

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «Био-Рад Лаборатории»



2010 г.

Инструкция по применению изделия медицинского назначения

«Реагенты для in vitro диагностики на приборе БиоПлекс 2200 (BioPlex 2200)»

2010

Содержание

Сфера использования

Краткое содержание и пояснения

Принцип методики

Состав набора

Дополнительные необходимые единицы, поставляемые компанией Bio-Rad

Меры предосторожности/предупреждения

Сбор и хранение образцов

Подготовка и хранение реагентов

Признаки нестабильных и испорченных реагентов

Методика

А) Калибровка

В) Контроль качества

С) Загрузка образцов/технологический процесс

Д) Справка о стандартах

Руководство по интерпретации результатов

Ограничения методики

Статистические данные

Характеристики эффективности

- Тесты сравнения

- Воспроизводимость результатов

- Перекрестная реактивность

- Интерферирующие вещества

- Матричное сравнение

Ссылки

Используемые символы

Информация о торговой марке

Набор HSV-1 и HSV-2 IgG BioPlex 2200

Сфера использования.

Набор HSV-1 и HSV-2 IgG BioPlex 2200 предназначен для мультиплексной качественной проточной иммунодетекции и дифференцировки антител IgG к вирусам простого герпеса первого и второго типов в сыворотке или гепаринизированной плазме человека. Тест показан для людей, живущих половой жизнью, и беременных в качестве вспомогательного средства при постановке предположительного диагноза герпес-инфекции первого и второго типа. Прогнозируемое количество положительных и отрицательных результатов зависит от популяции.

Тест не проверен Управлением по контролю за продуктами и медикаментами на пригодность в скрининге доноров крови и плазмы. Применение данного анализа не было обосновано для сферы педиатрии, новорожденных и пациентов с ослабленным иммунитетом. Набор HSV-1 и HSV-2 IgG предназначен для использования в приборе Bio-Rad BioPlex 2200.

Краткое содержание и пояснения.

Вирус простого герпеса первого и второго типов — широко распространенные в мире инфекции. Распространенность в мире зависит от возраста, пола, расовой принадлежности, географических особенностей и сексуальной активности. В США преобладает вирус герпеса первого типа и присутствует у 50-70% населения, второго типа — у 20-30%, может варьироваться в зависимости от демографических показателей⁷. HSV-1 характеризуется поражениями во рту (герпетическая лихорадка или пузырьковый лишай), на губах и глотке и передается со слюной инфицированного человека. HSV-2 характеризуется появлением болезненных пузырьков и язвopodobными поражениями в области гениталий и анального отверстия и передается половым путем. После первичной вспышки герпеса может происходить реактивация (4-8 раз в год для генитального герпеса). Наличие антител у беременных женщин также может вызывать опасение, генитальный герпес может передаваться плоду (в редких случаях) и являться причиной внутриутробного заражения герпес-инфекцией. Риск инфицирования новорожденных выше всего (30-50%) при первичном заражении, самая большая вероятность заражения у беременных женщин отрицательных по IgG для HSV-1 и HSV-2, так как они сами находятся в группе риска по заражению первичным герпесом. Тесты на антитела к герпес-вирусу особенно ценны из-за того, что часто инфекция протекает субклинически, около 90% инфицированных не только не имеют нераспознанных симптомов, но и симптомов вообще.

Вирус простого герпеса — реплицирующийся в ядре, икосоздрической формы, оболочечный ДНК вирус. Главное отличие вирусов первого и второго типа друг от друга — различные органы мишени. HSV-1 атакует тригеминальный ганглий (скопление нервных клеток около уха). HSV-2 обычно сохраняется в сакральном ганглии (поясница), воспроизводится в зоне гениталий. Генитальные проявления

герпеса первого типа учащаются (в 35% случаев генитального герпеса), особенно в случае отсутствия вируса герпеса второго типа в организме.

Структура герпес вируса комплексная. Он состоит из тороидального сердечника (ДНК вокруг белка), окруженного капсидом из 15-20 белков. Снаружи капсида находится белковая оболочка, снаружи частицы находится вирусная защитная оболочка. Защитная оболочка содержит как минимум восемь гликопротеидов. Последовательность гликопротеидов и определяет выявление антител. HSV-1 и HSV-2 могут быть диагностированы различными способами. В первую очередь, визуальное определение герпетических поражений. Во-вторых, выявление вирусов с помощью культивирования мазков, взятых из поражений. В-третьих, определение генома вируса с помощью ПЦР (полимеразная цепная реакция), которая подразумевает выявление и дифференцировку HSV-1 и HSV-2. Для предварительной диагностики HSV-1 и HSV-2 используются специфические серологические тесты, при которых образцы крови собираются и анализируются для выявления антител к вирусу герпеса. Специфическая серодиагностика включает в себя вестерн-блоттинг, ИФА и ELISA. Для набора BioPlex HSV-1 и HSV-2 IgG возможны тесты, направленные на выявление gG1 и gG2 гликопротеидов, специфически распознаваемые у пациентов инфицированных вирусом герпеса.

