



LIAISON® EBV IgM (310500)
IgM к антигенам оболочки вируса Эпштейн-Барр

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение специфических IgM к антигенам оболочки вируса Эпштейн-Барр (BAO, VCA) в человеческой сыворотке или плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки LIAISON®.

Использовать только для “*in vitro*” диагностики.

2. ВВЕДЕНИЕ

Вирус Эпштейн-Барр (ВЭБ), относящийся к семейству герпесвирусов, является причиной инфекционного мононуклеоза и участвует в развитии лимфомы Беркитта, носоглоточной карциномы и X-сцепленного лимфопролиферативного синдрома. Благодаря своему повсеместному распространению вирус поражает около 95% людей по всему миру до периода полового созревания. ДНК ВЭБ представляет собой двухцепочечную молекулу длиной примерно 172 килобазы.

Основной путь передачи ВЭБ пероральный. Репликация ВЭБ происходит в ротоглоточном эпителии и заканчивается выходом вирионов из инфицированных В-лимфоцитов с последующим попаданием вирусных частиц в слюну. В детском возрасте первичная ВЭБ инфекция часто протекает бессимптомно. Заражение вирусом в юношеском и более позднем возрасте приводит к развитию инфекционного мононуклеоза у большинства людей. После первичного инфицирования ВЭБ сохраняется в организме в латентном состоянии.

Диагностика инфекционного мононуклеоза основана на клинических симптомах (к которым обычно относятся ангина, лихорадка, лимфоаденопатия и недомогание) в комбинации с гематологическими (лимфоцитоз) и серологическими (наличие гетерофильных антител и/или антител к специфическим белкам ВЭБ) признаками.

Клинические симптомы, характерные для инфекционного мононуклеоза, могут вызываться и другими патогенными инфекционными агентами, в том числе цитомегаловирусом, токсоплазмой, вирусами гепатита, вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и другими. Термин инфекционный мононуклеоз часто выставляется до того, как будет выявлен специфический этиологический агент. Для подтверждения диагноза острого ВЭБ-индуцированного инфекционного мононуклеоза обычно используется положительный результат теста на наличие гетерофильных антител (агглютинация сыворотки пациента с эритроцитами лошади или овцы). Однако, в случае отрицательного результата анализа на гетерофильные антитела и/или появления атипичной клинической картины, возникают сложности в постановке диагноза.

Инфекционный мононуклеоз, отрицательный по тесту на гетерофильные антитела, был обнаружен у 10-20% взрослых и у даже большего количества детей, больных острым инфекционным мононуклеозом. В этом случае для подтверждения диагноза возможно проведение анализа на наличие антител к специфическим белковым антигенам ВЭБ, к которым относятся антиген оболочки вируса (BAO, VCA) и ранний диффузный антиген (РА, EA). Присутствие в крови пациента IgM к BAO позволяет выявить острый инфекционный мононуклеоз. Однако для подтверждения диагноза необходимо провести анализ на наличие других серологических маркеров, таких как IgG к РА или преобладание IgG или IgM к ядерному антигену 1 (ЭБЯА-1, EBNA-1) в сочетании с клиническими данными. Пробы, отрицательные по тесту на наличие гетерофильных антител, положительные на наличие IgM к BAO и транзиторные IgG к РА считаются диагностическими показателями острого инфекционного мононуклеоза.

