



DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871



LIAISON® DHEA-S (310430) ДГЭА-С

1. Назначение

Количественное определение дегидроэпиандростерон-сульфата в человеческой сыворотке и плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIAISON®.

Использовать только для “*in vitro*” диагностики.

2. Введение

Дегидроэпиаандростерон (ДГЭА) – стероидный гормон-предшественник, преимущественно синтезируемый корой надпочечников по цепочке холестерин-сульфат → прегненолон-сульфат → 17-гидроксипрегненолон- сульфат. Молекула ДГЭА обладает липофильными свойствами, в кровотоке обнаруживается ее гидрофильная форма дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭА-С). Превращение ДГЭА в гидрофильную форму происходит в надпочечниках, печени и тонком кишечнике. Концентрация ДГЭА-С в 300 раз выше, чем концентрация свободной формы ДГЭА. Среди С-19 стероидов крови концентрация ДГЭА-С максимальна.

ДГЭА и ДГЭА-С являются неактивными предшественниками андрогена и эстрогена, которые переходят в активную форму половых гормонов в периферийных органах-мишенях, таких как мозг, внешние половые органы, волосяные фолликулы и жировая ткань. ДГЭА-С, вместе с ДГЭА, также регулирует активность 3-β - дегидрогеназы и 11- β-гидроксилазы, двух ферментов, играющих первостепенную роль в биосинтезе стероидов надпочечников.

ДГЭА-С выводится из организма с мочой, где представляет основную долю 17-кетостероидов.

Кроме того, ДГЭА-С выступает в роли субстрата синтеза андростенедиона (и, затем, тестостерона) и продукта детоксикации надпочечников.

В организме мужчин порядка 50% андрогенов образуется из адrenaловых предшественников стероидов. У женщин в пременопаузе около 75% доли синтеза эстрогенов происходит в периферийных клетках-мишенях, у женщин в постменопаузе доля периферийного синтеза достигает практически 100%.

Синтез ДГЭА-С находится в строгой зависимости от возраста. Биологическая активность ДГЭА-С начинает проявляться еще во время эмбрионального развития, где он может рассматриваться как предшественник эстрогенов на плацентарном уровне. Как ДГЭА-С, синтезируемый корой надпочечников, так и ДГЭА-С, образующийся в процессе плацентарного стероидогенеза, в действительности накапливаются в плаценте. У новорожденных концентрация ДГЭА-С в течение первых 3 недель жизни падает до уровня, сохраняющегося на протяжении всего препубертатного периода. Эти данные свидетельствуют о том, что сывороточная концентрация ДГЭА-С является результатом остаточной активности эмбриональной коры надпочечников. Высокая концентрация ДГЭА-С у недоношенных новорожденных (38 недель беременности), таким образом, вызывает особый интерес, так как они являются показателем ответа эмбриональных надпочечников на стресс (преждевременные роды).

Примерно в 6-летнем возрасте концентрация ДГЭА-С опять повышается и достигает нормального взрослого уровня приблизительно в 13 лет. Такие высокие значения наиболее вероятно необходимы для усиленного синтеза гипофизарных гонадотропинов.

Длительное время полужизни сывороточного ДГЭА-С и незначительные суточные колебания делают ДГЭА-С хорошим показателем для оценки функционирования коры надпочечников. Таким образом, тест на ДГЭА-С наиболее широко используемый тест дифференциальной диагностики вирилизации у пациентов.

Основными показателями для назначения исследования уровня сывороточного ДГЭА-С являются патологии эндокринной системы, особенно адrenaловой природы:

-оценка половой зрелости: концентрация ДГЭА-С понижена в случае запоздалого полового созревания и повышена в случае раннего.

-оценка функционирования надпочечников: концентрация ДГЭА-С понижена в случае первичного и вторичного гипoadrenaлизма, и, напротив, ДГЭА-С является единственным андрогеном с аномально высокой концентрацией у женщин, страдающих аменореей и гирсутизмом адrenaловой природы, а также у больных врожденной гиперплазией надпочечников.

