



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



LIAISON® Cardiolipin IgG (310370) IgG к кардиолипинам

1. Назначение

Полуколичественное определение иммуноглобулинов класса G (IgG) к кардиолипинам в человеческой сыворотке и плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIAISON®.

Использовать только для “*in vitro*” диагностики.

2. Введение

Антитела к фосфолипидам образуют обширную и гетерогенную группу иммуноглобулинов, обнаружение которых в крови пациентов, страдающих артериальным и венозным тромбозом, а также акушерскими патологиями, указывает на наличие антифосфолипидного синдрома (АФС). Этот синдром был впервые описан в 1983 году Грэхемом Хьюзом как антикардиолипиновый синдром. Термин «антикардиолипиновый» был заменен понятием «антифосфолипидный» после того, как стало очевидным, что за клинические проявления антифосфолипидного синдрома ответственны не только антитела к кардиолипинам, но и другим фосфолипидам. Антифосфолипидный синдром называют первичным в случае, если отсутствуют иные нарушения, его вызвавшие, и наоборот, если антифосфолипидный синдром сопровождается другими аутоиммунными заболеваниями, особенно системной красной волчанкой, его называют вторичным.

Острый синдром закупорки сосудов, затрагивающий многие органы, наблюдается у небольшого количества пациентов, вырабатывающих антитела к кардиолипинам, и называется катастрофическим антифосфолипидным синдромом.

Результат теста на антитела к кардиолипинам может быть положительным в случае многих нарушений, в том числе заболеваний соединительной ткани и инфекционных. Данные клинической практики позволяют предположить, что многократные и стабильные положительные результаты тестов на антитела к фосфолипидам указывают на более тяжелое развитие болезни. Однако согласно классификационному критерию, определяющему антифосфолипидный синдром, положительный результат теста на антикардиолипиновые антитела имеет клиническое значение, только если он сопровождается тромбозом и повторяющимися выкидышами.

3. Принцип метода

Метод полуколичественного определения IgG к кардиолипинам представляет собой непрямой 2-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Комплекс высокоочищенных кардиолипинов и β_2 -гликопротеина I связан с магнитными микрочастицами, мышиные моноклональные антитела к человеческим IgG мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Наличие β_2 -гликопротеина, выступающего в роли кофактора, обязательно, так как кардиолипиновые антитела главным образом ориентированы против комплекса кардиолипинов с β_2 -гликопротеином нежели против свободных кардиолипинов. Во время первой инкубации антитела к кардиолипинам, присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, связываются с твердой фазой. Во время второй инкубации конъюгат взаимодействует с IgG к кардиолипинам, уже фиксированными на твердой фазе. После каждой 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 IgG к кардиолипинам в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. Состав набора

1. Картридж реактивов

| | |
|---|--|
| Магнитные частицы (1,3 мл) | Магнитные частицы, покрытые комплексом высокоочищенных кардиолипидов и β_2 -гликопротеина I; БСА; MES-буфер; консерванты. |
| Калибратор 1 (4 мл) | Человеческая сыворотка/дефибринированная плазма, содержащая низкую концентрацию IgG к кардиолипидам; БСА; фосфатный буфер; консерванты; инертный краситель (желтый). Концентрация антител в калибраторе (GPL E/мл) определена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin. |
| Калибратор 2 (4 мл) | Человеческая сыворотка/дефибринированная плазма, содержащая высокую концентрацию IgG к кардиолипидам; БСА; фосфатный буфер; консерванты; инертный краситель (синий). Концентрация антител в калибраторе (GPL E/мл) определена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin. |
| Раствор для разведения образцов (2 x 28 мл) | БСА; фосфатный буфер; консерванты; инертный краситель (желтый). |
| Конъюгат (13,5 мл) | Мышинные моноклональные антитела к человеческим IgG; меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолюминолом); БСА; фосфатный буфер; консерванты. |
| Количество определений | 50 |

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

2. Диск с инструкцией.