Серологическое исследование на наличие маркеров инфекции ВЭБ возможно благодаря характерной, зависящей от времени, картине иммунного ответа. Текущая острая инфекция ВЭБ серологически определяется по раннему появлению в крови IgM к BAO с последующим снижением их количества до неопределяемого уровня. Почти одновременно с появлением IgM в крови появляются IgG к BAO. У большинства (>80%) пациентов с симптомами инфекционного мононуклеоза при первичном исследовании выявляются близкие к пиковым значениям количества IgG и IgM к BAO. IgM к BAO обычно исчезают из крови через 2-3 месяца после начала болезни, тогда как IgG обычно циркулируют в крови пациента пожизненно. У большинства пациентов антитела к РА периодически обнаруживаются в крови, тогда как IgG к ядерному антигену вируса Эпштейн-Барр (ЭБЯА-1, EBNA-1) обнаруживаются в крови спустя несколько недель или месяцев после начала болезни и персистируют годами или даже в течение всей жизни. У пациентов с симптомами инфекционного мононуклеоза выявление IgG к ЭБЯА-1 наряду с обнаружением IgM и IgG к BAO помогает отличить стадию ранней реконвалесценции от острых периода мононуклеоза. Повышение уровня IgG к ЭБЯА-1 у пациентов с инфекционным мононуклеозом может свидетельствовать о переходе стадии заболевания из периода ранней реконвалесценции в период поздней. Возрастание количества IgG к BAO указывает на острую фазу инфекции, тогда как увеличение количества IgM к BAO может свидетельствовать о переходе от ранней стадии заболевания к острой фазе. Аналогичным образом, снижение количества IgM к BAO может свидетельствовать о переходе от острой фазы к ослаблению инфекции. Наличие IgG к ЭБЯА у здоровых людей указывает на контакт с ВЭБ в прошлом; тогда как наличие IgG к BAO может свидетельствовать как о латентной первичной инфекции, так и о контакте с вирусом в прошлом.

По причине того, что между реакцией организма на инфекцию ВЭБ и клиническими проявлениями существует сложная взаимосвязь, оценка картины иммунного статуса по ВЭБ может помочь в диагностике инфекции ВЭБ. Индивидуальное содержание специфических антител не позволяет определить выраженность заболевания, существенное значение имеет временной профиль содержания всех антител к ВЭБ. Каждая стадия и форма инфекции характеризуется индивидуальными профилями иммунного ответа на различные антигены ВЭБ, что позволяет отличить латентную первичную инфекцию от персистирующей латентной инфекции ВЭБ и т.д.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения специфических IgM к ВАО ВЭБ представляет собой непрямой хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Синтетический полипептид p18 является основным компонентом, используемым для покрытия магнитных микрочастиц (твердая фаза), мышинные моноклональные антитела к IgM человека мечены производным изолюминола (конъюгат антител с изолюминолом). Во время первой инкубации антитела к ВАО ВЭБ, находящиеся в калибраторах, образцах или контролях, связываются с твердой фазой. Во время второй инкубации антитела конъюгата связываются с IgM к ВАО ВЭБ, зафиксированными на твердой фазе. После каждой инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки.

Затем к реакционной смеси добавляются запускающие реактивы, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, а следовательно и количество конъюгатов антител с изолюминолом, измеряется с помощью фотомножителя в относительных единицах интенсивности и отражает концентрацию IgM к ВАО ВЭБ в калибраторах, контролях или пробах. Буфер А содержит козы IgG к человеческим IgG и играет роль абсорбирующего реагента для снижения интерференции с человеческими IgG к ВАО ВЭБ или ревматоидным фактором.

4. СОСТАВ НАБОРА

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые ВАО ВЭБ; БСА; фосфатный буфер; <0,1% азид натрия.
Калибратор 1 (0,55 мл)	Человеческая сыворотка/плазма, содержащая низкую концентрацию IgM к ВАО ВЭБ; БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; инертный краситель (желтый). Концентрация калибратора (Е/мл) подтверждена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Калибратор 2 (0,55 мл)	Человеческая сыворотка/плазма, содержащая высокую концентрацию IgM к ВАО ВЭБ; БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; инертный краситель (синий). Концентрация калибратора (Е/мл) подтверждена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Буфер А (25 мл)	Козы IgG к человеческим IgG (абсорбирующий реагент); козы сыворотка; БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; инертный краситель (синий).
Конъюгат (23 мл)	Мышинные моноклональные антитела к человеческим IgM, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолюминолом); неспецифические мышинные моноклональные IgG; БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300.
Количество тестов	100

Все реагенты готовы к использованию. Расположение реагентов в таблице отражает расположение контейнеров в картридже с реактивами.

Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализаторы LIAISON® XL	Анализаторы 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) Набор растворов для обслуживания игл дозаторов и мощной станции (каталожный номер 310995).	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

Контроль IgM к ВАО ВЭБ (положительный и отрицательный) (каталожный номер 310501)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Только для *In vitro* диагностики.

Все образцы человеческой сыворотки и плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита В (HBsAg), вирусу гепатита С (anti-HCV), ВИЧ 1 и ВИЧ 2 (anti-HIV-1, anti-HIV-2), и были признаны серонегативными. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с образцами, как с потенциально инфицированными.