У большинства пациентов с болезнью Кушинга (гипофизарного происхождения) концентрация ДГЭА-С умеренно повышена. Высокие концентрации ДГЭА-С часто наблюдаются в случаях синдрома поликистоза яичников, что свидетельствует о том, что надпочечниковый гиперандрогенизм типичен для данного явления. Очень высокие концентрации ДГЭА-С у женщин могут указывать на наличие гормон-секретирующей опухоли надпочечников. Так как уровень сывороточного ДГЭА-С отражает уровень секреции андрогенов надпочечниками, его определение является ранним маркером начала адrenaрхе.

Наиболее часто определение ДГЭА-С используется для дифференциальной диагностики вирилизации. Вирилизация является следствием повышенного уровня андрогенов (тестостерона), что может вызвать облысение (алопецию), аменорею и аномальный рост волос (гирсутизм). Вирилизирующие опухоли яичников сопровождаются заметным повышением концентрации сывороточного тестостерона на фоне субнормальных значений концентрации ДГЭА-С. Вирилизирующие опухоли надпочечников секретируют очень большое количество мощных андрогенов, в том числе и ДГЭА-С.

3. Принцип метода

Метод количественного определения ДГЭА-С представляет собой 1-ступенчатый конкурентный хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Специфические мышинные моноклональные антитела к ДГЭА-С связаны с магнитными микрочастицами, молекулы ДГЭА-С мечены производным изолюминола (конъюгат антигена с красителем). Во время инкубации молекулы ДГЭА-С, присутствующие в калибраторах, контролях и пробах пациентов, конкурируют с молекулами конъюгата за связывание с антителами твердой фазы. 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 количество конъюгата ДГЭА-С с изолюминолом, которое, в свою очередь, обратно пропорционально концентрации ДГЭА-С в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. Состав набора

1. Картридж реактивов

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые моноклональными мышинными антителами к ДГЭА-С; фосфатно-солевой буфер; БСА; азид натрия.
Калибратор 1 (0,8 мл)	Человеческая сыворотка, не содержащая стероидов, с низкой концентрацией ДГЭА-С; консерванты; инертный краситель (желтый). Концентрация калибратора (мг/дл) определена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Калибратор 2 (0,8 мл)	Человеческая сыворотка, не содержащая стероидов, с высокой концентрацией ДГЭА-С; консерванты; инертный краситель (синий). Концентрация калибратора (мг/дл) определена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Конъюгат (23 мл)	Молекулы ДГЭА-С, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолюминолом); неспецифические мышинные IgG; БСА; фосфатно-солевой буфер; консерванты; инертный краситель (красный).
Раствор для разведения образцов (13 мл)	БСА; фосфатно-солевой буфер; консерванты; инертный краситель (синий).
Количество определений	100

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

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® ДГЭА-С контроль, уровень 1 и 2 (кат.№ 310431)

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 ешьте, не пейте, не курите и не применяйте косметику в лаборатории проведения анализа.

Не пипетируйте ртом.


Избегайте прямого контакта с потенциально инфицированным материалом, предварительно надев лабораторную одежду, защитные очки и одноразовые перчатки. Тщательно мойте руки после каждого анализа.

Избегайте разбрызгивания или выделения аэрозолей. Все капли биологического реагента должны быть удалены раствором гипохлорита натрия, содержащего 0,5% активного хлора, а используемые средства должны рассматриваться как зараженные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для анализа, должны рассматриваться как потенциально способные передавать возбудителей инфекционных заболеваний. Отходы должны обрабатываться с осторожностью и утилизироваться в соответствии с лабораторными инструкциями и нормативными положениями, действующими в каждой стране. Любые материалы для повторного использования должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и инструкциями. Проверьте эффективность цикла стерилизации/деактивации.

Не используйте наборы или компоненты после срока, указанного на этикетке.

В соответствии с нормами ЕС 1272/2008 (CLP) опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом:

РЕАГЕНТЫ:	CAL1, CAL 2, CONJ, DILSPE
КЛАССИФИКАЦИЯ	Чувствительность кожи 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Предупреждение
СИМВОЛЫ ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 Восклицательный знак
ОПАСНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ:	ВОЗ- H317 Может вызвать аллергическую реакцию кожи.