Необходимые материалы, не входящие в набор

Реакционные модули (каталожный номер 319130) Набор для активации

(каталожный номер 319102, 319200 или 319300)

Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150)

Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100)

Мешки для отработанных реакционных модулей (каталожный номер 450003)

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

Контроль IgG к кардиолипидам (каталожный номер 310371) Набор

растворов для обслуживания (каталожный номер 310990)

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 переливайте 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 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.

В соответствии с Положением ЕС 1272/2008 (CLP - классификация, маркировка и упаковка), опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом:

| | |
|--|--|
| РЕАГЕНТЫ: | [CAL], [CONJ], [DIL]SPE |
| КЛАССИФИКАЦИЯ: | Сенсибилизация кожи 1 H317 |
| СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО: | Внимание |
| ОБОЗНАЧЕНИЕ / ПИКТОГРАММЫ: |  GHS07 – Восклицательный знак |
| ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ: | H317 Может вызывать аллергическую реакцию на коже. |
| МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ: | P261 Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/испарений/аэрозоля. P280 Надевать защитные перчатки /защитную одежду/средства защиты глаз/ средства защиты лица. P363 Стирать загрязненную одежду перед повторным использованием. |
| СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные согласно Статье 18 Постановления ЕС 1272/2008). | реакционная масса: 5-хлоро-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 Положением ЕС 1272/2008 (CLP - классификация, маркировка и упаковка) [SORB] маркируется как EUN210; по запросу доступны паспорта безопасности.

Дополнительную информацию смотрите в паспортах безопасности, доступных на сайте: www.diasorin.com.

7. Подготовка интегрального картриджа реактивов.

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально. Избегайте пенообразования. Удалите алюминиевые мембраны с каждого из флаконов. Проверните колесо флакона с магнитными частицами, чтобы удостовериться, что оно свободно вращается, продолжая вращать колесо, добейтесь, чтобы суспензия стала равномерно коричневой. Эта процедура инициирует процесс ресуспендирования магнитных частиц. Поместите 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.

8. Хранение и стабильность интегрального картриджа реактивов

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено.

- 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.
- Храните картридж вдали от прямого солнечного света.

9. Подготовка исследуемого материала

Сыворотка или плазма. ЭДТА 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 гемолизованные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузыри с ее поверхности.

Стабильность: 48 часов 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. 13 проб с различной реактивностью были 5 раз заморожены-разморожены. Полученные результаты существенно не отличались друг от друга.

Предупреждение: концентрация антител к кардиолипинам может возрасти (на 10% дозы) при хранении пробы более 48 часов при температуре 2-8°C.

Рекомендуется провести исследование пробы сразу же после загрузки ее в анализатор.

Исследование шести отрицательных проб, хранившихся на борту анализатора, показало следующее возрастание концентрации:

- после 4 дней на борту (комнатная температура) среднее значение возросло от 3,0 до 5,2 GPL E/мл (+21% от сигнала, +71% от дозы; максимальное значение возросло от 3,9 до 8,2 GPL E/мл).
 - после 7 дней на борту (комнатная температура) среднее значение возросло от 3,0 до 9,8 GPL E/мл (+104% от сигнала, +208% от дозы; максимальное значение возросло от 3,9 до 18 GPL E/мл).
- Минимально необходимый объем 160 μ л (10 μ л на исследование + 150 μ л мертвый объем).

10. Калибровка

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

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов (Starter Kit).
- Прошло более 2 недель с момента последней калибровки.
- Каждый раз при работе с новым лотом реагентов.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

11. Процедура анализа

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. В случае неполадок сканера штрих-кодов или повреждения штрих-кода информация об интеграле должна быть введена вручную (см. Инструкцию по применению реактивов «LIAISON®»).

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание магнитных частиц в кюветы реакционного модуля (20 мкл).
2. Добавление раствора для разведения образцов (до конечного объема 450 мкл).
3. Добавление калибраторов, контролей (по 240 мкл) или проб (10 мкл).
4. Инкубация (10,5 мин).
5. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
6. Добавление конъюгата (210 мкл).
7. Инкубация (10,5 мин).
8. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
9. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции (3 сек).

