. § 12).

После этого можно продолжать использовать интеграл реагента при условии, что средства контроля находятся в ожидаемом диапазоне.

Для уже открытого интеграла реагента всегда используйте один и тот же анализатор LIAISON®.

Храните в прямом положении для хранения, чтобы облегчить позднее правильное ресуспензирование магнитных частиц.

Используйте стеллаж для хранения, поставляемый вместе с семейством анализатора LIAISON® для хранения интеграла реагента в прямом положении.

Беречь от прямого солнечного света.

9. СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Соберите образцы с помощью стандартных процедур.

Материал образца: сыворотка, плазма (ЭДТА-цитратная и гепаринизированная).

Если тест не выполняется в день сбора образца, сыворотку/плазму следует отделять от осадка и хранить в отдельной пробирке.

Хранить при температуре 2-8°C в течение 24 часов.

Хранящиеся образцы перед применением следует тщательно перемешать (Вортекс-миксер).

Сильно гемолизированные или липемические образцы, а также образцы, содержащие частицы или проявляющие признаки очевидного микробного загрязнения не следует тестировать.

Не используйте свернувшиеся образцы.

Минимальный объем, требуемый для одного определения, составляет 160 мкл образца (10 мкл образца + 150 мкл мертвого объема).

10. КАЛИБРОВКА

Тест определенных калибраторов для анализа позволяет обнаруженным значениям относительной световой единицы регулировать выбранную референсную калибровочную кривую. Можно проводить до 5 калибровок (всего).

Тройная повторная калибровка является обязательной, когда отмечается хотя бы одно из трех следующих условий:

- Применяется новая партия интеграла реагента или набор стартера.

- Предыдущая калибровка проводилась более 5 дней назад.

- Анализатор прошел сервисное обслуживание.

- Контрольные значения находятся за пределами ожидаемых диапазонов.

Анализатор LIAISON®: Значения калибратора хранятся в штрих-кодах на этикетке интеграла.

Анализатор LIAISON® XL: Значения калибратора хранятся в приемопередатчике радиочастотной идентификации.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое выполнение инструкций для оператора анализатора обеспечивает правильное проведение анализа.

Анализатор LIAISON®: Каждый параметр теста идентифицируется через штрих-коды на этикетке реагента интеграла. Если маркировка штрих-кода не считывается анализатором, интеграл нельзя использовать. Не выбрасывайте интеграл реагента: свяжитесь с местной службой технической поддержки DiaSorin для получения консультации.

Анализатор LIAISON® XL: Каждый тестовый параметр идентифицируется через информацию, закодированную в приемопередатчике радиочастотной идентификации. Если метка радиочастотной идентификации не считывается анализатором, интеграл нельзя использовать. Не выбрасывайте интеграл реагента: свяжитесь с местной службой технической поддержки DiaSorin для получения консультации.

Операции анализатора LIAISON® заключаются в следующем:

1. Поместите предварительно разбавленный образец, калибратор или предварительно разбавленные контроли в модуль реакции.
2. Поместите магнитные частицы с покрытием (твердая фаза) и Буфер А.
3. Инкубируйте.
4. Промойте жидкостью для промывки / системной жидкостью.
5. Поместите конъюгат в модуль реакции.
6. Инкубируйте.
7. Промойте жидкостью для промывки / системной жидкостью.
8. Добавьте реагент стартера и измерьте испускаемый свет.

Операции анализатора LIAISON® XL заключаются в следующем:

1. Поместите магнитные частицы с покрытием (твердая фаза) и Буфер А в реакционную кювету.
2. Поместите предварительно разбавленный образец, калибратор + буфер А или предварительно разбавленные контроли.
3. Инкубируйте.
4. Промойте жидкостью для промывки / системной жидкостью.
5. Распределите конъюгат в модуле реакции.
6. Инкубируйте.
7. Промойте жидкостью для промывки.
8. Добавьте реагент стартера и замерьте испускаемый свет.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли качества должны прогоняться в одной повторности для отслеживания анализа:

- не менее одного раза на день применения,
- всякий раз при использовании нового интеграла реагента,
- всякий раз при калибровке набора,
- всякий раз при использовании новой партии реагентов стартера,
- для оценки надлежащих характеристик интеграла, открытого более 14 дней назад,
- или согласно положениям или требованиям местных норм или аккредитованных организаций. Контрольные значения должны находиться в ожидаемых диапазонах: всякий раз, когда одно из средств контроля находится за пределами ожидаемых диапазонов, калибровку следует повторить, а средства контроля тестировать повторно. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, снова находятся за пределами определенных диапазонов, тест следует повторить с использованием неоткрытой контрольной пробирки. Если контрольные значения находятся за пределами ожидаемых диапазонов, результаты для пациента не должны сообщаться.

