



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



## Тест-набор IgA к tTG компании LIAISON® (Кат. № 310320)

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор для количественного анализа IgA к tTG компании LIAISON® использует технологию метода хемилюминесцентного иммунологического анализа (CLIA) для количественного определения в сыворотке или плазме человека аутоантител класса IgA, направленных против тканевой трансглутаминазы (tTG).

Присутствие аутоантител IgA к тканевой трансглутаминазе в сочетании с другими лабораторными исследованиями и клиническими данными может помочь в диагностике и мониторинге целиакии (глютено-чувствительной энтеропатии).

Это испытание проводят на анализаторах линейной марки компании LIAISON®.

### 2. РЕЗЮМЕ И ОБОСНОВАНИЕ ТЕСТА

Чувствительная к глютену энтеропатия или целиакия представляет собой хроническое заболевание, затрагивающее генетически восприимчивых детей и взрослых. Их неспособность усваивать глютен приводит к хроническому воспалению и повреждению слизистой оболочки тонкого кишечника, с уплощением эпителия кишечника. Заболевание вызвано патологической непереносимостью глиадины, спирторастворимой фракции глютена в пшенице, ржи и ячмене. У пациентов с целиакией, не получивших лечения, могут быть отставания в развитии, они могут страдать от диареи, желудочно-кишечных расстройств, анемии, хронической усталости, психиатрических проблем или же заболевание может протекать бессимптомно. Герпетиформный дерматит представляет собой кожное заболевание, также связанное с целиакией. Безглютеновая диета приводит к полной ремиссии заболевания и, следовательно, должна поддерживаться всю жизнь. Потребление глиадины приводит к возобновлению симптомов. Заболевание связано с HLA и может развиваться в любом возрасте с максимальными приступами в раннем детстве.

Целиакия диагностируется с помощью биопсии тонкой кишки, которая показывает уплощение слизистой оболочки. Тканевая трансглутаминаза, кальций-зависимый фермент, широко распространенный в органах человека, была идентифицирована как основной аутоантиген, связанный с целиакией. Антитела IgA против тканевой трансглутаминазы являются высокоспецифичным серологическим маркером целиакии и герпетиформного дерматита. Кроме того, IgA коррелирует с активностью течения заболевания и, следовательно, имеет первостепенное значение для мониторинга рациона.

Скрининг тканевой трансглутаминазы IgA в клинически подозреваемых случаях целиакии у детей или взрослых может помочь в выявлении нелеченных субклинических случаев.

### 3. ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Метод количественного определения IgA-антител к тканевой трансглутаминазе является непрямым хемилюминесцентным иммуноанализом (CLIA). Человеческая рекомбинантная тканевая трансглутаминаза (из бакуловируса) используется для покрытия магнитных частиц (твердая фаза), а затем мышинные моноклональные антитела к IgA человека связываются с производным изолюминола (конъюгатом изолюминол-антитело). Во время первой инкубации антитела к тканевой трансглутаминазе, присутствующие в калибраторах, образцах или контролях, связываются с твердой фазой. Во время второй инкубации конъюгат антител реагирует с IgA к тканевой трансглутаминазе, уже связанными с твердой фазой. После каждой инкубации несвязавшийся материал удаляют в цикле отмывания.

Далее добавляют стартерные реагенты и, таким образом, индуцируют мгновенную реакцию хемилюминесценции. Световой сигнал, и, следовательно, количество конъюгата изолюминол-антитело, измеряют на фотоумножителе в относительных световых единицах (RLU), что показывает концентрацию IgA к тканевой трансглутаминазе, присутствующих в калибраторах, образцах или контролях.