12. Контроль качества

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль LIAISON® Cardiolipin IgG Control (кат. № 310371):

- 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 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 концентрацию IgG к кардиолипидам в GPL (G phospholipids) E/мл. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя.

Измеряемый диапазон: 2-280 GPL E/мл.

В качестве порогового значения, обеспечивающего наилучшую дифференциацию пациентов, страдающих антифосфолипидным синдромом, было использовано значение, предложенное в 2006 г. в Сиднее на 11-м

Международном Конгрессу, посвященном антифосфолипидным антителам. Значение концентрации, равное 40 GPL Е/мл, наилучшим образом отражает риск клинических проявлений и учитывает тот факт, что многие расстройства сопровождаются низкими положительными значениями концентрации антител.

Пробы с концентрацией IgG к кардиолипинам ниже 20 GPL Е/мл должны расцениваться, как отрицательные. Пробы с концентрацией IgG к кардиолипинам от 20 до 39,9 GPL Е/мл должны расцениваться, как низко положительные.

Пробы с концентрацией IgG к кардиолипинам от 40 до 79,9 GPL Е/мл должны расцениваться, как умеренно положительные.

Пробы с концентрацией IgG к кардиолипинам равной или большей 80 GPL Е/мл должны расцениваться, как высоко положительные.

Отрицательный результат обычно свидетельствует о том, что в кровотоке пациента отсутствуют антитела к кардиолипинам.

Низкие концентрации IgG к кардиолипинам наблюдаются у больных системной красной волчанкой и другими аутоиммунными заболеваниями, не имеющих признаков тромбоза или выкидышей. Ретроспективные исследования показали, что концентрации антител к кардиолипинам от умеренных до высоких более строго ассоциированы с антифосфолипидным синдромом.

Внимание: результаты, полученные с использованием набора реактивов LIAISON® Cardioliipin IgG, нельзя интерпретировать вместе с результатами, полученными на наборах других производителей.

14. Стандартизация против препарата IgG Саппоро(НСАL).

В рамках дальнейших шагов после 11-го Международного Конгресса, посвященного антифосфолипидным антителам, стандарт Саппоро (НСАL) был рекомендован в качестве международного стандарта контроля качества IgG к кардиолипинам. Стандарт Саппоро состоит из химерных мышинных моноклональных IgG, продуцируемых пролиферирующей клеточной линией, и доступен для приобретения; концентрация антител в $\mu\text{г/мл}$ приводится на этикетке флакона.

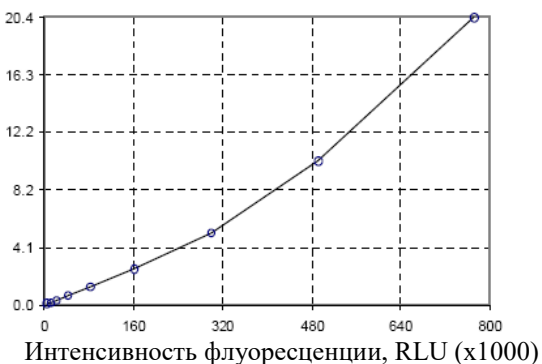
Для сравнения величин концентрации антител к кардиолипинам, выраженной в GPL Е/мл (LIAISON) и $\mu\text{г/мл}$ (стандарт Саппоро), было проведено исследование, результаты которого приводятся ниже. Со стандартом НСАL обращались так же, как и с пробами; для исследования был приготовлен ряд разведений от 1:2 до 1:256.

Каждая проба была исследована в нескольких повторах с использованием реактивов с разными номерами серий.