Действие других средств контроля должны оцениваться на совместимость с анализом до их использования. Для используемых материалов контроля качества следует установить соответствующие диапазоны значений.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрации анти-ТПО для неизвестных образцов в МЕ/мл. Подробнее см. в инструкции для оператора анализатора. Калибраторы и средства контроля могут выдавать разные относительные световые единицы или результаты дозы в LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты для пациента эквивалентны.

13.1. Стандартизация

Тест откалиброван с использованием стандартного препарата 66/387 Национального института биологических стандартов и контроля (NIBSC).

13.2. Диапазон анализа

Тест LIAISON® анти-ТПО измеряет концентрации до 2000 МЕ/мл.

13.3. Референсный диапазон

Нормальный диапазон: 1-16 МЕ/мл.

Данный диапазон исследовался для группы 193 практически здоровых субъектов. Каждая лаборатория должна установить свой собственный референсный диапазон. **Клинические образцы:**

Тест LIAISON® анти-ТПО далее оценивали с помощью сывороток, полученных у 92 практически здоровых субъектов, у 60 пациентов с установленной болезнью Хашимото и у 50 пациентов с установленным токсическим зоб (базедова болезнь). Критерии включения/исключения пациента основывались на серологическом анализе. Наличие антител к ТПО являлось критерием для диагностики болезни Хашимото.

Клиническое состояние	n	Среднее (МЕ/мл)	2,5-% (МЕ/мл)	97,5-% (МЕ/мл)
Здоров(а)	92	3,80	<1,00	80,78
Болезнь Хашимото	60	325,73	64,79	> 2000
Диффузный токсический зоб	50	40,61	<1,00	> 2000

n = кол-во образцов.

Клиническая чувствительность:

Преобладание образцов, которые показали результат выше порогового для теста LIAISON® анти-ТПО и

соответствующий 95% доверительный интервал.

Клиническое состояние	n	LIAISON® анти-ТПО % положительный	95% предел уверенности
Здоров(а)	92	15,2%	8,6 – 24,2%
Болезнь Хашимото	60	98,3%	91,1 – 99,9%
Диффузный токсический зоб	50	76,0%	61,8 – 86,9%

n = кол-во образцов.

Сравнение метода

Качественное сравнение теста LIAISON® анти-ТПО и доступного на рынке теста на определение ТПО-антител.

Тест	Доступный на рынке тест на определение ТПО-антител			
		положительный	нормальный	общий
LIAISON® Анти-ТПО	Положительный	86	2	8
	Нормальный	15	94	109
	Общий	101	96	197

Процент согласованности: 91,4%

Доверительный интервал: 86,5 – 94,9%

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данные реагенты должны использоваться только для семейства анализатора LIAISON®.

Одиночные компоненты интеграла реагента не следует удалять из интеграла.

Набор не должен использоваться после окончания его срока годности, указанного на упаковке.

Для получения надежных результатов необходимо соблюдать предложенную методику и выполнять требования инструкций.

На результаты испытаний может повлиять загрязнение бактериями или отсутствие тепла образцов.

Одни лишь уровни анти-ТПО сыворотки не свидетельствуют о наличии или отсутствии аутоиммунного заболевания щитовидной железы. Они должны всегда интерпретироваться в контексте клинической картины и других диагностических процедур. Любое терапевтическое решение должно также приниматься по каждому отдельному случаю.

Образцы, в которых содержатся уровни анти-ТПО, превышающие диапазон измерения, могут предварительно разбавляться.

Интегралы не могут взаимозаменяться между типами анализаторов (LIAISON® и LIAISON® XL). После введения интеграла в определенный тип анализатора он должен всегда использоваться на данном анализаторе до конца. По причинам отслеживаемости, возникающей вследствие вышеуказанного заявления последующие наблюдения за пациентами не должны проводиться на разных типах анализаторов. Они должны выполняться на одном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1. Аналитическая специфичность

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

15.2. Помехи

Контролируемые изучения потенциально затрудняющих веществ или состояний показали, что на анализ не влияли концентрации билирубина < 0,2 мг/мл, гемоглобина < 1000 мг/дл или триглицериды < 30 мг/мл.

