



LIAISON® Toxo IgM (310710)
IgM к *Toxoplasma gondii*

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение специфических IgM к возбудителю токсоплазмоза *Toxoplasma gondii* в человеческой сыворотке или плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки LIAISON®.

Использовать только для “in vitro” диагностики.

2. ВВЕДЕНИЕ

Токсоплазмоз – достаточно широко распространенное инфекционное заболевание, вызываемое внутриклеточным паразитом, относящимся к простейшим, *Toxoplasma gondii*. Заболевание, затрагивающее как человека, так и теплокровных животных, может передаваться путем поедания пищевых продуктов, зараженных или загрязненных ооцистами паразита; путем прямой передачи инфекции от домашних животных или трансплацентарно (от матери к плоду). Кроме того, в литературе были описаны случаи передачи токсоплазмы при переливании крови и пересадке органов.

В нормальной взрослой популяции токсоплазма протекает в легкой форме, в большинстве случаев бессимптомно, иногда могут наблюдаться легкие симптомы (головная боль, ангина, слабость), очень редко токсоплазмоз может сопровождаться лимфаденитом. В исключительных случаях токсоплазмоз может сопровождаться серьезными нарушениями, такими как миокардит, гепатит, пневмония, менингоэнцефалит и ретинохориоидит. Распространенность положительных результатов серологических исследований возрастает с возрастом пациентов.

В защите организма от паразитарной инфекции обычно участвует клеточный иммунитет. Как следствие этого, симптоматичное течение заболевания чаще всего наблюдается у пациентов, подвергающихся иммуносупрессивной терапии для предупреждения отторжения пересаженных органов или в рамках противоопухолевой терапии. Было доказано, что токсоплазмозный энцефалит является одной из существенных причин смерти больных синдромом приобретенного иммунодефицита.

В случае инфицирования беременных женщин токсоплазмоз может стать причиной выкидыша, преждевременных родов или рождения мертвого плода, так как патоген может передаваться от матери к плоду через плаценту. У плода женщины, инфицированной токсоплазмой в первом триместре беременности, развиваются серьезные нарушения центральной нервной системы, которые в большинстве случаев ведут к его гибели. Инфицирование токсоплазмой во втором триместре беременности может стать причиной гидроцефалии, задержек умственного и психомоторного развития, слепоты и облысения мозга. При инфицировании во время третьего триместра токсоплазмоз может привести к ретинохориоидиту и другим нарушениям зрения, повреждениями центральной нервной системы, также возможно латентное течение инфекции у ребенка, которое может в итоге развиться в полноценное заболевание.

Специфические IgM к токсоплазме появляются в крови в течение 2-4 недель после проявления клинических симптомов и постепенно исчезают на протяжении 3-9 месяцев. Таким образом, наличие в крови IgM и IgA в отсутствии IgG или в присутствии низких концентраций IgG является веским доказательством острого токсоплазмоза. И наоборот, наличие IgM в присутствии снижающейся или постоянной концентрации IgG указывает на подострую инфекцию.

Дифференциальная диагностика острой инфекции благодаря методике определения специфических IgM позволяет провести адекватное лечение, снижающее вероятность развития болезни у иммунодефицитных пациентов и беременных женщин.

Количество специфических IgG к токсоплазме в крови нарастает постепенно с течением инфекции и достигает максимума в течение 2-5 месяцев после проявления клинических симптомов. Таким образом, определение IgG полезно для выявления пациентов, имеющих иммунитет к патогену. Это особенно важно для разработки подходящих профилактических мер в отношении женщин детородного возраста.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения специфических IgM к токсоплазме представляет собой обратный 2-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Мышинные моноклональные IgG к IgM человека связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза), мышинные моноклональные антитела к *Toxoplasma gondii* мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время первой инкубации IgM к токсоплазме, присутствующие в калибраторах, образцах и контролях связываются с твердой фазой. Во время второй инкубации конъюгаты антител с красителем связываются с предварительно добавленным антигеном *Toxoplasma gondii*, после чего образовавшийся иммунный комплекс взаимодействует с IgM к токсоплазме, фиксированными на твердой фазе. После каждой инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются запускающие реативы, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотомножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию IgM к токсоплазме в калибраторах, контролях и пробах.

