

LIAISON® *Mycoplasma pneumoniae* IgG (код 317020)

1. ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Набор для полуколичественного определения IgG к *Mycoplasma pneumoniae* в образцах человеческой сыворотки или плазмы на анализаторах линейки LIAISON® с использованием метода хемилюминесцентного иммунологического анализа (CLIA).

Это испытание проводят на анализаторах линейной марки LIAISON®.

2. РЕЗЮМЕ И ОБОСНОВАНИЕ ИСПЫТАНИЯ

Микоплазмы являются самыми маленькими микроорганизмами, которые могут расти в бесклеточной среде. Они инфицируют человека, животных, растений, насекомых и обнаруживаются в канализационных сетях. Название *Mycoplasma* (микоплазма) относится к внешнему виду микроорганизмов, напоминающему грибы, и к пластичности внешней мембраны, приводящей к плеоморфизму.

Пневмонии, также называемые внебольничными пневмониями (CAP), классифицируют на типичные и нетипичные формы на основании симптомов и клинических проявлений. Этиологическим возбудителем первых является *Streptococcus pneumoniae*, в то время как последние могут вызываться *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* или *Legionella pneumophila* (5).

Инфекция распространена по всему миру, будучи эндемичной в большинстве областях. После заражения заболевание сначала протекает без явных симптомов с чувством общего недомогания, миалгией, болью в горле или головной болью, и симптомами боли в груди, появляющимися через один – пять дней. Кашель обычно сухой, мучительный и иногда приступообразный и может стать выраженным признаком заболевания. Становятся выраженными такие физические симптомы, как хрипы, часто после рентгенографического подтверждения пневмонии. Течение заболевания различно, но кашель, аномальные симптомы в груди и рентгенографические изменения могут наблюдаться в течение более нескольких недель. Дети заражаются чаще, чем взрослые; на последствия заражения также оказывает влияние возраст (3).

Заболевание в основном ограничено дыхательными путями. Внелегочные проявления включают в себя: синдром Стивена-Джонсона и другие типы сыпи; артралгию; менингит или энцефалит (и другие неврологические осложнения); миокардит и перикардит. *Mycoplasma pneumoniae* обладает особой структурой на одном или двух концах, с помощью которой микроорганизмы прикрепляются к слизистым оболочкам дыхательных путей и становятся абсолютно резистентными к антибиотикам, которые действуют на синтез клеточной стенки бактерий (типа пенициллина).

Структура *Mycoplasma pneumoniae* характеризуется двумя основными поверхностными белками, P1 (адгезин, 170 кД) и p30, который, как оказалось, непосредственно участвует в

связывании рецептора. Так как у людей имеется сильный иммунный ответ в отношении P1 во время инфицирования, ген P1 проявляет антигенную изменчивость (6, 12). Недавно было обнаружено, что С-терминальный домен белка P1 штамма FH *Mycoplasma pneumoniae* (который используется в обеих тест-системах LIAISON®) является в высокой степени антигенным.

Обнаружение специфических антител против *Mycoplasma pneumoniae* является первичным диагностическим инструментом для точной диагностики острого респираторного заболевания, вызванного *Mycoplasma pneumoniae*. После первоначального заражения нормальная иммунная система реагирует путем быстрого продуцирования антител, максимальное количество которых обнаруживается через три -- шесть недель, после чего следует постепенное их снижение в течение месяцев и даже лет. В результате длительного инкубационного периода, иммунный ответ часто четко виден ко времени появления симптомов (10).

Возрастание уровня специфических IgM к *Mycoplasma pneumoniae* часто само по себе может быть интерпретировано как доказательство острого инфицирования, так как антитела обычно появляются в течение одной недели после первоначального заражения и приблизительно за две недели до появления IgG антител (7). Однако присутствие IgM считается более значимым в детских популяциях, где существует меньшая вероятность повторных экспозиций. Взрослые, которые были инфицированы многократно в течение ряда лет, могут не отвечать на микоплазменные антигены сильным ответом IgM (9). В этих случаях повторное заражение сразу приводит к ответу IgG; следовательно, отрицательный тест на присутствие IgM не исключает острого инфицирования. Когда это заражение происходит, ответ IgM может персистировать в течение месяцев или лет после инфицирования, и в этих случаях положительный результат в отношении IgM может не отражать текущее или недавнее заражение.

Определение IgG антител доказало свою необходимость, так как пациенты могут не вырабатывать ни IgM, ни IgA гуморального иммунного ответа (11). Выработка IgG антител начинается позже всего, и уровни IgG остаются повышенными в течение не менее одного года после заражения.

3. ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Метод полуколичественного определения специфических IgG к *Mycoplasma pneumoniae* является непрямым сэндвич-методом хемилюминесцентного иммунологического анализа (CLIA). Рекомбинантный антиген, обеспечивающий высокую специфичность и чувствительность, используют для покрытия магнитных частиц (твердая фаза), а мышиные моноклональные антитела, направленные против человеческого IgG, связываются с производным изолюминола (конъюгат изолюминол-антитело). Во время первой инкубации антитела к *Mycoplasma pneumoniae*, если они присутствуют в калибраторах, образцах или контролях, связываются с твердой фазой. Во время второй инкубации конъюгат с антителом реагирует с любыми человеческими анти- *Mycoplasma pneumoniae* IgG, уже связанными с твердой фазой. После каждой инкубации несвязанный материал удаляют в цикле отмывания.