15.3. Перекрестные реакции

Для определения перекрестной реактивности образцы сыворотки образцы сыворотки метили Тg антигеном. До концентрации 1000 мг/мл анализ Тg не указывает на какую-либо перекрестную реактивность.

15.4. Точность анализатора LIAISON®

Разные образцы, содержащие разные концентрации анти-ТПО, анализировались на определение повторяемости и воспроизводимости анализа (т.е. переменчивость в пределах анализа и между анализами).

Вариации внутри анализа			Вариации между анализами		
Среднее значение (МЕ/мл)	КВ(%)	n*	Среднее значение (МЕ/мл)	КВ(%)	n*
9,4	4,9	40	13,9	11,9	47
34,0	3,6	40	33,9	7,9	57
123,0	5,0	40	121,7	8,0	57
488,3	6,7	40	423,9	11,7	57
1755,3	7,4	40	752,4	12,7	47

*кол-во определений

15.5. Точность анализатора LIAISON® XL

Разные образцы, содержащие разные концентрации анти-ТПО, анализировались на определение повторяемости и воспроизводимости анализа (т.е. переменчивость в пределах анализа и между анализами).

Вариации внутри анализа			Вариации между анализами		
Среднее значение (МЕ/мл)	КВ (%)	n*	Среднее значение (МЕ/мл)	КВ (%)	n*
10,9	4,5	20	11,2	6,9	20
38,8	4,8	20	38,5	5,3	20
132,0	3,6	20	136,5	4,7	20
516,4	6,2	20	512,4	6,0	20
1038,9	5,0	20	1490,7	6,6	20

*кол-во определений

15.6. Правильность

Правильность анализа проверена тестами разведения и восстановления

15.7. Тест разведения

Образцы, содержащие высокие анти-ТПО концентрации, испытывались как таковые, а после последовательного разведения вместе с разведенным образцом. Анти-ТПО концентрации, измеряемые по отношению к ожидаемым, анализировались линейной регрессией.

В таблицах приводится пример разведенной сыворотки пациента. Первоначальная концентрация: 1049 МЕ/мл.

Разведение	Измеряемое значение (МЕ/мл)	Ожидаемое значение (МЕ/мл)	Восстановление (%)
1:1.25	849	839	101
1:1.67	562	629	89
1:2.5	381	420	91
1:5	200	210	95
1:10	104	105	100

15.8. Тест восстановления

Образцы, меченные анти-ТПО, тестировались для оценки восстановления теста LIAISON®.анти-ТПО.

В таблице представлен пример восстановления анти-ТПО концентраций в сыворотке с низким титрованием (0 МЕ/мл), помеченной сывороткой с высоким титрованием (916 МЕ/мл).

Разведение	Измеряемое значение (МЕ/мл)	Ожидаемое значение (МЕ/мл)	Восстановление (%)
1:1.25	681	733	93
1:1.67	529	550	96
1:2.5	335	366	92
1:5	176	183	96
1:10	92	92	100

15.9. Эффект высокой дозы

Для концентраций до 140 000 МЕ/мл эффекта высокой дозы не наблюдалось.

При испытании образцов, содержащих чрезвычайно высокие концентрации анализируемого вещества эффект высокой дозы может имитировать концентрации, которые являются меньшими, чем в реальности. Анализ эффекта высокой дозы оценивался тестированием пяти образцов, помеченных анти-ТПО высокой концентрации. Все образцы показали расчетные значения концентрации выше измеряемого диапазона, не указывая на неправильную классификацию образца.

15.10. Аналитическая и функциональная чувствительность

Аналитическая чувствительность:

Аналитическая чувствительность определяется как минимальная обнаруживаемая доза, выделяемая из нуля двумя стандартными отклонениями.

Функциональная чувствительность:

Функциональная чувствительность (определяемая как самая низкая концентрация анализируемого вещества, которая может определяться разными анализами CV<20%).

	Аналитическая чувствительность	Функциональная чувствительность
Семейство анализатора LIAISON®	0,6 МЕ/мл	1,0 МЕ/мл