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 0,5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.

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

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

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

РЕАГЕНТЫ:	[CAL], [CONJ], [BUFA]
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 [EC № 247-500-7] и 2-метил-2Н -изотиазол-3-он [EC № 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

В соответствии с Положением ЕС 1272/2008 (CLP - классификация, маркировка и упаковка) [SORB] маркируется как EUH210; по запросу доступны паспорта безопасности.

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

7. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

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

Ресуспендирование магнитных частиц

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

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

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

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

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов. Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

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

Установка интеграла в область загрузки реактивов Анализатор

LIAISON®

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

Анализатор LIAISON® XL

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

а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.

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

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

ресуспендирует магнитные частицы за это время.

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

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 **8 недель** при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора.

9. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Используется сыворотка или плазма. Цитрат, ЭДТА и гепарин могут быть использованы в качестве антикоагулянтов. Кровь должна быть взята методом венипункции. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и осколками 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 из нее все пузыри воздуха.

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 хорошо перемешать. 4 пробы с различной реактивностью хранились 7 дней при температуре 2-8°C, после чего были 5 раз заморожены-разморожены. Полученные результаты существенно не отличались друг от друга.

Минимально необходимый объем: 170 µл (20 µл на исследование + 150 µл мертвого объема).

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.
- Прошло более 4 недель с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Анализатор LIAISON®: значения концентраций калибратора содержатся в штрих-коде интеграла.

Анализатор LIAISON® XL: значения концентраций калибратора содержатся в радиочастотной метке.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

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

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

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

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

Внимание: необходимо выполнять обслуживание анализатора LIAISON® XL при помощи набора растворов для обслуживания (каталожный номер 310995). Подробности в инструкции по использованию набора растворов для обслуживания анализатора LIAISON® XL.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль LIAISON® Rubella IgM Control (кат.№ 310731):

- 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 IgM к ВАО ВЭБ в Е/мл (единицах в миллилитре). За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя.

Результаты измерений калибраторов и контролей анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL в относительных световых единицах (RLU) или концентрационных единицах могут различаться, но результаты анализов проб пациентов будут одинаковыми

Измеряемый диапазон: 10-160 Е/мл IgM к ВАО ВЭБ.

Пробы с концентрацией антител выше верхнего предела измеряемого диапазона могут быть автоматически разведены анализатором с помощью функции Dilute (разведение) и исследованы повторно (рекомендуемый фактор разведения 1:10). Полученный результат будет автоматически умножен на фактор разведения. Количество раствора для разведения образцов в интеграле достаточно для 14 предварительных разведений (помимо того количества раствора для разведения образцов, которое требуется для проведения теста, как такового).

Пробы с концентрацией IgM к ВАО ВЭБ ниже 20 Е/мл должны расцениваться, как отрицательные.

Пробы с концентрацией IgM к ВАО ВЭБ от 20 до 40 Е/мл должны расцениваться, как сомнительные («серая зона»).

Пробы с концентрацией IgM к ВАО ВЭБ выше 40 Е/мл должны расцениваться, как положительные.

Положительный результат свидетельствует о недавней инфекции. Отрицательный результат, однако, не всегда позволяет исключить острую инфекцию. Если, несмотря на отрицательный результат, остается подозрение о возможности инфицирования, необходимо провести повторное исследование пробы через 1-2 недели на предмет значительного увеличения количества IgM или IgG к ВАО ВЭБ, что является показателем первичной инфекции. Неопределенный результат может указывать как на первичную инфекцию ВЭБ, так и на прошедшую инфекцию с персистирующими IgM. Для клинической интерпретации результатов необходимо провести дополнительные серологические исследования.

Специфические IgM обычно обнаруживаются в крови пациентов с недавней первичной инфекцией, но также могут обнаруживаться и у пациентов с реактивацией инфекции. Однако низкие титры IgM к ВАО ВЭБ могут определяться и у пациентов без клинических проявлений недавней инфекции (например, активная хроническая инфекция ВЭБ).

Не рекомендуется использовать результат одного теста для постановки диагноза на наличие инфекции. При постановке диагноза результаты всегда следует рассматривать вместе с данными истории болезни и другими диагностическими исследованиями.

