

LIAISON® Rubella IgM (310730)
IgM к вирусу краснухи

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение специфических IgM к вирусу краснухи в человеческой сыворотке или плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки LIAISON®.

Использовать только для “*in vitro*” диагностики.

2. ВВЕДЕНИЕ

Краснуха – острое вирусное инфекционное заболевание, вызываемое вирусом краснухи, который относится к группе Тогавирусов (Togaviridae) и содержит одноцепочечную РНК. Заболевание протекает в типичной легкой форме, крайне редко сопровождается осложнениями и в большинстве случаев протекает без ярко выраженных клинических проявлений. Симптоматика обычно легкая, характеризуется лихорадкой, общим недомоганием, мелкопятнистой сыпью (на протяжении 3-5 дней) и, иногда, ринитом и конъюнктивитом. Заболевание часто сопровождается увеличением лимфатических узлов. В результате инфекции развивается пожизненный иммунитет.

Особенно опасно заражение вирусом краснухи в течение первых четырех месяцев беременности. При отсутствии иммунитета заражение беременной женщины с большой вероятностью может привести к внутриутробным нарушениям. Врожденная краснуха является причиной широкого спектра серьезных нарушений, многие из которых необратимы и оказывают неблагоприятное воздействие на более поздних стадиях развития (катаракта, глухота, гепатоспленомегалия, задержка психомоторного развития, деформация костной ткани, кардиопатии, невропатии). Патологические последствия инфицирования матери у плода или новорожденного ребенка зависят от тератогенности вируса и срока беременности, на котором произошло заражение. Срок беременности, на котором женщина была инфицирована, считается наиболее важным фактором внутриутробной передачи инфекции и повреждения плода. Общеизвестно, что риск для плода снижается с увеличением срока беременности: риск наиболее велик в течение первых двух месяцев беременности (40-60%) и постепенно снижается на протяжении четвертого и пятого месяцев (10-20%). Клинические исследования у новорожденных и исследования с выделением вируса показали, что заражение плода редко происходит после второго триместра беременности.

Вирус краснухи передается *in utero* во время первичного инфицирования матери, как аппаратно, так и инаппаратно, когда вирус с кровотоком заражает плаценту и, впоследствии, плод. Случаи внутриутробной передачи вируса в результате повторного инфицирования матери крайне редки, что свидетельствует о том, что материнский иммунитет к вирусу краснухи, как естественный, так и искусственный, защищает плод от заражения. Инфицирование матери может никак не отразиться на плоде, но может и привести к резорбции плода (только при заражении на ранних стадиях беременности), выкидышу, мертворождению, инфицированию плаценты без заражения плода и инфицированию и плаценты, и плода. У зараженных детей могут наблюдаться множественные поврежденные органы или, что часто наблюдается, не обнаруживаются никакие последствия. Однако, после продолжительного периода у таких, на первый взгляд здоровых, детей обнаруживается потеря слуха, нарушения центральной нервной системы или другие дефекты. Первый гуморальный иммунный ответ на инфекцию выражается в синтезе специфических IgM к вирусу краснухи, количество которых достигает своего максимума через 2 недели после появления сыпи, IgM обнаруживаются в крови на протяжении 1-2 месяцев после их появления. Специфические IgG обычно появляются через несколько дней после появления сыпи, обычно через 1 неделю после начала синтеза IgM. Количество IgG быстро возрастает и выходит на постоянный уровень через 6-10 недель после проявления клинических симптомов, после чего количество IgG постепенно снижается до определенного уровня, который поддерживается на протяжении всей оставшейся жизни (15-200 МЕ/мл). Повторная инфекция протекает бессимптомно и сопровождается умеренным увеличением количества специфических IgG.