Тест Bio-Rad используются для выявления и дифференцировки вирусов герпеса первого и второго типов. В анализах BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG используются рекомбинантные синтетические беки, отдельно нанесенные на частицы. Таким образом, это позволяет выявлять антитела и получать результаты отдельно.

Принцип процедуры

В наборе BioPlex HSV-1 и HSV-2 IgG используется метод проточной иммунофлуоресценции, который очень схож с традиционным ИФА, но позволяет отдельно выявлять и идентифицировать различные антитела в одной пробирке.

Два различных типа окрашенных частиц покрыты антигенами, связанными с вирусами простого герпеса первого и второго типов. BioPlex 2200 соединяет в реакционной пробирке определенное количество сыворотки пациента, раствор для разведения и набор реакционных частиц. Смесь инкубируется при 37°C. После цикла промывки, добавляются антитела против IgG человека, конъюгированные с фикоэритрином, и инкубируются при 37°C. Избыток конъюгата удаляется в следующем цикле промывки, частицы ресуспендируются в промывочном буфере. Затем частицы пропускаются через детектор. Распознавание окрашенных частиц производится с помощью регистрации флуоресценции красителей, а количество антител, связанных с антигенами, с помощью регистрации флуоресценции присоединенного фикоэритрина.

Три типа окрашенных частиц, внутренние частицы-образцы (ISB), частицы для проверки сывороток (SVB) и частицы без реагентов (RBB) присутствуют в каждой реакционной смеси для подтверждения работы детектора, добавления сыворотки в реакционную пробирку и отсутствия значительного неспецифического

связывания. Для более подробной информации читайте Руководство пользователя BioPlex 2200.

Инструмент калибруется с помощью 4 отдельных флаконов калибраторов, отдельно поставляемых компанией Bio-Rad.

Состав набора.

Упаковка реагентов BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG (665-3350). Упаковка содержит реагенты для постановки 100 тестов.

Флакон	Описание
Набор частиц	Один флакон (10 мл), содержащий три различных типа окрашенных частиц, покрытых антигенами HSV-1 и HSV-2 IgG; внутренние частицы-образцы (ISB), частицы для проверки сывороток (SVB) и частицы без реагентов (RBB); с белковым стабилизатором в глицериновом буфере. ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
Конъюгат	Один флакон (5мл), содержащий фикоэритрин, конъюгированный с мышиными моноклональными антителами против IgG человека; фикоэритрин, конъюгированный с мышиными моноклональными антителами против фактора FXIII, с белковым стабилизатором в буфере. ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
Раствор для разведения образцов	Один флакон (10мл), содержащий буфер с белковыми стабилизаторами (бычий и мышинный). ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.

Дополнительные необходимые позиции, поставляемые компанией BioRad.

REF	Описание
663-1600	Набор для калибровки BioPlex HSV-1 и HSV-2 IgG: четыре флакона калибраторов (0,5 мл), содержащие антитела к HSV-1 и HSV-2 IgG. Калибраторы изготовлены на основе сыворотки человека из дефибринированной плазмы, полученной из сыворотки больного человека, с добавлением консервантов 0,3% ProClin 300, <0,1% натрия азид и 0,1% натрия бензоата.
663-1630	Набор контролей BioPlex HSV-1 и HSV-2 IgG: положительный контроль – два флакона (1,5 мл), содержащие человеческие антитела к HSV-1 и HSV-2 IgG. Контроль изготовлен на основе сыворотки человека из дефибринированной плазмы с добавлением антител к токсоплазме, рубеле, ЦМВ, полученных из сыворотки больного человека, BioPlex HSV-1 и HSV-2 IgG отрицательный контроль – два

флакона (1,5 мл). Контроль изготовлен на основе сыворотки человека из дефибринированной, полученной из сыворотки больного человека. Все контроли содержат консерванты 0,3% ProClin 300, <0,1% натрия азида и 0,1% натрия бензоата.