ИНФОРМАЦИЯ О МЕРАХ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:	P261 Избегать вдыхания пыли / дыма / газа / тумана / паров / спрея. P280 Надеть защитные перчатки / защитную одежду / средства защиты глаз / средства защиты лица. P363 Перед повторным использованием постирать загрязненную одежду.
СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные в соответствии со Статьей 18 Регламента ЕС 1272/2008)	реакционная масса: 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС № 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

В соответствии с Законом ЕС 1272/2008 (CLP), **SORBO** обозначается как EUN210 в паспортах безопасности вещества, которые предоставляются по запросу. Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности вещества на сайте www.diasorin.com

7. Подготовка интегрального картриджа реактивов.

Обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при обращении с реагентом:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы перед тем, как набор помещают на прибор. Следуйте указанным ниже шагам для обеспечения полного ресуспендирования:

Перед снятием герметичной крышки поверните небольшое колесо в отделении с магнитными частицами до тех пор, пока цвет суспензии не станет коричневым. Тщательное и осторожное перемешивание путем наклона из стороны в сторону поможет получить равномерную суспензию магнитных частиц (избегайте образования пены). Визуально проверьте дно флакона с магнитными частицами, чтобы убедиться, что все осевшие магнитные частицы были ресуспендированы. Осторожно протрите поверхность каждой мембраны, чтобы удалить остаточную жидкость.

Повторите при необходимости до полного ресуспендирования магнитных частиц. Неполное ресуспендирование магнитных частиц может привести к получению непостоянных и неточных результатов анализа.

Образование пены в реагентах

Для гарантирования оптимальной работы набора, следует избегать вспенивания реагентов. Для предотвращения этого соблюдайте приведенные ниже рекомендации:

Перед использованием набора визуально осмотрите реагенты, в том числе калибраторы (положение два и три за положением флакона с магнитными частицами), чтобы убедиться, что не произошло образование пены до начала использования набора. Если пена присутствует после ресуспендирования магнитных частиц, поместите набор на прибор и оставьте до тех пор, пока пена не осядет. Набор готов к использованию, когда пена исчезла, а набор остался на панели прибора и перемешан.

Загрузка набора в зону для реагентов

Анализатор LIAISON®

Поместите набор в зону для реагентов в анализатор, так чтобы этикетка со штрих-кодом была обращена влево, и дайте набору постоять 30 минут перед использованием. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

Следуйте инструкциям оператора анализатора, чтобы загрузить образцы и начать работу.

Анализатор LIAISON® XL

Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным магнитным устройством, который способствует рассеиванию микрочастиц перед размещением набора реагентов в зону для реагентов в анализаторе. Подробнее см. руководство оператора анализатора.

а. Поместите набор реагентов в предназначенное для него место.

б. Позвольте набору реагентов оставаться в магнитном устройстве не менее 30 секунд (до нескольких минут). При необходимости повторите.

Поместите набор в зону для реагентов в анализатор этикеткой, обращенной влево, и дайте ему постоять в течение 15 минут перед использованием. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует

магнитные частицы.

Следуйте инструкции оператора анализатора, чтобы загрузить образцы и начать работу.

Контроль:

Для правильной работы с контролем обратитесь за информацией к инструкции LIAISON® ДГЭА-С контроль.

8. Хранение и стабильность интегрального картриджа реактивов

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено. Избегайте попадания прямых солнечных лучей.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно в течение не менее **4 недель** при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора. После окончания этого периода использование интеграла возможно при условии, если результаты исследования контрольных сывороток лежат в допустимых пределах.

9. Подготовка исследуемого материала

Сыворотка или плазма. ЭДТА, цитрат и гепарин могут быть использованы в качестве антикоагулянтов. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Для поддержания целостности пробы добавление дополнительных консервантов не требуется. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузыри с ее поверхности. Рекомендуется провести исследование пробы сразу же после загрузки в анализатор.