Полученные результаты не являются таблицей пересчета результатов, выраженных в GPL Е/мл, в значения, выраженные в $\mu\text{г/мл}$.

| GPL Е/мл | Стандарт Саппоро, $\mu\text{г/мл}$ |
|----------|---------------------------------------|
| 5 | 0,014 |
| 10 | 0,027 |
| 15 | 0,04 |
| 20 | 0,055 |
| 30 | 0,106 |
| 40 | 0,171 |
| 60 | 0,441 |
| 80 | 0,642 |
| 100 | 0,809 |
| 150 | 1,422 |
| 200 | 2,106 |
| 280 | 3,111 |

| Разведение | Стандарт Саппоро, $\mu\text{г/мл}$ | Среднее интенсивности флуоресценции |
|------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | 20,40 | 769,894 |
| 1:2 | 10,20 | 491,466 |
| 1:4 | 5,10 | 299,140 |
| 1:8 | 2,55 | 162,250 |
| 1:16 | 1,28 | 81,781 |
| 1:32 | 0,64 | 42,004 |
| 1:64 | 0,32 | 21,366 |
| 1:128 | 0,16 | 10,963 |
| 1:256 | 0,08 | 5,702 |



15. Ограничения

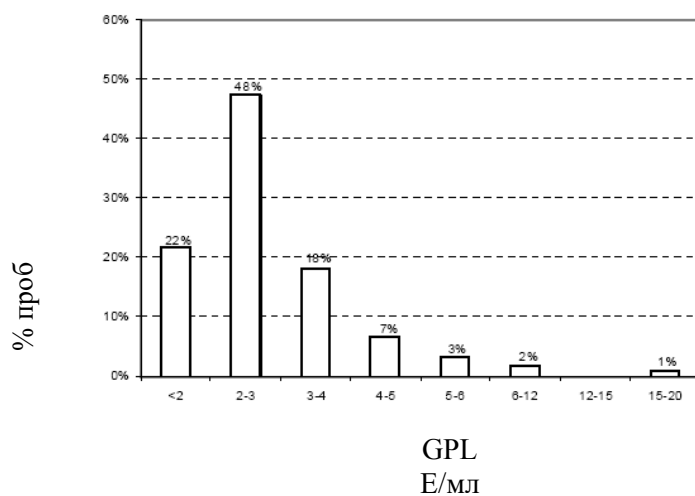
- Реагенты должны использоваться только на борту анализатора LIAISON.
- Отдельные компоненты картриджа не должны извлекаться из него.
- Реагент не должен использоваться после истечения срока годности.
- Недостоверные результаты исследований могут быть получены в случае нарушения правил забора и хранения образцов.
- Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов.
- Бактериальная контаминация или нагревание пробы могут повлиять на результат исследования.
- Диагностика антифосфолипидного синдрома не должна основываться только на определении антител к кардиолипинам. Низко положительные результаты могут наблюдаться у пациентов, страдающих системной красной волчанкой и другими аутоиммунными заболеваниями, так же как и у больных с широким спектром других нарушений, не сопровождающихся тромбозом или прерыванием беременности. Определение волчаночного антикоагулянта или антител к β_2 -гликопротеину I является другим достоверным лабораторным критерием. При окончательной постановке диагноза результаты всегда следует рассматривать вместе с данными истории болезни и другими диагностическими исследованиями.
- Наличие антифосфолипидного синдрома сомнительно, если клинические симптомы проявляются после менее 12 недель или более 5 лет от момента получения положительного результата теста на антитела к фосфолипидам. Временный синтез антифосфолипидных антител как вторичное явление, что нередко наблюдается в клинической практике, может привести к ошибочной трактовке результатов. Повторяемость положительного результата – важное условие: в случае, если результат однократного определения антител к кардиолипинам положителен, необходимо провести повторный забор крови через подходящий интервал времени.
- У серопозитивных по сифилису пациентов или больных в активной фазе заболевания может наблюдаться повышенное количество IgG к кардиолипинам. Для подтверждения специфичности результата необходимо провести дополнительные серологические исследования, позволяющие исключить сифилис.

16. Ожидаемые значения.

Все приведенные ниже данные могут быть использованы только в качестве ориентировочных.

Негативная популяция.