4. СОСТАВ НАБОРА

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые мышиными моноклональными IgG к человеческим IgM; БСА; фосфатный буфер; <0,1% азид натрия.
Калибратор 1 (1,5 мл)	Человеческая сыворотка/плазма; содержащая низкую концентрацию IgM к антигенам <i>Toxoplasma gondii</i> ; БСА; фосфатный буфер; 0.2% ProClin® 300;

	инертный краситель (желтый). Концентрация (ОЕ/мл) подтверждена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Калибратор 2 (1,5 мл)	Человеческая сыворотка/плазма; содержащая высокую концентрацию IgM к антигенам <i>Toxoplasma gondii</i> ; БСА; фосфатный буфер; 0.2% ProClin® 300; инертный краситель (синий). Концентрация (ОЕ/мл) подтверждена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Антиген (2,3 мл)	Экстракт инактивированного штамма RH <i>Toxoplasma gondii</i> , полученный с помощью разрушения трофозоитов и обработки их детергентом; БСА; фосфатный буфер; 0.2% ProClin® 300; консерванты.
Раствор для разведения образцов (28 мл)	БСА; фосфатный буфер; 0.2% ProClin® 300, инертный краситель (желтый).
Конъюгат (21 мл)	Мышьиные моноклональные антитела к <i>Toxoplasma gondii</i> , меченные производным изоломинола (аминобутилэтилизолюминолом); неспецифические мышьиные моноклональные IgG; фетальная телячья сыворотка; БСА; фосфатный буфер; 0.2% ProClin® 300; консерванты; инертный краситель (красный).
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

Анализатор LIAISON [®] XL	Анализатор LIAISON [®]
Реакционные кюветы LIAISON [®] XL (каталожный номер X0016)	Реакционные модули LIAISON [®] (каталожный номер 319130)
Одноразовые наконечники LIAISON [®] XL (каталожный номер X0015)	
Набор запускающих реактивов LIAISON [®] XL (каталожный номер 319200)	Набор запускающих реактивов LIAISON [®] (каталожный номер 319102)
----	или набор запускающих реактивов LIAISON [®] XL (каталожный номер 319200)
	Реактив для ежедневной проверки анализатора LIAISON [®] (каталожный номер 319150)
Системная / промывочная жидкость LIAISON [®] (каталожный номер 319100)	Системная / промывочная жидкость LIAISON [®] (каталожный номер 319100)
Мешки для твердых отходов LIAISON [®] XL (каталожный номер X0025)	Мешки для отработанных реакционных модулей LIAISON [®] (каталожный номер 450003)
----	Набор растворов для обслуживания анализатора LIAISON [®] (каталожный номер 310990)

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

Контроль IgM к токсоплазме (положительный и отрицательный) (каталожный номер 310711)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

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, DILSPE Ag
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)  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

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 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. Цитрат, ЭДТА и гепарин могут быть использованы в качестве антикоагулянтов. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузырьки с ее поверхности.

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

Минимально необходимый объем 170 µл (20 µл на исследование + 150 µл 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.
- Прошло более 4 недель с момента последней калибровки.
- Каждый раз при использовании нового лота реагентов
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Анализатор LIAISON[®]: значения концентраций калибраторов содержатся в штрих-коде интеграла.

Анализатор LIAISON[®] XL: значения концентраций калибраторов содержатся в радиочастотной метке.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Для анализатора LIAISON XL: данный тест требует наличия файлов ToxoM, Tox-M6, Tox-M10.

Для тестирования образцов используйте Tox-M6 или Tox-M10.