Стабильность: 7 дней при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. 10 проб были 4 раза заморожены-разморожены. Полученные результаты существенно не отличались друг от друга.

Минимально необходимый объем 161 µл (11 µл на исследование +150 µл 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.

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.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

11. Процедура анализа

Строгое соблюдение рекомендаций руководства оператора анализатора обеспечивает правильное выполнение анализа.

Анализатор LIAISON®. Каждый исследуемый параметр идентифицируется через штрих-коды на этикетке набора реагентов. В случае, если метка штрих-кода не может быть прочитана анализатором, набор реагентов не может быть использован. Не выбрасывайте набор реагентов; свяжитесь с вашей местной службой технической поддержки компании DiaSorin для получения дальнейших указаний.

Анализатор LIAISON® XL. Каждый исследуемый параметр идентифицируется с помощью информации, закодированной в транспондере радиочастотной идентификации (RFID-метке) набора реагентов. В случае, если RFID-метка не может быть считана анализатором, набор не может быть использован. Не выбрасывайте набор реагентов; обратитесь в местную службу технической поддержки компании DiaSorin для получения дальнейших указаний. Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление магнитных частиц.
3. Добавление конъюгата.
4. Инкубация.
5. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
6. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

12. Контроль качества

Контроли LIAISON® должны выполняться в одной повторности, чтобы контролировать результаты анализа. Контроль качества должен выполняться путём проведения контролей анализа LIAISON® ДГЭА-С (310431).

- (а) не реже одного раза в день использования,
- (б) всякий раз, когда используется новый набор реагентов,
- (в) всякий раз, когда набор калибруется,
- (г) всякий раз, когда используется новая партия запускающих реагентов,
- (д) для оценки правильности выполнения открытого набора за четыре недели или в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных правил или аккредитованных организаций.

Контрольные значения должны находиться в пределах ожидаемых диапазонов: всякий раз, когда один или оба контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, должна проводиться повторная калибровка, а также повторное исследование контролей. Если значения контролей, полученных после успешной калибровки, снова находятся за пределами заданных диапазонов, тест следует повторить с использованием нового нескрытого флакона контроля. Если значения контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, результаты анализа не должны сообщаться пациенту.

13. Интерпретация результатов

Анализатор автоматически рассчитывает концентрации DHEA-S (дегидроэпиандростерон-сульфат – ДЕАС) для неизвестных образцов. 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.

Диапазон значений количественного анализа. Анализатор рассчитывает концентрации DHEA-S от 1.0 до 750 мкг/дл.

Наименьшее регистрируемое значение составляет 1.0 мкг/дл на основе самого низкого обнаруженного предела обнаружения (см. § 15.6). Наибольшее регистрируемое значение без разбавления образца составляет 750 мкг/дл.

Значения образцов, содержащих концентрации DHEA-S выше диапазона анализа, можно считать превышающими 750 мкг/дл. Кроме того, образцы могут быть предварительно разведены с помощью функции разбавления анализатором LIAISON® и протестированы повторно. Рекомендуемый коэффициент разведения 1:10.

Затем результаты будут автоматически умножены на коэффициент разбавления для получения уровней DHEA-S в неразбавленных образцах. Объем разбавителя образца, находящегося в наборе реагентов, позволяет выполнить до 74 предварительных разведений образца.

Эталонный стандарт: в анализе за эталон принимается внутрилабораторный стандартный препарат DHEA-S. Номинальные концентрации стандартного препарата были определены с использованием ведущего изотопного метода, выбранного в качестве точного контрольного теста.

Ожидаемые значения: Для оценки ожидаемых значений было проведено два исследования. Приведенные ниже результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными характеристиками, а только ориентировочными.

Каждая лаборатория должна установить свой диапазон ожидаемых значений для рассматриваемой популяции.

Исследование 1 было выполнено на образцах сыворотки, взятых у 220 внешне здоровых детей и подростков в возрасте от трех до 18 лет. Результаты исследования для возрастных групп, перечисленных ниже, представлены в следующей таблице.