- 660-0817 Буферный раствор BioPlex 2200: две бутылки (4 литра) с Солевым Фосфатным буфером (PBS), ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
- 660-0818 Промывочный раствор BioPlex 220: одна бутылка (10 литров) с Солевым Фосфатным буфером (PBS) и Tween 20, ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
- 660-0000 Прибор BioPlex 2200 и система программного обеспечения.

Меры предосторожности/предупреждения

0,3% ProClin 300 –

R43 - может вызвать раздражение при контакте с кожей.

S24-35-37: предотвращайте контакт с кожей. Контейнер и содержащийся в нем материал должны применяться с учетом мер безопасности. Используйте перчатки.

S56: утилизируйте этот контейнер и содержащийся в нем материал вместе с опасными отходами.

1. Для проведения диагностики в лабораторных условиях.
2. Только для профессионального использования.
3. Каждый образец человеческой сыворотки, использованный при производстве наборов BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG (включая калибраторы и наборы контролей), протестирован на наличие HBsAg, антител к вирусу гепатита С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, с помощью методов принятых Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). На сегодняшний день отсутствуют методы, дающие абсолютную гарантию, что материалы, полученные из сыворотки человека, не содержат этих, либо иных возбудителей заболеваний. В соответствии со правилами «Надлежащей лабораторной практики», все материалы, полученные из тканей человека, считаются потенциально опасными из-за возможности инфицированности Гепатитом В, Гепатитом С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, и любыми другими возбудителями. По этой причине, использование набора BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG, включая реагенты, калибраторы и контроли, должно проводиться с соблюдением всех мер предосторожности, характерных для работы с инфицированным материалом. При работе с набором и образцами для

анализов рекомендовано придерживаться рекомендациям Управления охраны труда (США) (в соответствии с государственными нормами для биологически опасных веществ 2 группы для всех материалов, содержащих и возможно содержащих инфекционные агенты).

4. Рассматривайте все материалы, изготовленные из тканей человека, как потенциально опасные и работайте с ними, соблюдая все рекомендованные меры предосторожности (29 CFR 1910.1030).
5. Во время работы с наборами реагентов и образцами пациентов воздержитесь от курения, приема пищи и напитков.
6. Не пипетируйте ртом.
7. Во время работы с реагентами и образцами и управления прибором BioPlex 2200 наденьте средства индивидуальной защиты.
8. Уничтожайте все отходы в соответствии с предписаниями лаборатории.
9. Отходы, содержащие образцы пациентов или биологические продукты реакций, следует уничтожать как биологически-опасные.
10. Химические реагенты необходимо использовать в соответствии с правилами «Надлежащей лабораторной практики».
11. Для получения дополнительной информации о безопасном использовании и биологической опасности наборов и дополнительных материалов изучите Инструкцию по безопасности использования материалов (MSDS). Инструкция предъявляется по требованию.
12. Незамедлительно тщательно протирайте поверхности, на которые были разлиты жидкости. Прозеинфицируйте поверхности, загрязненные биологически-опасными материалами. Надлежащим образом храните контаминирующие материалы.
13. Не используйте реагенты после истечения срока годности. Срок годности отпечатан на коробках.
14. Не меняйте между собой крышки флаканов и бутылок, это может привести к перекрестной контаминации.
15. Необходимо строго соблюдать протокол, описанный в данном документе, для обеспечения правильного использования продукта. При обнаружении результатов, отклоняющихся от нормы, обратитесь в службу технической поддержки Bio-Rad.
16. Никогда не смешивайте одинаковые реагенты из разных бутылок. Это может привести к контаминации реагентов и снижать эффективность использования продукта.
17. Азид натрия может вступать в реакцию с медными и свинцовыми трубками с образованием взрывоопасных азидов этих металлов. Для предотвращения

образования отложений азидов, промывайте контейнеры большим количеством воды после удаления жидкостей.

Типы образцов

Рекомендуется проводить анализы, используя сыворотку и гепаринизированную или ЭДТА плазму. Предотвращайте гемолиз.

Хранение образцов

Сыворотка и плазма должны храниться при температуре 2-8°C не дольше 7 дней. Для длительного хранения замораживайте образцы при температуре от -20°C и ниже.

Подготовка образцов

Тщательно перемешайте размороженные образцы, рекомендуется центрифугировать размороженные образцы для растворения образованных плотных скоплений. Не размораживайте образцы более трех раз.