Параллельное определение ВАО ВЭБ IgG, ЭБЯА IgG и ВАО ВЭБ IgM позволяет более точно определить разные фазы заболевания. При работе со всей линейкой доступных тестов на наличие ВЭБ можно использовать различные пределы исследований для корректного определения ЭБЯА IgG и ВАО ВЭБ IgM.

ВАО ВЭБ IgM (EBV IgM) (Е/мл)	ВАО ВЭБ IgG (VCA IgG) (Е/мл)	ЭБЯА IgG (EBNA IgG) (Е/мл)	Интерпретация
< 20	<20	<20	Нет инфекции
≥20	<20	<20	Предполагаемая первичная инфекция (ранняя фаза)
>20	>20	<20	Первичная инфекция (острая фаза)
>40	>20	>20	Первичная инфекция (транзиторная фаза)
<40	>20	>20	Прошедшая инфекция или реактивация
<20	>20	>5	Прошедшая инфекция или реактивация
<20	>20	<5	Неразрешенная инфекция
Другие результаты			неизвестно

14. ОГРАНИЧЕНИЯ

Рекомендуется комбинированное использование серологических маркеров ВЭБ и клинических данных в случае постановки диагноза острой фазы ВЭБ основанного на одном образце. Нельзя ставить диагноз, основываясь на одном результате.

Аналитические характеристики совместного использования любого из исследований LIAISON® EBV и тестовыми наборами других производителей для выявления специфических серологических маркеров ВЭБ не выяснялись. В этом случае пользователи сами несут ответственность за создания собственных характеристик.

Правильное использование и строгое следование инструкции необходимы для получения достоверных результатов.

Бактериальная контаминация или нагревание пробы могут повлиять на результат исследования.

Запрещается обмениваться интегралами между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца. Запрещается оценивать динамику концентрации по результатам, полученным на разных типах анализаторов. Такие измерения должны быть выполнены на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

15.1 Аналитическая специфичность.

Аналитическая специфичность это способность в ходе выполняемого анализа правильно определять наличие специфического анализата в присутствии потенциально интерферирующих факторов в составе пробы (например: антикоагулянтов, гемолиза, последствий лечения) или перекрестных антител.

Интерференция. Проведенные исследования показали, что такие факторы, как присутствие антикоагулянтов (ЭДТА калий, цитрат натрия, гепарин натрия и лития), гемолиза (до 1000 мг/дл гемоглобина), липемии (до 3000 мг/дл триглицеридов), билирубинемии (до 20 мг/дл) и замораживание-оттаивание образцов не влияют на результат исследования.

Перекрестная реактивность. Как правило, наличие в пробе потенциально кросс-реактивных антител не влияет на результат. Были исследованы следующие антитела: (а) иммуноглобулины к различным источникам инфекции – таким как, чЦМВ, вирус краснухи, парвовирус В19, *Toxoplasma gondii*, HSV, HBV, HAV, *Treponema pallidum*, VZV, вирусы кори и паротита, *Borrelia burgdorferi*, вирусы гриппа или – (б) антиядерные антитела и антитела к ревматоидному фактору. Пробы, использованные в исследовании, были предварительно проанализированы другими коммерчески доступными анализаторами на наличие специфических IgM к ВЭБ. Отрицательные пробы на антитела IgM к ВЭБ дополнительно изучались на кросс-реактивность.

Наличие IgM антител	Кол-во отрицательных проб	Сомнительные результаты LIAISON®
парвовирус В19	70	7
вирус краснухи	130	14
<i>Toxoplasma gondii</i>	135	0
HAV	66	1
HBc	33	1
чЦМВ	44	2
HSV ½	15	0
Вирус гриппа	7	0
<i>Borrelia burgdorferi</i>	9	1
вирус кори	10	0
вирус паротита	6	0
VZV	28	1
<i>Treponema pallidum</i>	3	0
антиядерные антитела (любые)	29	0
антитела к ревматоидному фактору	18	0
Всего	603	27

Интерференция может возникать из-за наличия у пациента IgM к вирусу краснухи или парвовируса В19 во время ранней острой инфекции. Длительно персистирующие IgM не влияют на определение LIAISON® EBV IgM.