Возрастной диапазон (количество лет)	Субъекты женского пола (всего n=130)			Субъекты мужского пола (всего n= 90)		
	Количество субъектов	5-я процентиль верхнего предела нормы (мкг/дл)	95-я процентиль верхнего предела нормы (мкг/дл)	Количество субъектов	5-я процентиль верхнего предела нормы (мкг/дл)	95-я процентиль верхнего предела нормы (мкг/дл)
3-9	52	2.1	79.0	36	1.7	61.8
9-18	78	16.0	189.6	54	21.0	397.7

Исследование 2 было выполнено на образцах сыворотки, взятых у 462 внешне здоровых детей и подростков в возрасте от 20 до 66 лет. Результаты исследования для возрастных групп, перечисленных ниже, представлены в следующей таблице.

Возрастной диапазон (количество лет)	Субъекты женского пола (всего n=205)			Субъекты мужского пола (всего n= 257)		
	Количество субъектов	5-я процентиль верхнего предела нормы (мкг/дл)	95-я процентиль верхнего предела нормы (мкг/дл)	Количество субъектов	5-я процентиль верхнего предела нормы (мкг/дл)	95-я процентиль верхнего предела нормы (мкг/дл)
20-29	39	80.2	339.5	29	161.2	561.6
30-39	36	58.7	227.0	51	124.5	482.7
40-49	65	46.7	247.6	82	96.9	391.5
50-59	55	33.0	212.8	80	59.7	307.9
> 60	10	61.6	124.1	15	40.8	405.4

14. Ограничения процедуры

- Реагенты следует использовать только в системе LIAISON®.
- Нельзя доставать из набора отдельные компоненты набора реагентов.
- 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.
- Результаты теста сообщаются количественным образом. Тем не менее, диагноз заболевания не должен быть установлен на основе одного результата тестирования, но 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 LIAISON® DHEA-S был разработан для определения аналита в его неповрежденном и неизменном состоянии. Разложение молекулы может повлиять на конечные результаты.
- Несмотря на то, что добавляются нейтрализующие НАМА агенты, чрезвычайно высокие концентрации НАМА (человеческие антимышинные антитела) могут иногда влиять на результаты.
- Влияние факторов, возникающих в результате приема лекарств, на искажение результатов анализа, не было изучено.
- Образцы сыворотки, ЭДТА-плазмы, гепаринизированной плазмы и цитратной плазмы были получены после взятия крови у 40 человек для изучения влияния различных типов образцов на результаты DHEA-S. Аликвоты сыворотки и плазмы для каждого образца крови анализировали за один раз. Следующие корреляции были получены с помощью анализа линейной регрессии.

Результат ЭДТА-плазма = 0.921 x сывороточный результат +3.682. Коэффициент корреляции $r = 0.990$.

Результат гепаринизированной плазмы = 0.988 x сывороточный результат +3.659. Коэффициент корреляции $r = 0.986$.

Результат цитратной плазмы = 0.814 x сывороточный результат +14.886. Коэффициент корреляции $r = 0.982$.

Характеристики набора были исследованы на образцах сыворотки.

- 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 обследовании пациентов при использовании различных типов анализаторов. Все исследования должны быть выполнены на одном отдельном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

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).

Помехи

Контролируемые изучения потенциально затрудняющих веществ или состояний показали, что на анализ не влияли концентрации билирубина вплоть до 20 мг/мл, гемоглобина вплоть до 1000 мг/дл или триглицериды до 3000 мг/дл.

Перекрестные реакции

Данные о специфичности антитела, используемого в этом наборе, выражены в соответствии с Абрахамом как отношение концентрации DHEA-S к концентрации перекрестно реагирующего гормона при 50% ингибировании максимального связывания, как изложено ниже.

Присутствие следующих потенциально перекрестно-реактивных молекул не показало каких-либо помех в анализе при добавлении сыворотки, не содержащей DHEA-S, как показано в таблице ниже. Исследование проводилось в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, США), документ № EP07-A2.