### 4. ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

#### Представленные в наборе реагенты

Магнитные частицы (2,3 мл)	[SORB]	Магнитные частицы, покрытые рекомбинантной тканевой трансглутаминазой человека (из бакуловируса), БСА, 3ФР-буфер (забуференный физиологический раствор), стабилизаторы, < 0,1% азида натрия, 10%-ный дигидрат N-оксида триметиламина.
Калибратор 1 (0,9 мл)	[CAL 1]	Сыворотка/плазма человека, содержащая низкие уровни IgA к тканевой трансглутаминазе, БСА, фосфатный буфер, 0,2% ProClin® 300, инертный желтый краситель. Концентрации калибратора (УЕ/мл) относятся к приготовленному на предприятии компании препарату антител.
Калибратор 2 (0,9 мл)	[CAL 2]	Сыворотка/плазма человека, содержащая высокие уровни IgA к тканевой трансглутаминазе, БСА, фосфатный буфер, 0,2% ProClin® 300, инертный синий краситель. Концентрации калибратора (УЕ/мл) относятся к приготовленному на предприятии компании препарату антител.
Разбавитель для образца (2 x 28 мл)	[DIL SPE]	БСА, фосфатный буфер, 0,2% ProClin® 300, инертный желтый краситель.
Конъюгат (28 мл)	[CONJ]	Мышинные моноклональные антитела к человеческому IgA, конъюгированные с производным изолюминола, БСА, 3ФР-буфер, 0,2% ProClin® 300, консерванты.
Количество тестов		100

Все реагенты поставляются в готовом для использования виде. Порядок реагентов отражает их расположение в упаковках набора реагентов.

## Материалы требуемые, но не поставляемые (относящиеся к системе)

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
Система отмывки/жидкостная система LIAISON® (Кат. № 319100). Мешки для отходов LIAISON® XL (Кат. № X0025). Кюветы LIAISON® XL (Кат. № X0016). Набор стартеров LIAISON® XL (Кат. № 319200). Одноразовые наконечники LIAISON® XL (Кат. № X0015). --	Система отмывки/жидкостная система LIAISON® (Кат. № 319100). Мешки для отходов LIAISON® (Кат. № 450003). Модуль LIAISON® (Кат. № 319130). Набор стартеров LIAISON® (Кат. № 319102) или Набор стартеров LIAISON® XL (Кат. № 319200) Набор для чистки LIAISON® (Кат. № 310990) Контроль света 12 LIAISON® (Кат. № 319150).

## Дополнительно требуемые материалы

LIAISON® Контроль IgA к tTG ([Кат. № | 310321); (отрицательный и положительный)

## 5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностического применения *in vitro*.

Все материалы сыворотки или плазмы, используемые для производства компонентов, представленных в этом наборе, прошли испытания на присутствие HBsAg (поверхностного антигена вируса гепатита В), анти-HCV (вируса гепатита С), анти-ВИЧ-1, анти-ВИЧ-2 и было определено, что они являются нереакционноспособными. Однако, так как ни один метод испытаний не может дать абсолютные гарантии отсутствия патогенных микроорганизмов, все образцы человеческого происхождения следует считать потенциально инфицированными и работать с ними следует с осторожностью.

## 6. ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

Нельзя есть, пить, курить и применять косметику во время проведения количественного анализа.

Не набирать растворы пипеткой ртом.

Избегать прямого контакта со всеми потенциальными инфекционными материалами, используя такую защитную одежду, как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки.

Тщательно мыть руки в конце каждого анализа.

Избегать разбрызгивания и образования аэрозолей. Все капли биологического реагента необходимо смывать раствором гипохлорита натрия с 0,5 %-ным активным хлором и использованные средства следует отправлять в отходы как потенциально инфицированные.



Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в этом методе количественного анализа, следует рассматривать как потенциально способные к передаче инфекционных возбудителей. 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 руководствами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Не используйте наборы или компоненты по истечении срока годности, указанного на этикетке.