Далее добавляют стартерные реактивы и, таким образом, индуцируют мгновенную реакцию хемилюминесценции. Световой сигнал, и, следовательно, количество конъюгата изолюминол-антитело, измеряют на фотоумножителе в относительных световых единицах (RLU), что указывает на присутствие или отсутствие антител IgG к *Mycoplasma pneumoniae* в калибраторах, образцах или контролях.

4. ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Представленные в наборе реагенты

Магнитные частицы (1,6 мл)	[SORB]	Магнитные частицы, покрытые рекомбинантным пептидом P1 (полученным из <i>E. coli</i>), БСА, фосфатный буфер, < 0, 1% азида натрия.
Калибратор 1 (2,5 мл)	[CAL 1]	Человеческая сыворотка/ плазма, не реакционноспособная в отношении IgG к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , БСА, фосфатный буфер, ЭДТА, детергенты, 0,2% ProClin® 300, инертный желтый краситель. Концентрации калибратора соответствуют внутреннему референсному материалу компании.
Калибратор 2 (2,5 мл)	[CAL 2]	Человеческая сыворотка/ плазма, реакционноспособная в отношении IgG к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , БСА, фосфатный буфер, ЭДТА, детергенты, 0,2% ProClin® 300, инертный голубой краситель. Концентрации калибратора соответствуют внутреннему референсному материалу компании.
Разбавитель для образца (28 мл)	[DIL SPE]	БСА, фосфатный буфер, 0,2% ProClin® 300, инертный желтый краситель.
Конъюгат (13,5 мл)	[CONJ]	Мышинные моноклональные IgG к человеческому IgG, конъюгированные с производным изолюминола, БСА, фосфатный буфер, 0,2% ProClin® 300, консерванты, инертный голубой
Количество испытаний		50

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

Материалы требуемые, но не поставляемые (связанные с используемой системой)

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
Кюветы LIAISON® XL (код X0016). Одноразовые наконечники LIAISON® XL (код X0015). Стартовый набор LIAISON® XL (код 319200). -- Промывочная/системная жидкость LIAISON® (код 319100). Мешки для отходов LIAISON® XL (код X0025). --	Модуль LIAISON® (код 319130). Стартовый набор LIAISON® (код 319102) или Стартовый набор LIAISON® XL (код 319200). Реагент для контроля системы LIAISON® (код 319150) Промывочная/системная жидкость LIAISON® (код 319100). Мешки для отходов LIAISON® (код 450003). Набор для очистки LIAISON® (код 310990).

Дополнительно требуемые материалы

Контроли IgG к *Mycoplasma pneumoniae* LIAISON® (отрицательный и положительный) (код 317021).

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для диагностического применения *in vitro*.

Все виды сыворотки и плазмы, используемые для производства компонентов, представленных в этом наборе, прошли испытания на присутствие HBsAg (поверхностный

антиген вируса гепатита В), анти-ВГС (антитела к вирусу гепатита С), анти-ВИЧ-1 (антитела к ВИЧ-1), анти-ВИЧ-2 (антитела к ВИЧ-2), и было определено, что они являются нереакционноспособными. Однако, так как ни один метод испытаний не может дать абсолютные гарантии отсутствия патогенов, все образцы человеческого происхождения следует считать потенциально опасными инфекциями и работать с ними следует с осторожностью.

6. ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

Нельзя есть, пить, курить и применять косметику в аналитической лаборатории.

Не пипетировать ртом.

Избегать прямого контакта со всеми потенциальными инфекционными материалами, используя такую защитную одежду, как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. Тщательно мыть руки в конце каждого анализа.

Избегать разбрызгивания или образования аэрозолей. Все капли биологических реагентов необходимо удалять раствором гипохлорита натрия с 0,5%-ным раствором активного хлора, и используемые средства должны быть обработаны как зараженные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для анализа, следует рассматривать как потенциально способные к передаче инфекционных возбудителей. С отходами необходимо обращаться с осторожностью, и их необходимо отправлять в отходы в соответствии лабораторными руководствами и действующими законодательными постановлениями каждой страны. Все материалы для повторного использования должны быть соответствующим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и руководствами. Необходимо проверять эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Нельзя использовать наборы или их компоненты по истечении срока годности, указанного на этикетке.

Согласно Постановлению ЕС 1272/2008 (CLP, Классификация, маркировка и упаковка) опасные реагенты классифицируют и маркируют указанным ниже образом:

РЕАГЕНТЫ:	CAL 1 , CAL 2 , DIL SPE , CONJ
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Сенсибилизация кожи 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Внимание
СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 Восклицательный знак
КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОПАСНОСТИ:	H317 Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
ПРЕДУПРЕДИТЕЛЬНЫЕ ФРАЗЫ:	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 Постановлением ЕС 1272/2008 (CLP; Классификация, маркировка и упаковка), [SORB] маркируется как EUN210, паспорта безопасности можно получить по запросу.

Для получения дополнительной информации см. Паспорта безопасности, которые можно найти на www.diasorin.com.

7. ПОДГОТОВКА НАБОРА ДЛЯ РЕАГЕНТОВ

Пожалуйста, отметьте для себя указанные ниже важные предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

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

Перед удалением герметичного покрытия поворачивайте маленькое колесо в отделении с магнитными частицами до тех пор, пока цвет суспензии не изменится на коричневый. Осторожное и тщательное перемешивание путем наклона из стороны в сторону может способствовать образованию суспензии магнитных частиц (необходимо избегать появления пены). Визуально проверьте дно флакона с магнитными частицами для подтверждения того, что все осевшие магнитные частицы ресуспендированы. Тщательно вытрите поверхность каждой мембраны для удаления оставшейся жидкости.