Состав	Добавленное количество	% перекрестной реактивности
Андростендион	3,000 мкг/дл	0.02%
Дегидроэпиандростерон (DHEA)	3,000 мкг/дл	-0.01%
Андростерон	5,000 мкг/дл	0.02%
Тестостерон	5,000 мкг/дл	0.02%
Сульфат андростерон	10,000 мкг/дл	0.23%
Андростерон глюкуронид	15,000 мкг/дл	необнаруживаемый
Альдостерон	15,000 мкг/дл	необнаруживаемый
Эстрадиол	15,000 мкг/дл	необнаруживаемый
Эстриол	15,000 мкг/дл	необнаруживаемый
Эстрон	15,000 мкг/дл	необнаруживаемый
Прогестерон	15,000 мкг/дл	необнаруживаемый
Сульфат эстрогена	15,000 мкг/дл	0.02%
Кортизол	30,000 мкг/дл	необнаруживаемый

15.2. Точность анализатора LIAISON®

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфического анализируемого вещества, были проверены методом количественного анализа для оценки повторяемости и воспроизводимости метода (то есть, вариативности результатов внутри анализа и между анализами). Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между разными лабораториями и местами исследования.

Повторяемость. В одном прогоне исследовали двадцать повторений для оценки внутри-лабораторной повторяемости.

Повторяемость	A	B	C	D	E	F	G	Контроль 1	Контроль 2
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкг/мл)	7.4	18.6	36.0	85.0	156.6	386.1	498.7	42.3	169.3
Стандартное отклонение (мкг/мл)	0.4	0.7	1.1	2.6	15.1	38.9	40.5	2.0	5.9
Коэффициент вариации (%)	5.2	3.5	3.0	3.0	9.6	10.1	8.1	4.8	3.5
Миним. значение (мкг/мл)	6.3	16.4	34.5	80.2	96.2	326.1	411.1	37.2	150.8
Максим. значение (мкг/мл)	7.8	19.5	38.3	92.0	170.9	459.0	585.0	45.5	180.2

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости двадцать повторений проверяли в разные дни (1 или 2 прогона в день) с 3 различными партиями набора. Испытания проводили на двух площадках, в лаборатории компании (площадка 1) и в независимой лаборатории (площадка 2) при использовании одного и того же оборудования.

Воспроизводимость - Площадка 1	H	I	J	K	L	Контроль 1	Контроль 2
ПАРТИЯ № 01							
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20

Среднее значение (мкг/мл)	21.7	75.2	139.0	315.8	476.0	49.4	184.7
Стандартное отклонение (мкг/мл)	1.4	4.2	7.7	20.2	56.6	2.8	11.8
Коэффициент вариации (%)	6.5	5.5	5.5	6.4	11.9	5.7	6.4
Минимальное значение (мкг/мл)	19.3	66.4	120.4	286.2	396.5	43.7	149.3
Максимальное значение (мкг/мл)	24.6	84.1	152.3	356.5	589.4	55.5	208.9
ПАРТИЯ № 02							
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкг/мл)	22.7	76.2	139.5	305.9	526.1	50.1	188.0
Стандартное отклонение (мкг/мл)	1.8	4.5	7.3	21.8	45.9	2.1	7.2
Коэффициент вариации (%)	8.1	5.9	5.3	7.1	8.7	4.2	3.8
Минимальное значение (мкг/мл)	19.3	68.5	123.3	257.2	413.9	46.4	173.6
Максимальное значение (мкг/мл)	25.6	84.2	153.1	348.1	607.0	55.6	207.4
ПАРТИЯ № 03							
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкг/мл)	21.1	71.8	134.2	296.5	477.4	48.5	180.0
Стандартное отклонение (мкг/мл)	1.1	3.8	4.8	17.0	39.8	3.2	7.0
Коэффициент вариации (%)	5.1	5.2	3.6	5.7	8.3	6.6	3.9
Минимальное значение (мкг/мл)	19.5	64.1	126.3	271.5	396.9	42.5	165.2
Максимальное значение (мкг/мл)	22.9	78.4	143.0	323.1	544.6	54.4	193.2
Коэффициент вариации между партиями (%)	3.8	3.1	2.1	3.2	5.8	1.6	2.2