<b>Реагенты, содержащие азид натрия (&lt;0,1%) [ЕС №: 247-852-1]:</b>	
<b>ДИРЕКТИВА</b>	<b>ЕС №. 1272/2008</b>
<b>КРАТКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ/РИСКА</b>	<b>ЕУН 210 - Паспорт безопасности предоставляется по запросу</b>

	<b>Реагенты, содержащие ProClin®</b>	<b>Реагенты, содержащие N-оксид триметиламина дигидрат</b>
<b>ДИРЕКТИВА</b>	<b>ЕС № 1272/2008</b>	<b>ЕС № 1272/2008</b>
<b>РЕАГЕНТЫ</b>	CAL 1 .  CAL 2 .  DIL SPE .  CONJ	SORB
<b>КЛАССИФИКАЦИЯ ВЕЩЕСТВА</b>	Сенсибилизатор кожи, категория 1	Раздражение кожи, категория 2 Серьезное раздражение глаз,
<b>СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО</b>	Предупреждение!	Предупреждение!
<b>СИМВОЛЫ / ПИКТОГРАММЫ:</b>	 GHS07 Восклицательный знак	 GHS07 Восклицательный знак
<b>КРАТКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ/РИСКА</b>	H317 - Может вызывать аллергическую кожную реакцию.	H315 - Вызывает раздражение кожи H319 - Вызывает серьезное раздражение глаз
<b>ПРЕДУПРЕДИТЕЛЬНЫЕ ФРАЗЫ ПО БЕЗОПАСНОСТИ</b>	P261 - Избегать вдыхания аэрозоля или брызг. P280 - Носить защитные перчатки и одежду и защиту для глаз. P363 - Стирать загрязненную одежду перед повторным использованием.	P264 - Тщательно мойте руки после работы. P280 - Носите защитные перчатки/защитную одежду/защиту глаз/защиту лица P305 + P351 + P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они есть, и это легко сделать. Продолжать промывать.
<b>СОДЕРЖИТ:</b> (только вещества, предписанные в соответствии со статьей 18 Регламента ЕС 1272/2008).	Реакционная масса: 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС №. 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС №. 220-239-6] (3: 1) (ProClin® 300).	10% триметиламин N-оксид дигидрат

## 7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

### 7.1. НАБОР РЕАГЕНТОВ

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

### **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 удалением герметичного покрытия вращают маленькое колесо в отделении с магнитными частицами до тех пор, пока цвет суспензии не изменится на коричневый. Осторожное и тщательное перемешивание путем наклона из стороны в сторону может способствовать образованию суспензии магнитных частиц (необходимо избегать появления пены). Визуально проверяют дно флакона с магнитными частицами для подтверждения того, что все осевшие магнитные частицы полностью ресуспендированы. Повторяют при необходимости до полного ресуспендирования магнитных частиц. После удаления герметичного покрытия, если необходимо, осторожно вытирают поверхность каждой мембраны для удаления оставшейся жидкости.

### **Вспенивание реагентов**

Для гарантирования оптимальной работы набора следует избегать вспенивания реагентов. Для предотвращения этого следуют указанным ниже рекомендациям:

Перед использованием набора визуальным образом обследуют реагенты, в частности калибраторы (позиции 2 и 3 после флакона с магнитными частицами), чтобы убедиться в отсутствии пенообразования. Если вспенивание имеется после ресуспендирования магнитных частиц, то помещают набор на прибор и оставляют до исчезновения пены. Набор готов к употреблению, если пена исчезла, и набор находится на панели прибора и перемешан.

### **Помещение набора в область реагентов**

#### **Анализатор LIAISON®**

Перед использованием помещают набор в анализатор в область для реагентов с этикеткой со штриховым кодом, направленной налево, и оставляют его стоять на 30 минут. Анализатор автоматически производит размешивание и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

Для загрузки образцов следуют руководству по эксплуатации анализатора и начинают прогон.

#### **Анализатор LIAISON® XL**

Анализатор LIAISON® XL оборудован встроенным полупроводниковым магнитным устройством, которое способствует получению дисперсии микрочастиц до размещения набора реагентов в область для реагентов анализатора. Для получения детальной информации обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

Вставляют набор реагентов в нужную щель.

Дают набору реагентов оставаться во встроенном полупроводниковом магнитном устройстве в течение не менее 30 секунд (вплоть до нескольких минут). При необходимости повторяют.

Перед использованием помещают набор в область реагентов анализатора с этикеткой со штриховым кодом, направленной налево, и оставляют его на 15 минут. Анализатор автоматически производит размешивание и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

Для загрузки образцов следуют руководству по эксплуатации анализатора и начинают прогон.