120 случайным образом выбранных доноров крови были протестированы с использованием набора LIAISON® Cardiolipin IgG. Полученные значения распределились следующим образом (см. график ниже): 99%-я перцентиль составила 10,4 GPL Е/мл, максимальное значение – 16,6 GPL Е/мл. Данные результаты отражают только исследованную популяцию, поэтому могут использоваться только в качестве ориентировочных. В соответствии с общепринятой лабораторной практикой каждая лаборатория должна установить собственные референсные значения, отражающие их типовую популяцию.



16.2. Клиническая популяция

Исследование 1. Первоначальная оценка диагностической чувствительности была проведена путем тестирования 35 проб пациентов, страдающих первичным антифосфолипидным синдромом, и 35 проб пациентов с вторичным антифосфолипидным синдромом, сопровождающимся системной красной волчанкой. Параллельно с набором LIAISON® Cardiolipin IgG для тестирования проб был использован коммерчески доступный набор ACA IgGELISA.

Четыре отрицательных и 66 положительных результатов было получено в популяции пациентов, страдающих антифосфолипидным синдромом, с использованием набора LIAISON® Cardiolipin IgG, тогда как результаты, полученные в той же популяции с помощью набора ACA IgG ELISA, распределились следующим образом: 8 отрицательных, 3 сомнительных и 59 положительных. Диагностическая чувствительность составила 94,3% (95% доверительный интервал: 86-98,4%).

| LIAISON® Cardiolipin IgG | Количество проб (%) | 95% доверительный интервал | ACA IgG ELISA | Количество проб (%) | 95% доверительный интервал |
|---|---------------------|----------------------------|---|---------------------|----------------------------|
| Отрицательные результаты (<20 GPL Е/мл) | 4/70 (5,7%) | 1,6-14,0 | Отрицательные результаты (<15 GPL Е/мл) | 8/70 (11,4%) | 5,1-21,3 |
| Положительный результат (≥20 GPL Е/мл) | 66/70 (94,3%) | 86,0-98,4 | Сомнительный результат (15-20 GPL Е/мл) | 3/70 (4,3%) | 8,9-12,0 |
| | | | Положительный результат (≥20 GPL Е/мл) | 59/70 (84,3%) | 73,6-91,9 |
| 0-20 GPL Е/мл | 4/70 (5,7%) | 1,-14,0 | 0-20 GPL Е/мл | 11/70 (15,7%) | 1,2-32,8 |
| 20-40 GPL Е/мл | 2/70 (2,9%) | | 20-40 GPL Е/мл | 15/70 (21,4%) | 12,5-32,9 |
| 40-80 GPL Е/мл | 0/70 (0%) | 0,4-10,0 | 40-80 GPL Е/мл | 20/70 (28,6%) | 18,4-40,6 |
| >80 GPL Е/мл | 64/70 (91,4%) | 82,2-96,8 | >80 GPL Е/мл | 24/70 (34,3%) | 23,4-46,6 |

Исследование 2. Первая популяция была сформирована из 200 проб, полученных из ревматологического центра от пациентов с подозрением на антифосфолипидный синдром, и была исследована с использованием набора LIAISON® Cardiolipin IgG и доступных на рынке наборов ACA IgG ELISA.

Первоначальный результат, с использованием в качестве порогового значения 20 GPL Е/мл приведен в таблице 1. Согласно результатам, полученные с помощью двух из трех CE-маркированных ELISA наборов, были использованы для объяснения 12 противоречивых результатов (6,0%; 95% доверительный интервал: 3,1-10,2%). Окончательные результаты сведены в таблице 2.

Из семи проб, отрицательных по тесту LIAISON и слабopоложительных по тесту ELISA, две были классифицированы как отрицательные, четыре как положительные и одна осталась сомнительной.

Из семи проб, отрицательных по тесту LIAISON и сомнительных по тесту ELISA, пять были классифицированы как отрицательные и две остались сомнительными.

Из двух проб, положительных по тесту LIAISON и отрицательных по тесту ELISA, одна проба была классифицирована как отрицательная и одна осталась сомнительной.