Повторите при необходимости до полного ресуспендирования магнитных частиц.

Вспенивание реагентов

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

Перед использованием набора визуально обследуйте реагенты, особенно калибраторы (позиция два и три после флакона с магнитными частицами) для гарантирования того, что до начала использования набора вспенивание отсутствует. Если вспенивание имеет место после ресуспендирования магнитных частиц, поместите набор в прибор и оставьте до исчезновения пены. Набор готов к употреблению, если пена исчезла, и набор находится на панели прибора и перемешан.

Помещение набора в область реагентов

Анализатор LIAISON®

- Перед использованием поместите набор в анализатор в область для реагентов с этикеткой со штриховым кодом, направленной влево, и оставьте его на 30 минут перед использованием. Анализатор автоматически производит размешивание и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

- Следуйте руководству по эксплуатации анализатора для внесения образцов и начните работу.

Анализаторы LIAISON® XL

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

a. Вставьте набор реагентов в нужную щель.

b. Дайте набору реагентов постоять в полупроводниковом магнитном устройстве в течение не менее 30 секунд (вплоть до нескольких минут). При необходимости повторите.

- Перед использованием поместите набор в область реагентов анализатора с этикеткой со штриховым кодом, направленной влево, и оставьте его на 15 минут перед использованием. Анализатор автоматически производит размешивание и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

- Следуйте руководству по эксплуатации анализатора для внесения образцов и начните работу.

КОНТРОЛИ

Обратитесь в раздел инструкций для контрольного набора IgG к *Mycoplasma pneumoniae* LIAISON® для получения информации о соответствующей подготовке и работе.

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ НАБОРА

- **Закрытый:** Стабилен при температуре 2--8°C до истечения срока годности.

- **В открытом виде на панели прибора или при температуре 2--8°C:** Минимальное время стабильности – 6 недель.

По истечении этого периода все еще возможно продолжать использовать набор реагентов, при условии, что выяснено, что результаты контроля находятся в ожидаемых пределах.

- Использовать всегда один и тот же анализатор LIAISON® для уже открытого набора реагентов.

- Использовать штатив для хранения, предоставляемый с анализатором LIAISON® для вертикального хранения набора реагентов.

- Не замораживать.

- При хранении держать в вертикальном положении для дальнейшего лучшего ресуспендирования магнитных частиц.

- Не подвергать воздействию прямого солнечного света.

9. ОТБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Можно использовать как человеческую сыворотку, так и плазму (включая сыворотку, отобранную в пробирках для отделения сыворотки). Были проверены антикоагулянты цитрат натрия, калий-ЭДТА и гепарин-литий, и их можно использовать в этом количественном анализе. Для этого количественного определения необходимо использовать правильный тип образца. Кровь из вены необходимо отбирать асептическим образом путем венопункции, затем ее оставляют для свертывания, и как можно скорее отделяют сыворотку от сгустка. Внимательно следуют инструкциям производителя при использовании контейнеров для отбора плазмы и гелевых сепараторных контейнеров. Образцы, содержащие механические включения, являющиеся мутными, с липемией или обломками эритроцитов, перед проведением испытания могут потребовать осветления методом фильтрации или центрифугирования. Сильно гемолизированные или с сильной липемией образцы, а также образцы, содержащие механические включения, или с явным микробным загрязнением не

следует подвергать испытанию. Перед проведением количественного анализа образцы проверяют на пузырьки воздуха и удаляют их. Если анализ проводят в течение восьми дней после отбора образцов, то образцы можно хранить при температуре 2--8°C; в ином случае их следует разливать на аликвоты и хранить в глубоко замороженном виде (-20°C или ниже). Если образцы хранят в замороженном виде, то перед проведением испытаний размороженные образцы хорошо перемешивают. Десять образцов с различной реакционной способностью хранили в течение восьми дней при температуре 2--8°C, и десять образцов подвергли пяти циклам замораживания-оттаивания. Результаты не выявили достоверных отличий. Минимальный объем, требуемый для одного определения, равен 170 мкл образца (20 мкл образца + 150 мкл «мертвого» объема).

10. КАЛИБРОВАНИЕ

Испытание специфических калибраторов для анализа позволяет получить значения в относительных световых единицах (RLU) для корректировки заданной теоретической кривой. Каждый раствор для калибрования позволяет провести четыре калибрования.

Повторное калибрование в трех повторностях является обязательным во всех случаях, если имеет место хотя бы одно из указанных ниже условий:

- Используют новую партию стартового набора.
- Предыдущее калибрование проводили более, чем 4 недели назад.
- Каждый раз, когда используют новую партию наборов.
- Анализатор подвергали сервисному обслуживанию.
- Значения контролей находятся вне ожидаемых диапазонов.

Анализатор LIAISON®: Значения калибратора хранятся на этикетке набора в штрих-кодах набора.

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

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

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

Анализаторы LIAISON®. Каждый испытуемый параметр идентифицирован через штрих-коды на этикетке набора реагентов. В случае, если этикетка со штрих-кодом не может быть прочитана анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте этот набор реагентов; свяжитесь с вашей местной службой технической поддержки DiaSorin для получения инструкции.