## 7.2. Контроли

Обратитесь к инструкциям по эксплуатации LIAISON® Контроль tTG IgA (| Кат. №| 310321), чтобы получить инструкции по правильной подготовке и обращению.

## 8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ НАБОРА

После получения набор реагентов должен храниться в вертикальном положении, чтобы облегчить последующее ресуспендирование магнитных частиц. Когда набор реагентов хранится в запечатанном виде и хранится в вертикальном положении, реагенты стабильны при температуре 2-8 ° C до истечения срока годности. Не замораживать. Набор реагентов не должен использоваться после даты истечения срока годности, указанной на наборе и на этикетках набора реагентов. После снятия уплотнений для создания герметичности набор реагентов стабилен в течение 4 недель (см. § 12), либо в охлажденном виде при температуре 2-8 ° C, либо на панели прибора. Хранить вдали от прямых солнечных лучей.

Всегда используйте один и тот же анализатор LIAISON® для уже открытого набора реагентов.

Для правильного хранения набора реагентов используйте штатив для вертикального хранения, поставляемый с линейной маркой анализаторов LIAISON®.

## 9. ОТБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Можно использовать человеческую сыворотку или плазму. Были протестированы такие антикоагулянты, как цитрат, ЭДТА и гепарин, и они могут быть использованы в этом анализе. Кровь должна быть отобрана в асептических условиях с помощью венепункции, необходимо дать крови свернуться, и как можно скорее сыворотка должна быть отделена от сгустка. Образцы, содержащие твердые частицы, с мутностью, липемией или обломками эритроцитов, перед тестированием могут потребовать осветления фильтрацией или центрифугированием.

Сильно гемолизированные образцы или с липемией, а также образцы, содержащие твердые частицы или имеющие явное микробное загрязнение, не следует тестировать. Проверьте на пузырьки воздуха и удалите их перед анализом. Если анализ проводится в течение семи дней после отбора образцов, образцы могут храниться при 2-8 ° C; в противном случае их следует разлить на аликвоты и хранить при глубокой заморозке (-20 ° C или ниже). Если образцы хранятся в замороженном виде, тщательно перемешайте размороженные образцы перед тестированием. 15 образцов с различной реакционной способностью хранили в течение 7 дней при 2-8 ° C и подвергали 5 циклам замораживания-оттаивания.

Результаты не показали достоверных различий. Минимальный необходимый объем составляет 170 мкл образца (20 мкл образца + 150 мкл мертвого объема).

## 10. КАЛИБРОВАНИЕ

Проверка специфических калибраторов для этого метода количественного анализа позволяет выявить значения относительных световых единиц (RLU) для построения заданной основной кривой. Всего можно провести до четырех калибрований.

Анализатор должен быть откалиброван в трех повторностях во всех случаях, если имеют место указанные ниже условия:

- Используют новую серию набора реагентов или новый набор стартеров.

- Предыдущее калибрование проводили более, чем 2 недели назад.
- Анализатор подвергали сервисному обслуживанию.
- Значения контролей находятся вне ожидаемых диапазонов.

Анализатор LIAISON®: Значения калибраторов хранятся на этикетках со штрих-кодом набора.

Анализатор LIAISON® XL: Значения калибраторов хранятся на этикетке идентификатора радиочастотного ретранслятора (этикетка RFID).

## 11. ПРОЦЕДУРА КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА

Строгое соблюдение руководства по эксплуатации анализатора гарантирует соответствующее качество работы набора для количественного анализа.

**Анализатор LIAISON®.** Каждый испытуемый параметр идентифицирован на штрих-кодах на этикетках набора реагентов. В случае, если анализатор не может прочитать этикетку со штрих-кодом, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте набор с реагентами; обратитесь в местную техническую поддержку DiaSorin за получением инструкций.

**Анализатор LIAISON® XL.** Каждый испытуемый параметр идентифицирован согласно информации, зашифрованной на этикетке идентификатора радиочастотного ретранслятора (этикетка RFID). В случае, если этикетка RFID не может быть прочитана, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте набор с реагентами; обратитесь в местную техническую поддержку DiaSorin за получением инструкций.