Воспроизводимость - Площадка 2	Н	І	Ј	К	Л	Контроль 1	Контроль 2
ПАРТИЯ № 01							
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкг/мл)	23.0	69.1	128.9	282.2	471.4	47.4	188.9
Стандартное отклонение (мкг/мл)	3.2	7.8	9.7	41.8	67.5	3.9	15.9
Коэффициент вариации (%)	13.8	11.3	7.6	14.8	14.3	8.1	8.4
Минимальное значение (мкг/мл)	18.5	51.3	113.0	209.2	391.8	40.8	173.2
Максимальное значение (мкг/мл)	30.2	82.6	150.1	369.3	639.4	55.9	233.2
ПАРТИЯ № 02							
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкг/мл)	22.9	72.1	130.9	266.8	528.1	50.6	194.5
Стандартное отклонение (мкг/мл)	3.3	7.1	11.5	42.6	56.1	5.1	11.0
Коэффициент вариации (%)	14.3	9.9	8.8	16.0	10.6	10.1	5.7
Минимальное значение (мкг/мл)	19.7	61.3	109.2	187.4	451.4	41.6	167.6
Максимальное значение (мкг/мл)	32.1	86.8	154.9	347.4	674.2	62.5	210.7
ПАРТИЯ № 03							

Количество определений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкг/мл)	20.5	64.9	119.0	247.6	471.6	44.9	177.3
Стандартное отклонение (мкг/мл)	1.4	5.8	7.8	29.2	76.7	2.8	12.9
Коэффициент вариации (%)	6.8	9.0	6.5	11.8	16.3	6.3	7.3
Минимальное значение (мкг/мл)	18.0	56.0	104.7	200.5	349.8	39.5	160.1
Максимальное значение (мкг/мл)	23.7	75.6	131.8	310.6	628.5	49.3	215.5
Коэффициент вариации между партиями (%)	6.6	5.3	5.0	6.5	6.7	6.1	4.7

15.3. Точность анализатора LIAISON® XL

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфических анализируемых веществ, были проверены методом количественного анализа для оценки повторяемости и воспроизводимости метода (то есть, вариативности результатов внутри анализа и между анализами). Вариативность, показанная в таблицах ниже, не привела к неправильной классификации образцов.

Повторяемость. В одном прогоне исследовали двадцать повторений для оценки повторяемости.

Повторяемость	1	2	3	4	5	6	7	Контроль 1	Контроль 2
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкг/мл)	21.89	62.57	90.54	172.8	211.8	247.8	317.2	57.24	205.8
Стандартное отклонение (мкг/мл)	0.95	3.92	3.61	9.36	11.3	17.6	15.1	3.07	9.65
Коэффициент вариации(%)	4.33	6.27	3.99	5.42	5.35	7.09	4.75	5.36	4.69
Минимальное значение (мкг/мл)	20.53	55.07	83.96	156.8	195.0	223.1	294.6	51.93	183.8
Максимальное значение (мкг/мл)	23.19	70.18	99.30	196.0	236.3	288.9	346.6	62.07	225.8

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости двадцать повторений проверяли в разные дни (1 или 2 прогона в день).

Повторяемость	1	2	3	4	5	6	7	Контроль 1	Контроль 2
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее значение (мкг/мл)	22.92	63.74	96.93	182.9	229.5	269.8	343.0	57.72	208.9
Стандартное отклонение (мкг/мл)	1.53	3.57	5.15	10.5	20.6	21.0	27.7	3.90	11.4
Коэффициент вариации(%)	6.66	5.59	5.31	5.76	8.97	7.79	8.09	6.76	5.44
Минимальное значение (мкг/мл)	20.53	58.54	84.81	161.9	189.2	235.0	285.4	50.57	186.9
Максимальное значение (мкг/мл)	25.81	72.52	104.3	200.8	273.0	310.1	395.6	64.95	228.7

15.4. Линейность с помощью теста на разбавление

Два образца сыворотки с высоким уровнем DHEA-S тестировали в таком виде, как они есть, и затем последовательно вручную разбавленные с разбавителем образцов. Измеренные уровни по отношению к ожидаемым уровням DHEA-S анализировали с помощью линейной регрессии. Коэффициенты корреляции (r) варьировались от 0.995 до 0.998.