Анализаторы LIAISON® XL. Каждый испытуемый параметр идентифицирован через информацию, зашифрованную на этикетке реагента идентификатора радиочастотного ретранслятора (этикетка RFID). В случае, если этикетка RFID не может быть прочитана анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывайте этот набор реагентов; свяжитесь с вашей местной службой технической поддержки DiaSorin для получения инструкции. Операции, выполняемые анализатором, следующие:

1. Вносить калибраторы, контроли или образцы в реакционный модуль.
2. Вносить буфер А и покрытые магнитные частицы.
3. Инкубировать.

4. Отмывать жидкостью промывочной/системной.
5. Вносить конъюгат в реакционный модуль.
6. Инкубировать.
7. Отмывать жидкостью промывочной/системной.
8. Добавлять стартовый набор и измерять испускаемый свет.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли LIAISON® следует прогонять в одной повторности для мониторинга работы набора. Контроль качества необходимо проводить, путем прогона контролей IgG к *Mycoplasma pneumoniae*:

- a) не менее одного раза в день использования,
- b) всегда, когда используют новый набор реагентов,
- c) всегда при калибровании набора,
- d) всегда при использовании новой партии стартерных реагентов,
- e) для оценки адекватности работы открытого набора после истечения шести недель или в соответствии с руководствами или требованиями местных законодательств или аккредитованных организаций.

Значения контролей должны находиться в пределах ожидаемых диапазонов: во всех случаях, когда один или оба контроля находятся вне ожидаемых диапазонов, калибрование необходимо повторять и повторно проводить испытание контролей. Если значения контролей, полученные после успешного калибрования, постоянно находятся вне предварительно определенных диапазонов, то испытание повторяют с использованием неоткрытого флакона с контролем. Если значения контролей находятся вне ожидаемых диапазонов, результаты для пациента не регистрируют.

Характеристики других контролей должны быть оценены на их совместимость с этим реагентом до их использования. Затем устанавливают соответствующие диапазоны значений для используемых материалов для проверки контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрации IgG к *Mycoplasma pneumoniae*, выраженные в виде произвольных единиц (AU/мл) и сортирует результаты. Для получения детальной информации обратитесь к релевантному руководству по эксплуатации анализатора.

Калибраторы и контроли могут давать различные RLU или результаты по дозам на анализаторах LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты для пациентов являются эквивалентными.

Диапазон количественного анализа. От 0.1 до 200 AU/мл IgG к *Mycoplasma pneumoniae*.

13.1 Интерпретация результатов, полученных для одиночных образцов

Для наиболее верной диагностики должны проводиться оба теста: на определение IgG и IgM антител.

Значение точки отсечения, разделяющее результаты на присутствие и отсутствие IgG к *Mycoplasma pneumoniae*, равно 10 AU/мл.

Результаты образцов интерпретируют следующим образом:

Образцы с концентрациями IgG к *Mycoplasma pneumoniae* ниже 10 AU/мл следует считать *отрицательными*.

Образцы с концентрациями IgG к *Mycoplasma pneumoniae*, равные или выше 10 AU/мл, следует считать *положительными*.

IgG, AU/мл	Классификация	Интерпретация результатов
< 10	Отрицательный	Нет доказательств заражения. Отрицательный результат в отношении IgG-антител к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> обычно указывает на то, что пациент не был инфицирован, но это не исключает возможности острого заражения <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , так как заражение может находиться на очень ранней стадии, и пациент пока еще не способен синтезировать специфические антитела к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , или же антитела могут присутствовать в неопределяемых количествах. Следует подчеркнуть, что оценки, полученные в испытаниях в первые недели после заражения, являются отрицательными. Если подозревают клиническую экспозицию к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> несмотря на отрицательные данные, то через две--четыре недели необходимо отобрать второй образец и провести его испытания на IgM и IgG параллельно с первым образцом.
≥10	Положительный	Возможно острое или перенесенное инфицирование. Положительный результат в отношении IgG антител к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> обычно указывает на перенесенное заражение. Однако, один образец позволяет оценить только серологический статус организма индивидуума. Следует отобрать второй образец через две--четыре недели и провести его испытания на IgM и IgG параллельно с первым образцом.

13.2 Интерпретация результатов, полученных для парных образцов

Уровни и IgM и IgG следует оценивать в параллели. Второй образец необходимо отбирать через две – четыре недели, независимо от того, какой был отобран вначале полученный результат для IgG к *Mycoplasma pneumoniae*. В частности:

- Когда бы ни был получен отрицательный результат в отношении IgG, следует установить различие между отсутствием инфицирования и острым заражением путем второго отбора образцов.
- Когда бы ни был получен положительный результат в отношении IgG, следует установить различие между перенесенным заражением и острым заражением путем второго отбора образцов.

Достоверное возрастание (то есть, трехкратное или более) концентрации IgG к *Mycoplasma pneumoniae* между двумя последовательными отборами образцов рассматривают как предполагающее острое заражение или повторное инфицирование даже в отсутствие IgM. Стабильная или снижающаяся концентрация IgG к *Mycoplasma pneumoniae* в отсутствие IgM или в присутствии низких уровней IgM может указывать на недавно имевшее место или перенесенное заражение.

Указанные ниже различия между последовательными парными испытаниями считают достоверными:

- Когда по крайней мере один из парных образцов становится положительным в отношении к IgG.
- Когда концентрации IgG-антител возрастают трехкратно или более при последовательных

отборах образцов, как предполагают клинические результаты, сообщенные в §15.5.