Никогда не используйте ToxoM.

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 негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Анализатор LIAISON[®] XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

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

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль LIAISON[®] Toxo IgM Control (кат.№ 310711):

- 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 токсоплазме в ОЕ/мл (относительных единицах в миллилитре). За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя.

Калибраторы и контроли могут давать различные RLU на анализаторах Liaison и Liaison XL, однако результаты тестирования пациентов будут эквивалентны.

Измеряемый диапазон: 3-160 ОЕ/мл IgM к токсоплазме.

Общепринято, что анализы IgM-capture могут требовать процедуру разбавления. Как следствие, результаты анализа образца, превышающие верхний диапазон анализа, должны рассматриваться и указываться как выше 160 ОЕ / мл.

Интерпретация результатов анализа (на анализаторе LIAISON XL протокол исследования называется Tox-M6):

Пробы с концентрацией IgM к токсоплазме ниже 6 ОЕ/мл должны расцениваться, как отрицательные.

Пробы с концентрацией IgM к токсоплазме от 6 до 8 ОЕ/мл должны расцениваться, как сомнительные («серая зона»).

Для клинической интерпретации результатов необходимо провести дополнительные серологические исследования (например, авидность IgG к токсоплазме).

Пробы с концентрацией IgM к токсоплазме выше 8 ОЕ/мл должны расцениваться, как положительные.

Положительный результат указывает на присутствии в крови IgM к токсоплазме, что свидетельствует о первичном инфицировании или о давнем инфицировании с персистирующим уровнем IgM.

Отрицательный результат указывает на отсутствие определяемых концентраций IgM, однако полученный результат не исключает возможность недавнего заражения. Если, несмотря на отрицательный результат, остается подозрение о возможности инфицирования, необходимо провести повторное исследование пробы через 1-2 недели.

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.

Внимание: Набор реактивов LIAISON® Toxo IgM разработан для измерения концентрации IgM к токсоплазме с высокой чувствительностью, что позволяет выявить острую инфекцию на ранней стадии. Так как в некоторых случаях в крови могут определяться низкие концентрации IgM к токсоплазме на протяжении продолжительного времени, то такие пробы (сомнительные или положительные) должны быть дополнительно протестированы, например, на авидность IgG и/или альтернативный способ измерения концентрации IgM к токсоплазме.

Другим способом повышения диагностической специфичности набора LIAISON® Toxo IgM является интерпретация результатов без использования понятия «серой зоны» и с увеличенным пороговым значением. Средние и высокие концентрации IgM к токсоплазме обычно наблюдаются в крови на ранней стадии инфекции, тогда как концентрация персистирующих IgM значительно ниже: таким образом, распределение концентрации IgM к токсоплазме сдвинуто в сторону ранней фазы. В связи с этим вероятность получения ложноотрицательного результата при исследовании

пробы пациента с острой фазой инфекции незначительна, распространенная практика повторного исследования пробы пациента с отрицательным результатом через 1-2 недели еще больше снижает эту вероятность.

При выборе протокола исследования **Tox-M10** для определения концентрации IgM к токсоплазме:

В случае отказа от использования понятия «серой зоны» для интерпретации результатов необходимо придерживаться следующих рекомендаций:

Пробы с концентрацией IgM к токсоплазме ниже 10 ОЕ/мл должны расцениваться, как отрицательные.

Пробы с концентрацией IgM к токсоплазме выше 10 ОЕ/мл должны расцениваться, как положительные.

Для получение более подробной информации по результатам исследований обратитесь к ниже приведенной таблице.