Корректное определение количества IgM и IgG к вирусу краснухи является полезным инструментом для диагностики и скрининга острой инфекции, для оценки иммунного статуса фертильных женщин и, таким образом, для разработки подходящих профилактических мер в отношении женщин детородного возраста. С тех пор, как была разработана соответствующая вакцина, методика определения IgG к вирусу краснухи нашла широкое применение для детекции сероконверсии пациента после вакцинации.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения специфических IgM к вирусу краснухи представляет собой обратный 3-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Мышинные моноклональные IgG к IgM человека связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза), мышинные моноклональные антитела к вирусу краснухи мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время первой инкубации IgM, присутствующие в калибраторах, образцах и контролях связываются с твердой фазой. Во время второй инкубации антигены вируса краснухи взаимодействуют со специфическими IgM, иммобилизованными на твердой фазе. Во время третьей инкубации, конъюгаты антител с красителем связываются с иммунным комплексом, образованным во время второй стадии. После первой и третьей инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются запускающие реактивы, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию IgM к вирусу краснухи 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 вируса краснухи; БСА; фосфатный буфер; 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 вируса краснухи; БСА; фосфатный буфер; ProClin® 300; инертный краситель (синий). Концентрация (ОЕ/мл) подтверждена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Антиген (2,3 мл)	Инактивированные частицы вируса краснухи (штамм HPV 77); неспецифические мышиные моноклональные IgG; БСА; буфер; ProClin® 300; консерванты.
Раствор для разведения образцов (2*28 мл)	БСА; фосфатный буфер; ProClin® 300; инертный краситель (желтый).
Конъюгат (5 мл)	Мышиные моноклональные антитела к вирусу краснухи, меченные производным изолуминола (аминобутилэтилизолюминолом); неспецифические мышиные моноклональные IgG; БСА; фосфатный буфер; консерванты.
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 моющей 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 вирусу краснухи (положительный и отрицательный) (каталожный номер 310731)

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) **[SORB]** маркируется как EUN210; по запросу доступны паспорта безопасности.

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

7. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ.

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

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 пузыри 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. 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 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.
- 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

Для анализатора требуется наличия файлов: **Rub-Mc, Rub-M, RM-cAg.**

Для тестирования образцов используйте: **Rub-Mc, Rub-M.**

Никогда не используйте **RM-cAg.**

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.

Файл анализа для определения IgM краснухи – Rub-Mc.

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление раствора для разведения образцов.
3. Добавление магнитных частиц.
4. Инкубация.
5. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
6. Добавление антигена вируса краснухи.
7. Добавление раствора для разведения образцов.
8. Инкубация.
9. Добавление конъюгата.
10. Инкубация.
11. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
12. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

Возможно проведение дополнительной процедуры (см. пункт 16), в которой антиген вируса краснухи не добавляется при исследовании конкретной положительной или сомнительной пробы для того, чтобы проверить специфичность взаимодействия антител с антигенами вируса краснухи. Данная процедура позволяет сравнить концентрацию IgM в пробе без добавления вирусного антигена (имитация неспецифической реакции) с концентрацией в той же пробе с добавлением вирусного антигена (т.е. в соответствии со стандартной процедурой).

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 вирусу краснухи в ОЕ/мл (относительных единиц 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: 10-400 ОЕ/мл IgM к вирусу краснухи.

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 15 предварительных разведений (помимо того количества раствора для разведения образцов, которое требуется для проведения теста, как такового).

Внимание – тест разведения описан в параграфе 15.4.

Пробы с концентрацией IgM к вирусу краснухи ниже **20 ОЕ/мл** должны расцениваться, как отрицательные.

Пробы с концентрацией IgM к вирусу краснухи от **20 до 25 ОЕ/мл** должны расцениваться, как сомнительные («серая зона»).

Пробы с концентрацией IgM к вирусу краснухи выше **25 ОЕ/мл** должны расцениваться, как положительные. Положительный результат указывает на присутствие в крови IgM к вирусу краснухи, что указывает на острую инфекцию. Отрицательный результат, тем не менее, не исключает возможность недавнего заражения, так как на ранних стадиях инфицирования синтез IgM может не наблюдаться. Если, несмотря на отрицательный результат, остается подозрение о возможности инфицирования, необходимо провести повторное исследование пробы через 1-2 недели. Сомнительный результат измерения количества IgM может указывать как на недавнюю, так и на прошедшую инфекцию с пролонгированным синтезом IgM к вирусу краснухи. Для клинической интерпретации результатов необходимо провести дополнительные серологические исследования.

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.

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: контролируемые исследования потенциально мешающих факторов или условий продемонстрировали, что характеристики теста не менялись в присутствии антикоагулянтов (цитрат натрия, ЭДТА, гепарин), гемолиза (вплоть до концентрации гемоглобина 10 мг/мл), липемии (вплоть до концентрации триглицеридов 30 мг/мл), билирубинемии (вплоть до концентрации билирубина 0,2 мг/мл), а также под воздействием циклов

замораживания и оттаивания.