13.3 Интерпретация комбинированных результатов для IgG и IgM, полученных для одиночных образцов

Результат IgG	Результат IgM	Интерпретация результатов
Отрицательный	Отрицательный	Нет доказательств заражения. Отрицательный результат в отношении IgM-антител к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> обычно указывает на то, что пациент не был инфицирован, но это не исключает возможности заражения. Взрослые, которые были инфицированы многократно в течение ряда лет, могут не вырабатывать сильный иммунный ответ IgM на микоплазменные антигены.
Отрицательный или положительный	Положительный	Проводят испытания второго образца, отобранного через две – четыре недели, параллельно с первым образцом.
Положительный	Отрицательный	Проводят испытания второго образца, отобранного через две – четыре недели, параллельно с первым образцом..

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Характеристики анализа не были установлены в случае, когда какие-либо тесты LIAISON® на определение *Chlamydia trachomatis* использовали вместе с наборами для определения специфических серологических маркеров *Chlamydia trachomatis* других производителей. В этих условиях пользователи несут ответственность за определение своих собственных рабочих характеристик.

Для получения надежных результатов необходимы квалифицированный подход и строгое следование инструкциям.

Бактериальное загрязнение или инактивация образцов нагреванием могут оказать влияние на результаты испытаний.

О результатах испытаний сообщают как о полученных количественным образом в виде положительного или отрицательного ответа на присутствие IgA к *Chlamydia trachomatis*. Однако, диагноз инфекционных заболеваний не должен быть установлен на основании только одного результата испытаний, но его следует определять в связи с клиническими данными и другими диагностическими процедурами, а также на основании медицинского заключения.

Образцы от пациентов, получавших препараты мышинных моноклональных антител для терапии или диагностики, могут содержать человеческие антимышинные антитела (НАМА). Такие образцы могут вносить помехи в иммунологический анализ на основе моноклональных антител, и результаты для этих пациентов следует оценивать с особым вниманием.

Образцы от пациентов, получавших терапевтические дозы витамина Н (биотина), могут вносить помехи в иммунологический анализ на основе биотинилированных реагентов, и, следовательно, их результаты, следует оценивать с особым вниманием (для получения детальной информации обратитесь к §15.1).

Наборы не следует использовать в разных типах анализаторов (LIAISON® и LIAISON® XL). Если набор был введен в определенный тип анализатора, то его всегда, до конца использования, следует использовать на этом анализаторе. Из-за проблем прослеживаемости, вытекающих из указанного выше положения, может оказаться невозможным дать заключения при обследованиях пациентов при использовании различных типов анализаторов. Все исследования должны быть выполнены на одном отдельном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15 . СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность может быть определена как способность набора для точно определять в образце специфическое анализируемое вещество в присутствии потенциально интерферирующих факторов в материале образца (например, антикоагулянтов, гемолиза, влияние способов обработки образца), или перекрестно-реагирующих антител.

Интерференция. Контролируемые исследования потенциально вносящих помехи веществ или условий показали, что на работу метода количественного анализа не оказывают влияния антикоагулянты (цитрат натрия, калий-ЭДТА, натрия гепарин,), гемолиз (вплоть до 1000 мг/дл гемоглобина), липемия (вплоть до 3000 мг/дл триглицеридов), билирубинемия (вплоть до 20 мг/дл билирубина), альбуминемия (вплоть до 5,0 г/дл). На результаты не оказывает влияния проведение вплоть до пяти циклов замораживания-оттаивания образцов.

Перекрестные реакции. Исследование перекрестной реактивности набора для количественного определения LIAISON® для определения IgG к *Mycoplasma pneumoniae* было проведено для оценки потенциальных помех от антител к другим организмам, которые могут вызывать клинические симптомы, сходные с симптомами заражения *Mycoplasma pneumoniae* (аденовирус, вирусы гриппа А и В, вирус парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*), от антител к другим организмам, которые могут вызвать инфекционные заболевания (hCMV (цитомегаловирус), парвовирус В19, VZV (вирус варицеллы-зостер), *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*), а также влияния других состояний, которые могут стать результатом атипического действия иммунной системы (антиядерные аутоантитела, ревматоидный фактор, НАМА или человеческие антимышьи антитела). Образцы для этих исследований были предварительно проверены с использованием другого коммерческого набора для определения IgG к *Mycoplasma pneumoniae*. Если было обнаружено, что образцы были сероотрицательными в отношении IgG-антител к *Mycoplasma pneumoniae*, то эти образцы использовали для определения потенциальной перекрестной реакционноспособности. Присутствие потенциальных перекрестно реагирующих антител в образцах обнаруживали с помощью СЕ-маркированных наборов для количественного определения. Эти результаты относятся только к группе исследованных образцов, и они не являются гарантированными спецификациями, так как могут существовать различия между лабораториями и разными местами исследования.