Место исследования	Кол-во	Пределы (ОЕ/мл)	Диагностическая специфичность (%)	Диагностическая чувствительность		
				Острый токсоплазмоз (%)	Персистирующий токсоплазмоз (%)	Положительные пробы на IgM к токсоплазме (%)
Павия, Италия	895	6-8	97,3	-	-	99,6
		10	99,1	-	-	91,8
Париж, Франция	347	6-8	94,0	100	95,0	97,3
		10	97,5	100	90,0	94,8
CDC, GA, США	97	6-8	96,9	100	-	100
		10	96,9	100	-	100
Пало Альто, GA, США	200	6-8	100	100	100	100
		10	100	100	94,0	97,0

14. ОГРАНИЧЕНИЯ

Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов.

Бактериальная контаминация или нагревание пробы могут повлиять на результат исследования.

Запрещается обменивать интегралы 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 IgM к вирусу паротита 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.

Аналитическую специфичность можно определить, как способность теста безошибочно выявлять специфический аналит в присутствии потенциально мешающих факторов в матриксе пробы (например, антикоагулянтов, гемолиза, результата обработки пробы) или перекрестно-реагирующих антител.

Интерференция: Проведенные исследования показали, что такие факторы, как антикоагулянты (цитрат натрия, ЭДТА, гепарин), гемолиз (вплоть до концентрации гемоглобина 10 мг/мл), липемия (вплоть до концентрации триглицеридов 30 мг/мл), билирубинемия (вплоть до концентрации билирубина 0,2 мг/мл) и замораживание-оттаивание образцов не влияют на результат исследования.

Перекрестная реактивность: были разработаны схемы исследований перекрестной реактивности при определении IgM к антигенам токсоплазмы с помощью анализатора LIAISON® для оценки возможной интерференции со стороны антител, способных вызывать симптомы схожие с токсоплазмой (вирус Эпштейна-Барр, вирус краснухи, цитомегаловирус, парвовирус В19) со стороны антител к другим возбудителям инфекционных заболеваний (бледная трепонема, боррелия, вирус простого герпеса, Варицелла-Зостер, вирус кори, вирус паротита, ВИЧ, вирус гепатита С), а также со стороны прочих состояний, возникающих в результате атипичной активности иммунной системы (антиядерные аутоантитела, ревматоидный фактор, человеческие антимышинные антитела). Пробы для этих исследований были предварительно проанализированы с использованием другого доступного на рынке набора для определения IgM к антигенам вируса токсоплазмы. В случае отрицательного результата по IgM к токсоплазме пробы были использованы для оценки возможной перекрестной реактивности. Присутствие потенциальных кросс-реактантов в пробах было определено с использованием различных тест-систем, имеющих СЕ-маркировку.

Кросс-реактант	Количество предполагаемых отрицательных проб	Количество положительных и сомнительных проб по тесту IgM к краснухе LIAISON®
IgM + IgG к парвовирусу В19	14	0
IgM к краснухе	15	0
IgM к цитомегаловирусу	17	0
IgM к вирусу Эпштейна-Барр	8	0
IgM к вирусу гепатита С	10	0
ВИЧ	36	0
IgM + IgG к вирусу простого герпеса типа ½	15	0
IgM + IgG к боррелии	7	0
IgM + IgG к вирусу паротита	5	0
IgM к вирусу кори	5	0
IgM к вирусу Варицелла-Зостер	11	0
IgM + IgG к бледной трепонеме	5	0
Антиядерные аутоантитела	12	0
Ревматоидный фактор	10	0
Человеческие антимышинные антитела	14	0
Гипергаммаглобулинемия	20	0
Всего	204	0

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. 20 одновременных повторов в 1 день.

Повторяемость	A	B	C	D	E	F
Количество измерений	20,	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	6,2	11,7	13,0	28,9	33,4	14,9
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,43	1,29	1,21	3,16	4,24	1,07
Коэффициент вариации (%)	7,0	11,0	9,3	10,9	12,7	7,0
Минимальное значение (ОЕ/мл)	4,9	8,2	10,3	20,6	23,9	12,1
Максимальное значение (ОЕ/мл)	6,7	13,0	15,1	32,9	38,4	16,1

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости было выполнено 20 повторов в различные дни (1-2 повтора в день) на трех разных лотах реактива. Тесты были проведены в двух местах – дома (1 место) и в независимой лаборатории (2 место).