Реактивность может быть связана с перекрестной реакцией ранних IgM к другим вирусам или к повторному появлению IgM к ВЭБ как следствие поликлональной активации индуцированных другими агентами, которые вызывают инфекционный мононуклеоз как синдром.

15.2 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON®

Различные пробы с различными концентрациями анализируемого вещества были изучены для вычисления повторяемости и воспроизводимости исследования (то есть вариабельность внутри одной и между различными пробами). Вариабельность, отраженная в таблице приведенной ниже, не приводила к неверной интерпретации результатов анализа проб.

Повторяемость	A	B	C	D	E	Воспроизводимость	A	B	C	D	E
Количество исследований	20	20	20	20	20	Количество исследований	10	10	10	10	10
Средняя величина (Е/мл)	11,0	32	59	94	98	Средняя величина (Е/мл)	8	14	31	54	81
Стандартное отклонение	0,6	1,7	4,4	5,5	7,7	Стандартное отклонение	0,8	0,8	3	3,1	6,5
Кoeffициент вариации (%)	5,7	5,4	7,4	5,8	7,9	Кoeffициент вариации (%)	11,1	6,3	9,7	5,8	8

15.3 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL

Различные пробы с различными концентрациями анализируемого вещества были изучены для вычисления повторяемости и воспроизводимости исследования (то есть вариабельность внутри одной и между различными пробами). Вариабельность, отраженная в таблице приведенной ниже, не приводила к неверной интерпретации результатов анализа проб.

Повторяемость. Двадцать повторов были исследованы для изучения повторяемости результатов прибора.

Повторяемость	1	2	3	4	5	6	7	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество исследований	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Средняя величина (Е/мл)	15,8	25,3	38	41,4	61,0	71,5	107,4	7,9	94,2
Стандартное отклонение	1,1	1,5	1,99	2,53	1,52	3,85	7,17	0,28	3,6
Кoeffициент вариации (%)	7	5,9	5,2	6,1	2,5	5,4	6,7	3,6	3,8
Мин. значение (Е/мл)	13,3	22,6	33,6	34,1	57,6	61,4	96,6	7,3	87,6
Макс. значение (Е/мл)	17,6	27,9	41	44,4	54,7	78,1	125	8,4	104

Воспроизводимость. Двадцать повторов были выполнены в разные дни (максимум 2 исследования в день) на одном лоте реактивов для изучения воспроизводимости.

Воспроизводимость	1	2	3	4	5	6	7	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество исследований	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Средняя величина (Е/мл)	16	22,7	36,4	37,4	60	69,3	97,7	8,6	99,9
Стандартное отклонение	1,64	1,94	4,16	3,78	3,27	8,09	13,6	0,93	5,52
Коэффициент вариации (%)	10,2	8,5	11,4	10,1	5,4	11,7	13,9	10,8	5,5
Мин.значение(Е/мл)	13,3	19,2	29,7	31,7	54,3	57,6	66,5	7,8	93,4
Макс.значение(Е/мл)	19,2	25,7	43,5	45,7	65,9	83,6	116	12,2	114

15.4. Восстановление разведения

Точность исследования была проверена с помощью разведения.

Тест разведения. Четыре пробы сыворотки содержащие высокую концентрацию специфических IgM к ВЭБ были исследованы до и после разведения дилуентом. Сравнение ожидаемой концентрации специфических IgM измеренной после разведения было выполнено методом линейной регрессии. Коэффициент корреляции (r) был 0,997-0,998.

Степень разбавления	Ожидаемая концентрация, Е/мл	Измеренная концентрация, Е/мл	Восстановление, %	Степень разбавления	Ожидаемая концентрация, Е/мл	Измеренная концентрация, Е/мл	Восстановление, %
-	-	62,3	-	-	-	149,2	-
1:2	31,1	32,6	104,7	1:2	74,6	75,7	101,5
1:4	15,6	13,5	86,8	1:4	37,3	41,5	111,3
1:8	7,8	7,4	95,1	1:8	18,6	20,9	112,4
1:16	3,9	3,5	90	1:16	9,3	8,2	88,2
-	-	91,3	-	-	-	150	-
1:2	45,6	50,5	110,7	1:2	150	78	104
1:4	22,8	24,6	107,9	1:4	78	40,8	108,8
1:8	11,4	11,3	99,1	1:8	40,8	20,2	107,8
1:16	5,7	5,3	93	1:16	20,2	8,5	90,7
1:32	2,9	3,0	105,3	1:32	8,5	4,2	89,6
				1:64	2,3	2,3	98,2

15.5 Эффект высокой дозы.