Клиническое состояние	Количество ожидаемых отрицательных образцов	Положительные результаты LIAISON®
IgG антитела к hCMV	6	0
IgG антитела к VZV	10	0
IgG антитела к парвовирусу В19	15	0
Антитела к аденовирусу	9	0
Антитела к вирусам гриппа А и В	9	0
Антитела к вирусам парагриппа	4	0

IgG антитела к респираторно-синцитиальному вирусу (RSV)	4	0
IgG антитела к <i>Bordetella pertussis</i>	7	0
IgG антитела к <i>Chlamydia pneumoniae</i>	5	0
IgG антитела к <i>Legionella pneumophila</i>	9	0
Антитела к <i>Toxoplasma gondii</i>	7	0
Антитела к <i>Treponema pallidum</i>	5	0
Ревматоидный фактор (анти-Fc иммуноглобулин)	5	0
Антинуклеарные антитела (ANA)	5	0
Человеческие антимышьи антитела (HAMA)	5	0
Всего	105	0

15.2 Прецизионность анализатора LIAISON®

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфических анализируемых веществ, были изучены для оценки повторяемости и воспроизводимости метода (то есть, вариабельности внутри анализа и между анализами). Эти результаты относятся к группе исследованных образцов, и не являются гарантированными спецификациями, так как могут существовать различия между лабораториями и разными местами исследования.

Повторяемость. В одном прогоне исследовали двадцать повторностей для оценки внутрилабораторной повторяемости.

Повторяемость	A	B	E	C	D
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/мл)	2,2	4,8	18,5	47,0	168,4
Стандартное отклонение (AU/мл)	0,1	0,2	0,7	1,9	13,3
Коэффициент вариации (%)	4,5	4,7	3,9	4,1	7,9
Мин. значение (AU/мл)	2,1	4,0	17,0	43,0	128,0
Макс. значение (AU/мл)	2,5	5,2	19,0	51,0	186,0

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости исследовали двадцать повторностей в разные дни (максимум по два прогона в день) с тремя различными партиями набора. Испытания проводили в двух местах, в лаборатории компании (место испытаний 1) и в независимой лаборатории (место испытаний 2) с использованием двух различных приборов.

Воспроизводимость – Место испытаний 1	A	B	E	C	D
ПАРТИЯ № 01					
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/мл)	3,1	2,6	22,7	52,1	171,4
Стандартное отклонение (AU/мл)	0,2	0,3	2,0	5,1	9,7
Коэффициент вариации (%)	8,0	12,5	8,9	9,8	5,7
Мин. значение (AU/мл)	2,8	2,2	20,0	42,0	153,0

Макс. значение (AU/мл)	3,6	3,4	26,0	62,0	191,0
ПАРТИЯ № 02					
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/мл)	2,9	2,4	23,2	51,0	164,9
Стандартное отклонение (AU/мл)	0,2	0,2	2,1	6,0	13,2
Коэффициент вариации (%)	8,1	10,3	9,2	11,8	8,0
Мин. значение (AU/мл)	2,7	2,1	20,0	40,0	148,0
Макс. значение (AU/мл)	3,6	3,0	27,0	61,0	200,0
ПАРТИЯ № 03					
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/мл)	2,8	2,3	24,8	58,2	187,0
Стандартное отклонение (AU/мл)	0,2	0,2	2,1	3,9	10,1
Коэффициент вариации (%)	6,9	10,5	8,3	6,8	5,4
Мин. значение (AU/мл)	2,4	1,7	21,0	52,0	166,0
Макс. значение (AU/мл)	3,2	2,6	29,0	67,0	200,0
Коэффициент вариации между партиями (%)	4,5	6,0	4,7	7,2	6,5

Воспроизводимость – Место испытаний 2	A	B	E	C	D
ПАРТИЯ № 01					
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/мл)	2,8	2,3	22,6	49,2	156,3
Стандартное отклонение (AU/мл)	0,3	0,2	1,4	3,2	9,4
Коэффициент вариации (%)	9,4	7,1	6,2	6,5	6,0
Мин. значение (AU/мл)	2,4	2,1	19,0	43,0	145,0
Макс. значение (AU/мл)	3,7	2,8	27,0	57,0	188,0
ПАРТИЯ №02					
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/мл)	3,0	2,4	24,4	52,4	163,2
Стандартное отклонение (AU/мл)	0,3	0,1	1,0	1,9	5,3
Коэффициент вариации (%)	11,4	4,2	4,0	3,6	3,2
Мин. значение (AU/мл)	2,7	2,2	23,0	49,0	151,0
Макс. значение (AU/мл)	4,3	2,6	27,0	56,0	174,0
ПАРТИЯ № 03					
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/мл)	3,2	2,6	27,9	63,2	191,4
Стандартное отклонение (AU/мл)	0,1	0,1	1,0	3,3	6,6
Коэффициент вариации (%)	3,4	4,8	3,5	5,2	3,4
Мин. значение (AU/мл)	3,1	2,4	26,0	58,0	179,0
Макс. значение (AU/мл)	3,5	2,9	30,0	74,0	200,0
Коэффициент вариации между партиями (%)	7.6	8.6	10.8	13.3	10.9

15.3 Прецизионность анализатора LIAISON® XL

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфических анализируемых веществ, были проверены методом количественного анализа для оценки повторяемости и воспроизводимости метода (то есть, вариабельности внутри анализа и между анализами). Эти результаты относятся только к группе исследованных образцов, и они не являются гарантированными спецификациями, так как могут существовать различия между лабораториями и разными местами исследования.

Повторяемость. В одном прогоне исследовали двадцать повторностей для оценки внутрилабораторной повторяемости.