### **Операции, выполняемые анализатором LIAISON®, следующие:**

1. Разбавлять образцы разбавителем для образцов.
2. Вносить калибраторы, контроли или разведенные образцы в реакционный модуль.
3. Вносить покрытые магнитные частицы.
4. Вносить разбавитель для образца.
5. Инкубировать.
6. Отмывать жидкой системой/системой отмывки.
7. Вносить конъюгат в реакционный модуль.
8. Инкубировать.
9. Отмывать жидкой системой/системой отмывки.
10. Добавлять стартерные реагенты 1 и 2 и измерять испускаемый свет.

### **Операции, выполняемые анализатором LIAISON® XL®, следующие:**

1. Разбавлять образцы разбавителем для образцов.
2. Вносить разбавитель для образца и покрытые магнитные частицы в реакционную кювету.
3. Вносить калибраторы, контроли или разбавленные образцы в реакционную кювету.
4. Инкубировать.
5. Отмывать жидкой системой/системой отмывки.
6. Вносить конъюгат в реакционную кювету.
7. Инкубировать.
8. Отмывать жидкой системой/системой отмывки.

9. Добавлять стартерные реагенты 1 и 2 и измерять испускаемый свет.

## 12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества должен выполняться (a) не реже одного раза в день использования, (b) всякий раз, когда используется новый набор реагентов, (c) всякий раз, когда набор проходит калибрование, (d) для оценки адекватности характеристик открытого набора по прошествии 4-х недель или в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных законодательных постановлений или аккредитованных организаций.

**Предупреждение.** *Иммунореактивность против транsgлутаминазы связана с термочувствительными конформационными эпитопами. Проверка качества должна выполняться всякий раз, когда используется новый набор реагентов для обеспечения правильного хранения набора и неизменяющихся рабочих характеристик.*

Для контроля эффективности работы анализа контроля LIAISON® следует прогонять в одной повторности. Контрольные значения должны лежать в ожидаемых диапазонах: всякий раз, когда контрольные значения находятся вне ожидаемых диапазонов, калибрование следует повторять, а контроли проверять повторно. Если контрольные значения, полученные после успешного калибрования, неоднократно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, испытание следует повторить с использованием неоткрытого флакона с контролем. Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты пациента не регистрируют.

Характеристики других контролей перед их использованием оценивают на их совместимость с этим набором для количественного анализа. Затем устанавливают соответствующие диапазоны значений для контроля качества используемых материалов.

## 13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрации IgA-антител к тканевой транsgлутаминазе, выраженные в произвольных единицах (УЕ/мл), и оценивает результаты. Для получения детальной информации обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

**Диапазон анализа:** анализатор сразу же рассчитывает концентрацию IgA к тканевой транsgлутаминазе от 0,2 до 800 УЕ/мл.

Образцы, содержащие уровни антител выше диапазона анализа, могут быть предварительно разведены с помощью функции разведения прибора и протестированы повторно (рекомендуемый коэффициент разведения 1:20). Затем результаты будут автоматически умножены на коэффициент разбавления для получения уровней антител в интактных образцах. Избыток разбавителя для образца, имеющийся в наборе реагентов, позволяет выполнить до 25 предварительных разведений образца.

Предельное (отсекаемое) значение, различающее наличие и отсутствие IgA к тканевой транsgлутаминазе, составляет 8 УЕ/мл. Результаты образцов следует интерпретировать следующим образом:

Образцы с концентрациями IgA к тканевой транsgлутаминазе ниже 8 УЕ/мл должны быть оценены как *отрицательные*.

Образцы с концентрациями IgA к тканевой транsgлутаминазе, равными или превышающими 8 УЕ/мл, должны оцениваться как *положительные*.