Воспроизводимость (1 место)	A	B	C	D	E	F
LOT №1						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	6,1	11,0	15,2	30,4	45,8	15,5
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,50	1,41	1,77	3,8	5,52	2,20
Коэффициент вариации (%)	8,2	12,9	11,6	12,5	12,1	14,5
Минимальное значение	5,2	8,3	11,9	23,0	31,0	12,2
Максимальное значение	6,8	14,0	18,8	36,4	53,3	22,5
LOT №2						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	7,9	12,7	20,9	36,9	44,2	20,7
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,38	1,42	1,53	4,23	4,61	2,40
Коэффициент вариации (%)	4,8	11,1	7,3	11,4	10,4	11,7
Минимальное значение	7,3	10,2	17,7	24,6	32,9	17,7
Максимальное значение	8,6	15,5	23,1	44,5	51,2	27,6
LOT №3						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	6,0	11,0	13,1	29,2	45,9	12,7
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,52	1,23	0,92	3,65	2,95	1,80
Коэффициент вариации (%)	8,7	11,1	7,0	12,5	6,4	14,0
Минимальное значение	5,1	8,4	11,1	19,5	41,1	10,9
Максимальное значение	6,9	12,5	15,2	35,3	51,8	19,4
Коэффициент вариации (%) внутри лота	7,2	11,7	8,7	12,1	9,6	13,4

Воспроизводимость (2 место)	A	B	C	D	E	F
LOT №1						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	6,5	10,4	15,3	29,8	36,9	18,3
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,64	0,88	1,99	3,09	5,00	2,00
Коэффициент вариации (%)	9,9	8,5	13,0	10,3	13,5	11,1
Минимальное значение	5,4	9,0	12,1	24,9	27,4	14,2
Максимальное значение	7,5	12,5	19,2	35,1	46,0	23,2
LOT №2						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	9,3	15,9	24,1	42,7	46,6	29,0
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,64	1,83	2,57	4,52	5,22	3,60
Коэффициент вариации (%)	6,9	11,5	10,7	10,6	11,2	12,4
Минимальное значение	8,6	13,5	19,1	35,8	37,6	23,1
Максимальное значение	10,5	19,2	28,6	53,8	54,9	34,0
LOT №3						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	6,7	11,7	11,8	26,7	27,0	14,6
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,46	1,11	0,84	3,29	3,47	1,70
Коэффициент вариации (%)	6,9	9,5	7,2	12,3	12,9	11,9
Минимальное значение	5,7	9,5	10,0	18,1	19,7	11,7
Максимальное значение	7,9	14,0	13,1	30,8	32,8	18,4
Коэффициент вариации (%) внутри лота	7,9	9,8	10,3	11,1	12,5	11,8

15.3 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического анализатора, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариативности внутри серии и между сериями). Вариативность, приведенная в таблицах ниже, не привела к ошибочной классификации проб.

Повторяемость. 20 одновременных повторов в 1 день.

Повторяемость	1	2	3	4	5	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (индекс)	15,6	31,5	45,6	79,2	107	20,6
Стандартное отклонение (индекс)	0,52	1,03	3,09	3,81	4,59	1,34
Коэффициент вариации (%)	3,3	3,3	6,8	4,3	4,3	6,5
Минимальное значение (индекс)	14,9	29,6	40,3	73,4	102	18,8
Максимальное значение (индекс)	17,2	33,4	54,4	88,0	122	23,5

Воспроизводимость. 20 повторов в различные дни (1-2 повтора в день).