Повторяемость	1	2	3	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/mL)	5,97	19,9	41,7	2,55	28,5
Среднеквадратическое отклонение	0,39	1,2	2,0	0,19	1,2
Коэффициент вариации (%)	6,6	6,1	4,8	7,5	4,2
Мин. значение (AU/mL)	5,32	17,5	37,7	2,27	26,0
Макс. значение (AU/mL)	6,72	21,9	44,5	3,02	30,2

Воспроизводимость. Для оценки внутрилабораторной воспроизводимости двадцать повторностей определяли в различные дни (один или два прогона в день) с одной партией набора.

Воспроизводимость	4	5	6	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество определений	20	20	20	20	20
Среднее (AU/mL)	7,83	23,6	41,6	2,00	25,4
Среднеквадратическое отклонение	0,69	2,7	2,9	0,29	2,9
Коэффициент вариации (%)	8,9	11,3	7,0	14,7	11,3
Мин. значение (AU/mL)	6,50	18,7	37,2	1,54	21,3
Макс. значение (AU/mL)	8,77	29,1	47,9	2,92	33,8

15.4. Эффект насыщения высокой дозой

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

Анализ эффекта насыщения был проведен при испытании трех образцов с высоким титром, являющихся положительными в отношении IgG к *Mycoplasma pneumoniae*. Все образцы, как и ожидалось, дали высокие значения концентраций, что указывает на то, что образец был правильно классифицирован.

15.5. Диагностическая специфичность и чувствительность

Диагностическая специфичность и чувствительность была оценена с помощью испытаний 465 образцов, принадлежащих к популяции с признаками и симптомами атипичной пневмонии, отобранных в различных лабораториях. Эти образцы также проверяли с помощью эталонного метода ИФА (твердофазного иммуноферментного анализа) и также применяли принцип согласованности с дополнительными серологическими данными для уточнения ожидаемых результатов для несогласующихся образцов (46/465). Эти результаты относятся к группе исследованных образцов, и они не являются гарантированными спецификациями, так как могут существовать различия между лабораториями и разными местами исследования.

Совпадение с эталонным методом

Совпадение в отношении положительных результатов: 92,3% (96/104) (95% доверительный интервал: 85,4-96,6%).

Совпадение в отношении отрицательных результатов: 89,5% (323/361) (95% доверительный интервал: 85,8-92,4%).

Совпадение в целом: 90,1% (419/465) (95% доверительный интервал: 87,0-92,7%).

Результаты после определения согласованности

Четыре положительных и 323 отрицательных результатов наблюдали в исследованной популяции, которая была ожидаемо отрицательной - диагностическая специфичность: 98,8 % (323/327) (95% доверительный интервал: 95,5--98,6 %).

Восемь отрицательных и 130 положительных результатов наблюдали в исследованной популяции, которая была ожидаемо положительной - диагностическая чувствительность: 94,2 % (130/138) (95% доверительный интервал: 88,8--97,4 %).

Результаты в парных выборках

Кроме этого, проводили испытание 49 парных образцов, отобранных по меньшей мере через две недели от пациентов с недавним заражением *Mycoplasma pneumoniae*. Образцы классифицировали с использованием набора для количественного определения IgG к *Mycoplasma pneumoniae* LIAISON® и коммерческого набора с использованием метода иммуноферментного анализа (ИФА) для обнаружения IgG к *Mycoplasma pneumoniae*.

Диагностическое согласование (степень совпадения) на парных образцах была равна 95,9% (47/49) - 95% доверительный интервал: 86,0-99,5%. Эти результаты относятся к группе исследованных образцов, и они не являются гарантированными спецификациями, так как могут существовать различия между лабораториями и разными местами исследования.

Четырнадцать из 49 парных образцов (28,6%) были согласованно классифицированы как **отрицательные** обоими методами количественного определения, так как все парные образцы были отрицательными.

Восемнадцать из 49 парных образцов (36,7%) были согласованно классифицированы как **текущее заболевание** обоими методами количественного определения, так как наблюдали трехкратное или более возрастание концентраций IgG между парными образцами (диапазон концентраций: от 3,3 до 210 AU/мл - медиана: 33 AU/мл) и по крайней мере один из парных образцов был положительным.

Семь из 49 парных образцов (14,3%) были согласованно классифицированы как **перенесенное заболевание** обоими методами количественного определения, так как оба парных образца были положительными (диапазон концентраций: от 70 до 125 AU/мл - медиана: 105 AU/мл).

Один из 49 парных образцов был несогласованно классифицирован как отрицательный методом количественного определения EIA или как перенесенное заболевание методом количественного определения LIAISON®, так как оба парных образца были положительными (концентрация: 12 AU/мл). Обоими методами количественного определения результат был классифицирован как **отсутствие текущего заболевания**.

Один из 49 парных образцов был несогласованно классифицирован как отрицательный методом количественного определения LIAISON® или как перенесенное заболевание методом количественного определения EIA. Обоими методами количественного определения результат был классифицирован как **отсутствие текущего заболевания**.

LIAISON® Контроль *Mycoplasma pneumoniae* IgG (код 317021)

1. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Контроли IgG к *Mycoplasma pneumoniae* (отрицательный и положительный) для анализаторов линейки LIAISON® необходимо использовать для хемилюминесцентного иммунологического анализа (CLIA) в качестве средства проверки достоверности анализа. Рабочие характеристики контролей IgG к *Mycoplasma pneumoniae* LIAISON® не были установлены при применении вместе с другими наборами для анализа или приборами.