Следовательно, четыре пробы остались сомнительными, и потому не были включены в приведенные данные.

Таблица 1. Первоначальные результаты

| LIAISON Cl IgG | ACA IgG ELISA | | | Итого |
|----------------|---------------|---|----|------------|
| | - | ± | - | |
| - | 169 | 7 | 7 | 183 |
| + | 2 | 0 | 15 | 17 |
| Итого | 171 | 7 | 22 | 200 |

Таблица 2. Данные после объяснения сомнительных результатов

| LIAISON Cl IgG | ACA IgG ELISA без сомнительных | | | Итого |
|----------------|--------------------------------|---|----|------------|
| | - | ± | - | |
| - | 176 | 3 | 4 | 183 |
| + | 1 | 1 | 15 | 17 |
| Итого | 177 | 4 | 19 | 200 |

| Согласование | Кол-во | % | 95% Дов. ин. |
|---|---------|------|--------------|
| Согласование по отрицательным результатам | 169/171 | 98,8 | 95,8-99,9 |
| Согласование по положительным результатам | 15/22 | 68,2 | 45,2-86,1 |
| Суммарно | 184/200 | 92,0 | 87,4-95,4 |

| Согласование | Кол-во | % | 95% Дов. ин. |
|---|---------|------|--------------|
| Согласование по отрицательным результатам | 176/177 | 99,4 | 96,9-100 |
| Согласование по положительным результатам | 15/19 | 78,9 | 54,4-94,0 |
| Суммарно | 191/196 | 97,4 | 94,1-99,2 |

Исследование 3. Вторая популяция была сформирована из 260 проб, полученных из большой лаборатории в результате скрининговых исследований пациентов с подозрением на антифосфолипидный синдром, и была исследована с использованием набора LIAISON® Cardiolipin IgG и доступных на рынке наборов ACA IgG ELISA. Первоначальный результат, с использованием в качестве порогового значения 20 GPL Е/мл приведен в таблице 3. Сопасающиеся результаты, полученные с помощью двух из трех СЕ-маркированных ELISA наборов, были использованы для объяснения 5 противоречивых результатов (1,9%; 95% доверительный интервал: 0,6-4,4%). Окончательные результаты сведены в таблице 4.

Из трех проб, отрицательных по тесту LIAISON и сомнительных по тесту ELISA, одна была классифицирована как положительная и две остались сомнительной.

Одна проба, положительная по тесту LIAISON и отрицательная по тесту ELISA, была классифицирована как положительная.

Одна проба, положительная по тесту LIAISON и сомнительная по тесту ELISA, осталась сомнительной. Следовательно, три пробы остались сомнительными и потому не были включены в приведенные данные.

Таблица 3. Первоначальные результаты

| | | ACA IgG ELISA | | | Итого |
|---------|---|---------------|---|---|------------|
| | | - | ± | - | |
| LIAISON | - | 252 | 3 | 0 | 255 |
| CI IgG | + | 1 | 1 | 3 | 5 |
| Итого | | 253 | 4 | 3 | 260 |

Таблица 4. Данные после объяснения сомнительных результатов

| | | ACA IgG ELISA без сомнительных | | | Итого |
|---------|---|--------------------------------|---|---|------------|
| | | - | ± | - | |
| LIAISON | - | 252 | 2 | 1 | 255 |
| CI IgG | + | 0 | 1 | 4 | 5 |
| Итого | | 252 | 3 | 5 | 260 |

| Согласование | Кол-во | % | 95% Дов. ин. |
|---|---------|-------|--------------|
| Согласование по отрицательным результатам | 252/253 | 99,6 | 97,8-100,0 |
| Согласование по положительным результатам | 3/3 | 100,0 | 29,2-100,0 |
| Суммарно | 255/260 | 98,1 | 95,6-99,4 |

| Согласование | Кол-во | % | 95% Дов. ин. |
|---|---------|-------|--------------|
| Согласование по отрицательным результатам | 252/252 | 100,0 | 98,6-100,0 |
| Согласование по положительным результатам | 4/5 | 80,0 | 28,4-99,5 |
| Суммарно | 256/257 | 99,6 | 97,8-100,0 |

17. Ожидаемые значения.