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

Кросс-реактант	Количество предполагаемых отрицательных проб	Количество положительных и сомнительных проб по тесту IgM к краснухе LIAISON®
IgM к парвовирусу В19	56	0
IgM к токсоплазме	13	0
IgM к вирусу Эпштейна-Барр	34	0
IgM к цитомегаловирусу	26	0
IgM к вирусу гепатита А	60	0
IgM к с-антигену вируса гепатита В	10	0
IgM к вирусу простого герпеса типа 1/2	11	0
Антитела к вирусу гриппа	8	0
IgM к боррелии	9	0
IgM к вирусу кори	10	0
IgM к вирусу паротита	3	1+
IgM к вирусу Варицелла-Зостер	16	0
Антитела к герпес-вирусу типа 6	2	0
IgM к бледной трепонеме	3	0
Антиядерные аутоантитела	44	3+
Ревматоидный фактор	60	0
Всего	365	4+

Для диагностики острой инфекции краснухи по одной пробе необходимо использовать комплекс серологических маркеров краснухи и клинических данных. Единичный результат не должен использоваться для диагностики.

15.2 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON®

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического анализата, 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	A	B	C	Воспроизводимость	A	B	C
Количество измерений	20	20	20	Количество измерений	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	32,7	72,6	97,5	Среднее (ОЕ/мл)	31,7	68,9	91,3
Стандартное отклонение	2,78	4,28	7,90	Стандартное отклонение	4,25	7,23	10,9
Коэффициент вариации (%)	8,5	5,9	8,1	Коэффициент вариации (%)	13,4	10,5	12,0

15.3 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического анализата, 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	5	4	6	3	8	10	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	29,6	40,9	44,2	56,9	57,4	92	150	1,95	75,4
Стандартное отклонение	1,92	2,64	2,24	2,16	1,92	4,16	10,08	0,48	2,88
Коэффициент вариации (%)	6,5	6,5	5,1	3,8	3,4	4,5	6,7	24,6	3,8
Минимальное значение	26,4	37,3	40,7	52,6	53	82,8	131	1,32	70,7
Максимальное значение	32,3	49,7	47,9	60,4	62,2	102	166	3,16	82

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

Воспроизводимость	1	2	5	3	7	8	9	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	25,2	33,2	35,1	50,4	77,2	79,9	134	1,49	74
Стандартное отклонение	2,44	3,41	3,12	4,76	5,62	6,06	12,88	0,51	6,09
Коэффициент вариации (%)	9,7	10,3	8,9	9,4	7,3	7,6	9,6	34	8,2
Минимальное значение	20,9	28,2	29,3	40,2	65,7	68,5	108	0,425	64,1
Максимальное значение	30	39	43,6	59,3	87,3	88	160	2,58	82,9

15.4 Восстановление разведения

Общеизвестно, что тест-системы основанных на принципе μ -захвата, могут демонстрировать пробозависимые

результаты оценки восстановления разведения, и поэтому на них может оказывать влияние природа дилуента, используемого для разбавления неразведенной пробы (K. Hansen et al., J. Clin Microbiol., 29 (1): 166-173, 1991). В таблице ниже приведены результаты оценки восстановления разведения двух проб с высокой концентрацией специфических IgM к антигенам вируса краснухи. Сравнение ожидаемой концентрации специфических IgM с измеренной после разведения было выполнено методом линейной регрессии. Коэффициент корреляции (r) лежал в диапазоне 0,997-0,998.

Тем не менее, данные результаты полностью не отображают поведение ни различных проб при разведении одним и тем же дилуентом, ни одной и той же пробы при разведении различными дилуентами.