Анализаторы LIAISON®. Сертификат анализа анализатора LIAISON® дает специфическую информацию о партии контролей, которые необходимо вручную внести в программное обеспечение анализатора до установки флаконов с контролями на панель. Для получения детальной информации обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

Анализаторы LIAISON® XL. Штрих-коды сертификата анализа дают специфическую информацию о партии контролей, и их необходимо считать ручным сканером штрих-кодов анализатора LIAISON® до установки флаконов с контролями на панель. Для получения детальной информации обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

2. ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Отрицательный контроль (2 x 0,5 мл)	CONTROL -	Человеческая сыворотка/ плазма, не обладающая реакционной способностью к IgG антителам к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , 0,2% ProClin® 300, консерванты.
Положительный контроль (2 x 0,5мл)	CONTROL +	Человеческая сыворотка/ плазма, обладающая реакционной способностью к IgG антителам к <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , 0,2% ProClin® 300, консерванты, инертный желтый краситель.

Все реагенты поставляют в готовом для использования виде. Диапазон концентраций каждого контроля сообщен на сертификате анализа и указывает пределы, установленные компанией «DiaSorin» для значений контролей, которые можно получить в достоверных прогонах количественного анализа. Каждая лаборатория несет ответственность за принятие различных пределов для того, чтобы отвечать индивидуальным требованиям.

3. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Для диагностического применения *in vitro*.
- Контроли не являются специфичными для партии наборов, и их можно безопасно применять перекрестным образом с различными партиями наборов реагентов.
- Все материалы, используемые для производства компонентов, представленных в этом наборе, прошли испытания на присутствие HBsAg, анти-ВГС, анти-ВИЧ-1, анти-ВИЧ-2, и было определено, что они являются нереакционноспособными. Однако, так как ни один метод испытаний не может дать абсолютные гарантии того, что патогены отсутствуют, все образцы человеческого происхождения следует считать потенциально опасными инфекциями и работать с ними с осторожностью.
- Соблюдать обычные предосторожности, требуемые для работы со всеми лабораторными реагентами.
- Отправление в отходы отработанного материала должно проводиться в соответствии с местными законодательными руководствами.

4. ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

Нельзя есть, пить, курить и применять косметику в аналитической лаборатории.

Не пипетировать ртом.

Избегать прямого контакта со всеми потенциальными инфекционными материалами, используя такие защитные средства, как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. Тщательно мыть руки в конце каждого анализа.

Избегать разбрызгивания или образования аэрозолей. Все капли биологических реагентов необходимо удалять раствором гипохлорита натрия с 0,5%-ным раствором активного хлора, и используемые средства должны быть обработаны как зараженные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для метода количественного анализа, следует рассматривать как потенциально способные к передаче инфекционных возбудителей. С отходами необходимо обращаться с осторожностью, и их необходимо отправлять утилизировать в соответствии лабораторными руководствами и действующими законодательными постановлениями каждой страны. Все материалы для повторного использования должны быть соответствующим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и руководствами. Необходимо проверять эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Нельзя использовать наборы или их компоненты по истечении срока годности, указанного на этикетке.

Согласно Постановлению ЕС 1272/2008 (CLP, Классификация, маркировка и упаковка) опасные реагенты классифицируют и маркируют указанным ниже образом:

РЕАГЕНТЫ:	CONTROL - CONTROL +
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Сенсибилизация кожи 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Внимание
СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 Восклицательный знак
ОПАСНОСТЬ	H317 Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
ПРЕДУПРЕДИТЕЛЬНЫЕ ФРАЗЫ:	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).

Для получения дополнительной информации см. Паспорта безопасности, которые можно найти на www.diasorin.com.

5. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

После получения контроля необходимо хранить при температуре 2--8°C в вертикальном

положении для предотвращения попадания раствора на колпачок флакона. Не замораживать. Когда контроли хранят в герметичном виде и держат в вертикальном положении, они стабильны при температуре 2--8°C вплоть до истечения срока годности. Между двумя последовательными использованиями уже открытые контроли стабильны в течение шести недель при соответствующем хранении при температуре 2--8°C. Избегать бактериального заражения контролей. Контроли нельзя использовать по истечении срока годности, указанного на этикетках флаконов.

6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

- Помещают флаконы с контролем в штативы типа С на анализатор. Каждый раствор контроля (два флакона) позволяет провести не менее 20 испытаний.
- Минимальный требуемый объем равен 420 мкл (20 мкл контроля + 400 мкл «мертвого» объема).
- На время использования перед открытием флаконов контроли доводят до комнатной температуры (20--25°C) и держат на панели прибора только в течение количества времени, требуемого для проведения испытания контроля качества.
- После использования флаконы быстро закрывают пробкой и хранят при температуре 2--8°C в вертикальном положении.
- Во время работы соблюдают соответствующие предосторожности во избежание бактериального загрязнения контролей.

7. РАБОТА

Для получения информации о надлежащей работе, пожалуйста, обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

8. ЗАДАННЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Заданные значения и диапазоны концентраций IgG к *Mycoplasma pneumoniae* в контролях напечатаны в сертификате анализа. Их установили после принятия в расчет вариабельности прогонов по отношению к сохраненной теоретической кривой для гарантирования точности аналитических результатов, и для определения стабильности или порчи реагентов. Если значения контролей многократно находятся вне ожидаемых диапазонов, то, вероятно, что испытание проведено неправильно.

Перевод соответствует оригиналу. Переводчик: Манина Е.