Воспроизводимость	1	2	3	4	5	Положительный контроль
Воспроизводимость						

Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (индекс)	14,6	31,7	48	85,5	121	23,2
Стандартное отклонение (индекс)	1,14	2,3	3,97	8,22	11,35	1,63
Коэффициент вариации (%)	7,9	7,3	8,3	9,6	9,4	7
Минимальное значение (индекс)	13	29	40,6	65,1	107	20
Максимальное значение (индекс)	17,5	37,3	55,5	96,1	150	26,3

15.4 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 была проведена путем исследования двух положительных по тесту на IgM к антигенам токсоплазмы проб с высоким титром. Результат анализа, как и ожидалось, превышал верхнюю границу измеряемого диапазона и, значит, не привел к ошибочной классификации пробы.

15.5 Диагностическая специфичность и чувствительность.

Диагностическая специфичность и чувствительность были определены путем исследования 789 проб из различных отобранных популяций (лица, не имевшие контакта с токсоплазмой; беременные женщины; лица, страдающие аутоиммунными заболеваниями; больные различными инфекционными заболеваниями со схожей симптоматикой; пациенты подвергнутые гемодиализу, пациенты с трансплантатами, ВИЧ инфицированные лица, лица, первично инфицированные или перенесшие токсоплазмоз; лица, с потенциально рецидивной инфекцией токсоплазмы; лица, с длительно персистирующими IgM к антигенам токсоплазмы). Пробы были исследованы несколькими методами и эти результаты наряду с доступными клиническими и серологическими данными были использованы для классификации исследованных проб. 51 пробу не удалось классифицировать с помощью референсных методов, и поэтому они были исключены из дальнейшего анализа данных.

5 положительных, 4 сомнительных и 586 отрицательных результатов было получено при исследовании предположительно отрицательных проб, диагностическая специфичность составила 98,49% (95% доверительный интервал 97,15-99,31%).

0 негативных и 143 положительных результатов было получено при исследовании предположительно положительных проб, диагностическая специфичность составила 100% (95% доверительный интервал 97,45-100%).

Результаты с верхними границами, были пересмотрены следующим образом:

3 положительных и 592 отрицательных результатов было получено при исследовании предположительно отрицательных проб 99,50% (95% доверительный интервал 98,53-99,89%).

14 негативных и 129 положительных результатов было получено при исследовании предположительно положительных проб 90,21% (95% доверительный интервал 84,12-94,55%).

В дополнение к проведению оценки исследований, некоторые оценочные работы были проведены в специализированных лабораториях для подтверждения способности тестов корректно определять острую фазу токсоплазмоза. Было отобрано 279 проб для тестирования, 149 из которых было получено от пациентов с подозрением на острую фазу заболевания и 130 от пациентов переболевших токсоплазмозом ранее и имеющих длительно персистирующие IgM.

149 результатов ниже 10 ОЕ/мл было получено при анализе выборки пациентов с острой фазой токсоплазмоза. Диагностическая специфичность составила 100% (95% доверительный интервал 97,56-100%).

4 результата ниже 6 ОЕ/мл, 3 результата в диапазоне 6-8 ОЕ/мл, 4 результата в диапазоне 8-10 ОЕ/мл и 119 - более 10 ОЕ/мл было получено при анализе выборки пациентов с длительно персистирующими IgM к антигенам токсоплазмоза. Диагностическая специфичность составила 91,54% (95% доверительный интервал 85,37-95,70%).

Перспективные исследования. 370 остаточных, не выборочно, проспективно собранных проб отправленных в лабораторию на определение токсоплазмы были проанализированы набором LIAISON® Toxo IgM и иммунологическим тестом Toxoplasma IgM. Исследование набором LIAISON® Toxo IgM выявило 358 отрицательных, 3 сомнительных и 9 положительных проб и показало совпадение 97,8% со вторым методом. Противоречие в результатах было разрешено путем проведения повторных исследований на наличие IgM антител к токсоплазме и дополнительных тестов на IgG avidность. Согласование между ними было получено для оценки ожидаемых результатов. После устранения расхождений, совпадение достигло 99,2%.