17.1. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность может быть определена как способность анализа точно определять специфический аналит в присутствии потенциально мешающих факторов в матрице образца (например, антикоагулянты, гемолиз, эффекты обработки образца) или перекрестно-реактивные антитела.

Интерференция. Контролируемые исследования потенциально мешающих веществ или состояний показали, что на эффективность анализа не влияли антикоагулянты (ЭДТА, гепарин), гемолиз (до 1000 мг / дл гемоглобина), липемия (до триглицеридов до 3000 мг / дл), билирубинемия (до 20 мг / дл билирубина) или циклами замораживания-оттаивания образцов. Однако по практическим причинам образцы с высокой степенью гемолиза или липемии не следует тестировать.

Перекрестные реакции. Как правило, наличие потенциально перекрестно-реактивных антител не влияет на анализ.

Исследованные популяции образцов были: (а) 15 образцов, положительных на иммуноглобулины, специфичные для аутоиммунных заболеваний; (б) 20 образцов, полученных от пациентов с ревматическими заболеваниями; (с) 49 образцов, положительных по тесту Rapid Plasma Reagin (RPR), содержащих иммуноглобулины, специфичные для *Treponema pallidum*; (d) 60 образцов, положительных на иммуноглобулины к различным инфекционным агентам, таким как hCMV, EBV, VZV, HSV-1/2, вирус краснухи, *Toxoplasma gondii*, *Borrelia burgdorferi*. Все вышеупомянутые потенциально перекрестно-реактивные образцы были оценены как отрицательные, за исключением одного положительного по тесту RPR (1/49, 2%), который был оценен как низкий положительный по тесту LIAISON® Cardiolipin IgG.

17.2 Точность

Различные образцы, содержащие различные концентрации конкретного аналита, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости анализа (то есть изменчивости в пределах и между анализами). Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между лабораториями и местоположениями.

Повторяемость. Двадцать повторов были выполнены в одном прогоне для оценки внутренней повторяемости.

| Повторяемость | A | B | C | D | E | Отрицательный контроль | Положительный контроль |
|-----------------------------------|------|------|------|-------|-------|------------------------|------------------------|
| Число определений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее значение (GPL E/мл) | 3.3 | 73.2 | 84.2 | 151.3 | 237.8 | 4.0 | 75.9 |
| Стандартное отклонение (GPL E/мл) | 0.27 | 2.29 | 4.18 | 4.05 | 17.98 | 0.22 | 5.73 |
| Коэффициент вариации (%) | 8.4 | 3.1 | 5.0 | 2.7 | 7.6 | 5.4 | 7.6 |
| Минимальное значение (GPL E/мл) | 2.9 | 65.7 | 75.8 | 142.0 | 167.0 | 3.5 | 67.7 |
| Максимальное значение (GPL E/мл) | 3.9 | 76.8 | 91.0 | 158.0 | 256.0 | 4.3 | 85.0 |

Воспроизводимость. Двадцать повторов были выполнены в разные дни (один или два прогона в день) с тремя различными партиями интеграла для оценки воспроизводимости. Испытания проводились на двух площадках, дома (участок 1) и в независимой лаборатории (участок 2) с использованием одних и тех же инструментов.