Разбавление	Ожидаемая концентрация, (мкг/мл)	Измеренная концентрация, (мкг/мл)	% восстановления	Разбавление	Ожидаемая концентрация, (мкг/мл)	Измеренная концентрация, (мкг/мл)	% восстановления
неразбавленный	—	411.4	-	неразбавленный	-	393.1	-

1:2	205.7	199.4	96.9	1:2	196.6	198.0	100.7
1:4	102.9	117.7	114.4	1:4	98.3	109.5	111.4
1:8	51.4	61.8	120.2	1:8	49.1	56.6	115.2
1:16	25.7	29.2	113.6	1:16	24.6	27.6	112.3
1:32	12.9	14.8	115.1	1:32	12.3	13.3	108.3
среднее	-	-	112.0	среднее	-	-	109.6

15.5. Достоверность анализа с помощью теста на восстановление

Два набора, сформированные из образцов с высоким, низким и нормальным уровнем DHEA-S (образцы X и H в наборе 1, образцы W и Z в наборе 2, образцы E и F) смешивают в соотношениях 1:5, 1 2, 1:1, 2:1 и 5:1 и анализируют. Процент восстановления определяли по результатам неразбавленных образцов. Измеренные уровни по отношению к ожидаемым уровням концентрации DHEA-S анализировали с помощью линейной регрессии. Коэффициенты корреляции (r) варьировались от 0,989 до 1.000.

Набор 1	Ожидаемое значение ((мкг/дл))	Измеряемое значение ((мкг/дл))	% восстановления	Набор 2	Ожидаемое значение ((мкг/дл))	Измеряемое значение ((мкг/дл))	% восстановления
X неразбавленный	-	31.6	-	W неразбавленный	-	71.8	-
5:1	75.1	72.8	97.0	5:1	92.4	96.9	104.9
2:1	118.6	118.7	100.1	2:1	112.9	121.7	107.8
1:1	162.1	158.7	97.9	1:1	133.5	141.9	106.3
1:2	205.5	202.7	98.6	1:2	154.0	160.2	104.0
1:5	249.0	247.8	99.5	1:5	174.6	167.6	96.0
Y неразбавленный	-	292.5	-	Z неразбавленный	-	195.1	-

15.6. Аналитическая и функциональная чувствительность

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) определяется как минимальная обнаруживаемая доза, которую можно отличить от нуля.

Аналитическая чувствительность, определяемая как минимальная обнаруживаемая доза, которую можно отличить от нуля с помощью двух средних отклонений колеблется от 0.4 мкг/дл до 0.7 мкг/дл (как определено во время нескольких прогонов тест-набора, разных партий набора и приборов).

Аналитическая чувствительность, рассчитанная в соответствии с руководящими принципами Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, США), документ № EP17-A, находится в диапазоне от 1.0 мкг/дл до 2.5 мкг/дл (как определено во время нескольких прогонов тест-набора, разных партий набора и приборов).

Функциональная чувствительность, определяемая как концентрация, при которой коэффициент вариации между анализами (CV) превышает 20%, равен меньше, находится в диапазоне от 1.5 мкг/дл до 5.4 мкг/дл (как определено во время нескольких прогонов тест-набора, разных партий набора и приборов).

15.7. Сравнение методов

Результаты тест-набора LIAISON®DHEA-S оценивали на 500 пробах и сравнивали с результатами, полученными с помощью главного неизотопного метода, выбранного в качестве точного контрольного теста. При оценке ожидаемых значений использовались те же самые исследуемые образцы. С помощью анализа линейной регрессии была получена следующая корреляция:

LIAISON®DHEA-S = 1.042 x эталонный метод +0.943. Коэффициент корреляции $r = 0.944$ ($n = 500$).