*Образцы с концентрациями тканевой транsgлутаминазы IgA в пределах  $\pm 10\%$  от значения*



отсечения должны быть повторно проверены, чтобы подтвердить первоначальный результат. Образцы, которые были несколько раз положительными, следует считать положительными. Образцы, которые являются отрицательными во втором тесте, должны считаться отрицательными.

Отрицательный результат, как правило, указывает на то, что IgA-антитела к тканевой трансглутаминазе не присутствуют в кровотоке пациента.

Положительный результат, как правило, указывает на присутствие IgA-антител к тканевой трансглутаминазе и может свидетельствовать о существовании чувствительной к глютену энтеропатии, такой как целиакия и герпетиформный дерматит.

## 14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Реагенты следует использовать только в системе 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.

Отрицательный результат не всегда исключает наличие чувствительной к глютену энтеропатии. Это может быть объяснено избирательным дефицитом IgA.

Результаты теста сообщаются количественным образом и классифицируются как положительные или отрицательные в отношении присутствия IgA к тканевой трансглутаминазе. 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.

## 15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### 15.1. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность может быть определена как способность количественного анализа точно определять в образце специфическое анализируемое вещество в присутствии потенциально вносящих помехи факторов (например, влияние антикоагулянтов, гемолиза, обработки образца), или перекрестно-реагирующих антител.

**Помехи.** Контролируемые исследования веществ или условий, потенциальным образом вносящих помехи, показали, что на результаты анализа не оказывают влияния антикоагулянты (цитрат, ЭДТА, гепарин), гемолиз (вплоть до 1000 мг/дл гемоглобина), липемия (вплоть до 3000 мг/дл триглицеридов), билирубинемия (вплоть до 20 мг/дл билирубина) или циклы замораживания-оттаивания образцов.

**Перекрестные реакции.** Как правило, наличие потенциально перекрестно-реактивных антител не влияет на анализ. Исследованными антителами были: (а) иммуноглобулины к различным инфекционным агентам, таким как hCMV (цитомегаловирус человека), EBV (вирус Эпштейна-Барра), VZV (вирус варицелла-зостер), вирус краснухи, *Toxoplasma gondii*, *Borrelia burgdorferi*, *Treponema pallidum* - (б) антитела к ревматоидному фактору (анти-Fc-

иммуноглобулин).

## 15.2 Прецизионность

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

### Анализатор LIAISON®

Повторяемость	A	B	C	D	E
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	3,15	10,95	70,77	256,70	521,60
Среднеквадратичное отклонение	0,22	0,40	3,45	17,02	45,79
Коэффициент вариации (%)	7,1	3,7	4,9	6,6	8,8

### Анализатор LIAISON® XL

Повторяемость	A	B	C	D	E
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	3,62	10,57	61,52	155,45	687,60
Среднеквадратичное отклонение	0,06	0,21	0,76	2,59	16,42
Коэффициент вариации (%)	1,7	2,0	1,2	1,7	2,4

**Воспроизводимость.** Для оценки воспроизводимости двадцать повторностей проверяли в разные дни (1 или 2 прогона в день) с 3 различными сериями набора. Испытания проводили на двух площадках, в лаборатории компании и в независимой лаборатории. Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между разными лабораториями и местами исследования.

### Анализатор LIAISON®

Воспроизводимость - Место 1	F	G	H	I	J	K
<b>СЕРИЯ № 01</b>						
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	0,27	11,23	76,91	143,95	300,25	773,00
Минимальное значение	0,12	10,70	64,50	118,00	270,00	699,00
Максимальное значение	0,49	13,60	84,70	160,00	340,00	> 800,00
Коэффициент вариации (%)	36,6	5,8	5,7	8,0	5,0	4,5
<b>СЕРИЯ № 02</b>						
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	0,19	11,01	80,96	156,85	310,30	669,30
Минимальное значение	0,03	10,10	73,70	126,00	272,00	578,00
Максимальное значение	0,48	12,80	89,50	171,00	325,00	741,00

Коэффициент вариации (%)	61,1	6,6	4,7	7,8	4,0	6,0
СЕРИЯ № 03						
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	0,01	10,99	80,63	170,55	340,95	776,50
Минимальное значение	0,00	10,00	66,90	135,00	320,00	668,00
Максимальное значение	0,09	13,90	89,30	193,00	366,00	> 800,00
Коэффициент вариации (%)	276,8	8,4	5,7	8,8	3,4	4,7