| Воспроизводимость – участок 1 | F | G | H | I | J | Отрицательный контроль | Положительный контроль |
|---------------------------------------|------|------|-------|-------|-------|------------------------|------------------------|
| Лот 1 | | | | | | | |
| Число определений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее значение (GPL E/мл) | 3.9 | 4.4 | 87.7 | 126.8 | 199.0 | 2.6 | 77.7 |
| Стандартное отклонение (GPL E/мл) | 0.80 | 1.23 | 10.85 | 14.91 | 40.28 | 0.51 | 5.67 |
| Коэффициент вариации (%) | 20.5 | 27.9 | 12.4 | 11.8 | 20.2 | 20.2 | 7.3 |
| Минимальное значение (GPL E/мл) | 3.0 | 2.9 | 67.0 | 98.9 | 144.4 | 1.7 | 65.5 |
| Максимальное значение (GPL E/мл) | 5.6 | 6.6 | 108.9 | 153.5 | 267.0 | 3.9 | 86.0 |
| Лот 2 | | | | | | | |
| Число определений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее значение (GPL E/мл) | 3.9 | 4.4 | 94.6 | 127.2 | 209.6 | 2.6 | 62.4 |
| Стандартное отклонение (GPL E/мл) | 0.58 | 1.48 | 5.91 | 11.53 | 26.55 | 0.70 | 3.89 |
| Коэффициент вариации (%) | 15.0 | 33.7 | 6.3 | 9.1 | 12.7 | 26.7 | 6.2 |
| Минимальное значение (GPL E/мл) | 3.2 | 2.3 | 83.2 | 105.8 | 171.8 | 1.9 | 52.9 |
| Максимальное значение (GPL E/мл) | 5.1 | 8.0 | 103.0 | 151.0 | 259.0 | 4.9 | 68.4 |
| Лот 3 | | | | | | | |
| Число определений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее значение (GPL E/мл) | 5.2 | 5.8 | 88.2 | 129.2 | 222.9 | 4.4 | 75.2 |
| Стандартное отклонение (GPL E/мл) | 1.21 | 1.55 | 9.33 | 16.91 | 39.07 | 1.51 | 5.61 |
| Коэффициент вариации (%) | 23.0 | 26.5 | 10.6 | 13.1 | 17.5 | 34.5 | 7.5 |
| Минимальное значение (GPL E/мл) | 3.3 | 3.3 | 71.1 | 105.0 | 171.9 | 3.0 | 59.0 |
| Максимальное значение (GPL E/мл) | 7.1 | 10.0 | 109.0 | 160.0 | 277.0 | 8.9 | 84.0 |
| Коэффициент вариации между лотами (%) | 17.3 | 16.6 | 4.3 | 1.0 | 5.7 | 32.5 | 11.4 |

| Воспроизводимость – участок 2 | A | B | C | D | E |
|-----------------------------------|------|-------|-------|------|------|
| Число определений | 20 | 19 | 18 | 20 | 20 |
| Среднее значение (GPL E/мл) | 61.0 | 127.4 | 202.2 | 1.1 | 61.1 |
| Стандартное отклонение (GPL E/мл) | 7.08 | 17.46 | 36.39 | 0.31 | 6.94 |
| Коэффициент вариации (%) | 11.6 | 13.7 | 18.0 | 28.6 | 11.4 |
| Минимальное значение (GPL E/мл) | 45.3 | 88.0 | 147.0 | 0.5 | 53.4 |
| Максимальное значение (GPL E/мл) | 76.9 | 154.0 | 277.0 | 1.8 | 75.8 |

17.3. Перенос

Эффект переноса был исследован путем тестирования пяти отрицательных образцов до и после четырех высоко положительных образцов с оценкой выше диапазона измерения. Полученные результаты показывают, что при использовании анализатора LIAISON® перенос не наблюдается.

17.4. Эффект высокой дозы насыщения

Всякий раз, когда тестируются образцы, содержащие чрезвычайно высокие концентрации антител, эффект насыщения может имитировать концентрации ниже реальных. Однако хорошо оптимизированный двухэтапный метод исключает сильно заниженные результаты, поскольку аналитические сигналы остаются стабильно высокими (кривая насыщения).

Анализ эффекта насыщения оценивали путем тестирования двух образцов с высоким титром, положительных по шкале IgG кардиолипина, выше диапазона измерений. Все образцы привели к оценочным значениям концентрации выше диапазона измерений, которые можно было бы ожидать с сыворотками с высоким титром, что указывает на отсутствие ошибочной классификации образцов.