При исследовании проб с крайне высокой концентрацией антител может наблюдаться эффект насыщения, при котором реальная концентрация в значительной мере превышает измеренную. Однако оптимизированный двухстадийный метод позволяет исключить существенное занижение результатов, так как аналитический сигнал остается пропорционально высоким (кривая насыщения).

Оценка эффекта насыщения был проведена путем исследования 3 положительных по тесту на IgM к ВЭБ проб с высоким титром. Результат анализа, как и ожидалось, превышал верхнюю границу измеряемого диапазона и, значит, не привел к ошибочной классификации пробы.

15.6 Диагностическая специфичность и чувствительность.

Диагностическая специфичность и чувствительность были определены путем исследования 2336 проб из различных отобранных популяций (лица, не имевшие контакта с ВЭБ; беременные женщины, пробы специально отправленные на исследование ВЭБ; лица, страдающие аутоиммунными заболеваниями; больные различными инфекционными заболеваниями со схожей симптоматикой; лица, перенесшие ВЭБ; лица, находящиеся в острой стадии ВЭБ; лица с длительно персистирующими IgM к ВЭБ). Пробы были исследованы несколькими методами и эти результаты наряду с доступными клиническими и серологическими данными были использованы для классификации исследованных проб.

Для 392 проб не был получен окончательный результат при сравнении результатов различных методик, поэтому данные пробы не были включены в анализ.

13 положительных и 1654 отрицательных результатов было получено при исследовании предположительно отрицательных проб, диагностическая специфичность составила 99,22% (95% доверительный интервал 98,67-99,58%).

271 положительных и 6 отрицательных результатов было получено при исследовании предположительно положительных проб, диагностическая специфичность составила 97,83% (95% доверительный интервал 95,35-99,2%).

15.7 Модели реактивности

Было исследовано 2343 пробы из различных отобранных популяций (лица, не имевшие контакта с ВЭБ; предположительно здоровые взрослые люди; лица, страдающие аутоиммунными заболеваниями; больные различными инфекционными заболеваниями; лица, перенесшие ВЭБ; лица, находящиеся в острой стадии ВЭБ; лица, с хроническим ВЭБ; лица с реактивированным ВЭБ).

Для корректной классификации проб и определения фазы заболевания с серологической точки зрения и оценки результатов мульти анализа было скомбинировано 3 теста LIAISON® EBV.

Результаты, полученные с помощью LIAISON® EBV сравнили с результатами от наиболее показательных проб, таких как ВЭБ-отрицательные пробы, пациенты, с первичной инфекцией ВЭБ и перенесшие ВЭБ.

Из 210 ожидаемых отрицательных проб, комбинированное исследование LIAISON® EBV показало 181. Соотношение с моделью составило 86,20% (95% доверительный интервал: 80,77% -90,56%).

Из 282 проб с ожидаемой первичной инфекции ВЭБ, комбинированное исследование LIAISON® EBV показало 255. Соотношение с моделью составило 90,43% (95% доверительный интервал: 86,37%-93,59%).

Из 1616 проб ожидаемой прошедшей инфекцией ВЭБ, комбинированное исследование LIAISON® EBV показало 1479. Соотношение с моделью составило 91,52% (95% доверительный интервал: 90,05%-92,84%).

Интерпретация результатов, полученных комбинированным исследованием LIAISON® EBV может быть выполнена непосредственно прибором с помощью программного обеспечения Dia-Link.

Варианты моделей	ВАО ВЭБ IgM (EBV IgM)	ВАО ВЭБ IgG (VCA IgG)	ЭБЯА IgG (EBNA IgG)	Количество	%
Отрицательные пробы	-	-	-	202	8,6
Первичная инфекция					
- ранняя фаза	+	-	-	113	4,8
- острая фаза	+	+	-	221	9,4
- транзиторная фаза	+	+	+	132	5,6
Прошедшая инфекция	-	+	+	1594	68,1
Неопределенная модель	-	+	-	32	1,4
Неизвестный модель	-	-	+	49	2,1
Всего				2343	100