Воспроизводимость - Место 2	F	G	H	I	J	K
СЕРИЯ № 01						
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	0,47	12,12	77,37	153,02	297,70	758,40
Минимальное значение	0,23	8,56	56,80	95,30	227,00	614,00
Максимальное значение	1,17	13,60	90,60	184,00	397,00	> 800,00
Коэффициент вариации (%)	46,9	9,3	12,7	14,1	13,6	7,9
СЕРИЯ № 02						
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	0,21	11,00	80,37	170,80	332,75	731,80
Минимальное значение	0,02	8,37	55,60	133,00	275,00	594,00
Максимальное значение	0,42	13,20	98,40	199,00	410,00	> 800,00
Коэффициент вариации (%)	53,7	10,1	13,2	10,7	10,8	9,2
СЕРИЯ № 03						
Количество определений	20	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	0,07	11,10	80,64	183,80	359,25	776,05
Минимальное значение	0,00	8,39	58,10	139,00	292,00	689,00
Максимальное значение	0,17	12,50	91,00	223,00	445,00	> 800,00
Коэффициент вариации (%)	95,2	8,9	12,3	12,3	11,3	4,6

### Анализатор LIAISON® XL

Воспроизводимость	F	G	H	I	J
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (УЕ/мл)	3,92	11,52	67,20	165,40	737,10
Минимальное значение	3,58	10,80	62,70	153,00	632,00
Максимальное значение	4,14	12,90	72,50	177,00	789,00
Коэффициент вариации (%)	4,2	4,7	3,8	3,8	5,9

### 15.3. Подлинность

Подлинность анализа была проверена с помощью теста на разбавление.

**Тест на разбавление.** Четыре образца сыворотки, содержащие высокие концентрации IgA к тканевой трансглутаминазе, были протестированы как таковые и после последовательного разбавления разбавителем для образца. Измеренные концентрации IgA к тканевой трансглутаминазе в сравнении с ожидаемыми концентрациями анализировали с помощью линейной регрессии. Коэффициенты корреляции (r) варьировались от 0,993 до 0,999.

Разбавление	Ожидаемая концентрация	Измеренная концентрация	% извлечения	Разбавление	Ожидаемая концентрация	Измеренная концентрация	% извлечения
неразбавленны	—	740,0	—	неразбавленны	—	616,0	—
1:2	370,0	375,0	101,3	1:2	308,0	263,0	85,0
1:4	185,0	183,0	98,9	1:4	154,0	141,0	92,0
1:8	92,5	91,2	98,6	1:8	77,0	61,6	80,0
1:16	46,3	47,0	101,6	1:16	38,5	30,9	80,0
1:32	23,1	22,0	95,1	1:32	19,3	15,8	82,0
1:64	11,6	10,9	94,3	1:64	9,6	8,2	85,0
1:128	5,8	5,8	100,8	1:128	4,8	3,8	78,0

1:512	1,4	1,3	92,0	1:256	2,4	2,0	83,0
				1:512	1,2	1,0	83,0
неразбавленны	—	701,0	—	неразбавленны	—	766,0	—
1:2	350,5	367,0	105,0	1:2	383,0	465,0	121,0
1:4	175,3	186,0	106,0	1:4	191,5	220,0	115,0
1:8	87,6	88,6	101,0	1:8	95,8	108,0	113,0
1:16	43,8	39,0	89,0	1:16	47,9	46,4	97,0
1:32	21,9	19,0	87,0	1:32	23,9	23,4	98,0
1:64	11,0	9,2	84,0	1:64	12,0	11,9	99,0
1:128	5,5	4,0	72,0	1:128	6,0	5,2	86,0
1:256	2,7	2,1	77,0	1:256	3,0	3,0	101,0
1:512	1,4	0,9	68,0	1:512	1,5	1,4	93,0

#### 15.4. Перенос

Эффект переноса был исследован путем тестирования 5 отрицательных образцов до и после одного высокоположительного образца. Полученные результаты показывают, что при использовании анализатора LIAISON® перенос не наблюдается.