Степень разбавления	Ожидаемая концентрация, ОЕ/мл	Измеренная концентрация, ОЕ/мл	Восстановление, %	Степень разбавления	Ожидаемая концентрация, ОЕ/мл	Измеренная концентрация, ОЕ/мл	Восстановление, %
-	-	652,0	-	-	-	1234,4	-
1:4	163,0	151,6	93,0	1:8	154,3	171,9	111,4
1:8	81,5	76,2	93,5	1:10	123,4	131,8	106,8
1:10	65,2	54,3	83,3	1:20	61,7	75,2	121,8
1:20	32,6	27,4	84,0	1:30	41,7	54,7	132,9
1:30	21,7	25,9	119,2	1:40	30,9	36,0	116,7
1:40	16,3	14,6	89,6	1:50	24,7	27,3	110,6
1:50	13,0	11,2	85,9	1:60	20,6	22,1	107,4
1:60	10,9	9,7	89,3	1:70	17,6	18,6	105,5
				1:80	15,4	15,4	99,8
				1:90	13,7	14,9	108,6

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 была проведена путем исследования одной положительной по тесту на IgM к антигенам краснухи пробы 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 1662 проб из различных отобранных популяций (лица, не имевшие контакта с вирусом краснухи; лица, страдающие аутоиммунными заболеваниями; больные различными инфекционными заболеваниями со схожей симптоматикой; лица, перенесшие краснушную инфекцию или вакцинацию; лица, находящиеся в острой стадии инфекции краснухой или в стадии реактивации; лица с длительно персистирующими IgM к антигенам краснухи). Пробы были исследованы несколькими методами и эти результаты наряду с доступными клиническими и серологическими данными были использованы для классификации исследованных проб. 76 проб не удалось классифицировать с помощью референсных методов, и поэтому они были исключены из дальнейшего анализа данных.

11 положительных, 12 сомнительных (реактивных) и 1389 отрицательных результатов было получено при исследовании предположительно отрицательных проб, диагностическая специфичность составила: 1389/1412, то есть 98,37% (95% доверительный интервал 97,57-98,96%).

2 отрицательных, 15 сомнительных (реактивных) и 157 положительных результатов было получено при исследовании предположительно положительных проб, диагностическая чувствительность составила 172/174, то есть 98,85% (95% доверительный интервал 95,91-99,86%).

16. ПРОЦЕДУРА БЕЗ ДОБАВЛЕНИЯ АНТИГЕНА

Возможно проведение дополнительной процедуры, в которой антиген вируса краснухи не добавляется при исследовании конкретной положительной или сомнительной пробы для того, чтобы проверить специфичность взаимодействия антител с антигенами вируса краснухи. Данная процедура позволяет сравнить концентрацию IgM в пробе без добавления вирусного антигена (имитация неспецифической реакции) с концентрацией в той же пробе с добавлением вирусного антигена (т.е. в соответствии со стандартной процедурой). Модифицированная процедура отличается от стандартной, описанной в пункте 11, только тем, что не происходит добавления вирусного антигена в реакционную смесь. Она должна быть проведена в тот же день, что и стандартная, с использованием одной и той же калибровки. Для запуска модифицированной методики необходимо выбрать метод-файл Rub-Mc.

Интерпретация результатов

Анализатор автоматически рассчитывает значение индекса специфических IgM к вирусу краснухи (соотношение интенсивностей флуоресценции пробы без добавления антигена и с добавлением антигена). 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: 0,01-0,95 индекса специфичности IgM к вирусу краснухи.

Индекс специфичности ниже 0,300 обычно указывает на наличие специфического взаимодействия между IgM пробы и вирусным антигеном LIAISON®. Величина индекса, равная или большая 0,300, обычно является признаком неспецифической реакции. Пробы со значением индекса специфичности больше 0,950 должны быть исследованы повторно. Если повторное исследование подтвердит первоначальный результат, то он должен быть интерпретирован, как результат, больший 0,300.

Все 168 предположительно положительных проб, полученных во время оценки характеристик набора реагентов, были протестированы на специфичность к антигенам вируса краснухи, полученные величины индекса специфичности были ниже 0,300.

15 предположительно отрицательных проб, результат исследования которых с помощью тест-системы LIAISON® Rubella IgM был положительным или сомнительным, были протестированы на специфичность взаимодействия с антигенами вируса краснухи: величины индекса специфичности 12 проб были выше 0,300 и 3 проб ниже 0,300. Диагностическую специфичность реагентов после проведения процедуры без добавления антигена можно оценить на основании полученных результатов: можно ожидать, что из 23 предположительно отрицательных проб, но положительных или сомнительных по тесту LIAISON® Rubella IgM, индекс специфичности 18 проб будет выше 0,300, а 5 – ниже 0,300. На основании этого предположения диагностическая специфичность набора составит 1407/1412, то есть 99,65% (95% доверительный интервал 99,16-99,89%).