#### 15.5. Эффект насыщения высокой дозой

Всегда, когда проводят испытание образцов, содержащих чрезвычайно высокую концентрацию антител, эффект насыщения может исказить результат и привести к концентрациям, которые будут ниже, чем реальные. Однако хорошо оптимизированный двухступенчатый метод исключает значительную недооценку результатов, так как аналитические сигналы постоянно остаются высокими (кривая насыщения).

Анализ эффекта насыщения был проведен при испытании трех образцов с высоким титром, являющихся положительными в отношении на IgA к тканевой трансглутаминазе. Все образцы привели к оцененным значениям концентраций выше диапазона измерений, которые можно было бы ожидать с сыворотками с высоким титром, что указывает на отсутствие ошибочной классификации образцов.

#### 15.6. Диагностическая специфичность и чувствительность

Диагностическая специфичность и чувствительность были оценены путем тестирования 154 образцов из Северной итальянской больницы, отобранных из различных педиатрических групп населения (возрастной диапазон: 1-20 лет) и ранее классифицированных по гистологии (у 67 пациентов была целиакия; 28 пациентов были диагностированы как больные целиакией и находились на контролируемой безглютеновой диете (GFD); 59 были случайно отобранными субъектами, исследованными на целиакию, но без заболевания). Образцы были протестированы методом сравнительного анализа с ELISA (ИФА) в качестве метода сравнения.

Никаких положительных и 59 отрицательных результатов наблюдали в ожидаемой отрицательной популяции (без заболевания) - диагностическая специфичность: 100% (95% доверительный интервал: 93,94-100%). Средняя концентрация tTG IgA в контрольной группе составила 0,58 УЕ/мл.

Один отрицательный и 66 положительных результатов наблюдали в ожидаемой положительной популяции (пациенты, страдающие целиакией) - диагностическая чувствительность: 98,51% (95% доверительный интервал: 91,96-99,96%).

Группа	К-во	Тест на согласованность (точка отсечения: 8 ОЕ /мл ±10%)			ELISA (точка отсечения: 5-8 Ед/мл)		
		отрицательный	неопределенный	положительный	отрицательный	неопределенный	положительный
Контроли	59	59	0	0	59	0	0
Пациенты, болеющие целиакией	67	1	0	66	8	3	56
Пациенты, болеющие целиакией, находящиеся на безглютеновой диете	28	21	0	7	21	1	6

Результаты относятся к группам исследованных образцов. Это не гарантированные спецификации, поскольку между лабораториями и местами определения могут существовать различия в отношении популяции, рациона питания, лабораторной техники и выбора референтных групп.

## 16. ЛИТЕРАТУРА

1. E. BODIL ROTH et al. Biochemical and immuno-pathological aspects of tissue transglutaminase in coeliac disease. *Autoimmunity*, 36 : 221-226 (2003).
2. W. DIETERICH et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature Med.*, 3 : 797-801 (1997).
3. W. DIETERICH et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. *Gastroenterology*, 115 : 1317-1321 (1998).
4. L. FEIGHERY et al. Anti-transglutaminase antibodies and the serological diagnosis of coeliac disease. *Br. J. Biomed. Sci.*, 60 : 14-18 (2002).
5. T. HANSSON et al. Recombinant human tissue transglutaminase for diagnosis and follow-up of childhood coeliac disease. *Ped. Res.*, 51 : 700-705 (2002).
6. D. SBLATTERO et al. The analysis of the fine specificity of celiac disease antibodies using tissue transglutaminase fragments. *Eur. J. Biochem.*, 269 : 5175-5181 (2002).
7. D. SCHUPPAN Current concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology*, 119 : 234-242 (2000).

Для обслуживания клиентов в Канаде звоните по бесплатному номеру: 1-800-328-1482

Перевод соответствует оригиналу. Переводчик: Манина Е.Ю.