Транспортировка образцов

Все тестируемые сыворотки и другие образцы тканей человека должны транспортироваться в соответствии с внутренними региональными и международными правилами. Не превышайте время хранения и температурный режим, описанные выше.

Подготовка и хранение реагентов.

- Не замораживайте реагенты HSV-1 и HSV-2 IgG.
- Реагенты в наборе HSV-1 и HSV-2 IgG готовы к использованию. После вскрытия флаканов реагентов, храните не более 60 дней при температуре 2-8°C либо невскрытые упаковки до окончания срока действия.
- Не используйте наборы с истекшим сроком действия.

Признаки нестабильных и испорченных реагентов

Храните реагенты при обозначенной на этикетке температуре и не используйте после истечения срока действия.

Не используйте мутные реагенты, реагенты с осадком или измененным цветом. Не используйте подтекающие флаконы с реагентами.

Методика.

Для получения достоверных состоятельных результатов точно следуйте данной инструкции. Не изменяйте условия хранения образцов и реагентов и способ эксплуатации.

Инструкция по применению, включая калибровку, контроль качества, техническое обслуживание, также описана в Руководстве для пользователя BioPlex 2200.

Приступая к тестам HSV-1 и HSV-2 IgG, убедитесь, что прибор включен, наборы реагентов загружены, наполнены резервуары с растворами и проведено все надлежащее техническое обслуживание. Пожалуйста, следуйте Руководству для пользователя, для получения большей информации по этим пунктам.

Должны быть заменены серии промывочного раствора и проточного буфера.

А) Калибровка

Калибровка с помощью набора для калибровки HSV-1 и HSV-2 должна проводиться минимум два раза в месяц и с каждой новой серией реагентов. **point-to-point curve**. Следуйте Руководству для пользователя, для получения большей информации.

В) Ежедневно и для каждой новой упаковки реагентов необходимо проводить контроль качества с помощью набора для контроля качества BioPlex HSV-1 и HSV-2 IgG так, как описано в Руководстве для пользователя.

Набор для контроля BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG включает в себя отрицательный и HSV-1 и HSV-2 мультианалитный положительный контроли, изготовленные из дефибринолизированной плазмы человека, содержащей антитела для определения с помощью набора реагентов BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG.

Положительный контроль предназначен для получения положительных результатов со значениями выше cut-off для каждого вида частиц. Отрицательный контроль предназначен для получения отрицательных результатов со значениями ниже cut-off для каждого вида частиц. Положительный и отрицательный контроль обязательно должны давать положительный и отрицательный результат соответственно.

Обратите внимание: положительные и отрицательный контроли предназначены для определения непригодности реагентов. Положительные контроли не гарантируют точность cut-off.

Значения положительных контролей из каждой серии загружаются в базу данных прибора BioPlex 2200 с помощью предоставленных вместе в наборами дисков или устанавливаются вручную. После считывания информации о контроле с помощью штрих-кода на флаконе, BioPlex 2200 сопоставляет результаты тестирования контроля с представленными данными в база данных о каждой конкретной серии.

Ошибки при получении значений контролей приводят к проведению несостоятельных анализов и означают ошибки методики, неправильное обращение с образцами или испорченные реагенты. Добавочные контроли могут тестироваться в соответствии местными, региональными и федеральными

правилами, сертифицированными требованиями или внутренним порядком лаборатории.

Нахождение и устранение неисправностей в постановке контроля качества: редко реагенты показывают низкие сигналы для выбранных аналитов. При нижеописанных ошибках выполните следующие действия:

1. Предупреждения Контроля Качества – занижен для некоторых аналитов.

Повторите контроль качества. Если предупреждение возникло снова, удалите упаковку данного контроля и более не используйте ее. Сообщите в центр поддержки BioRad при обнаружении упаковки, выдающей низкий сигнал. Запустите контроль качества, используя новую упаковку. Если результаты не изменились, избавьтесь от испорченной упаковки реагентов, выдающий предупреждение – «низкий сигнал» и не подтверждайте результаты тестирования образцов, проведенные с использованием этой упаковки реагентов. Если предупреждение возникает снова, свяжитесь с центром технической поддержки Bio-Rad для помощи в нахождении и устранении неисправности. Повторите все тесты, проведенные с использованием испорченной упаковки реагентов. Если в прибор загружены различные упаковки наборов, то серийный номер набора, повлекшего за собой ошибку, будет выведен в диалоговом окне процедуры Контроля Качества.

2. Предупреждения Контроля Качества – завышен для некоторых аналитов.

Заново откалибруйте упаковку, вызвавшую ошибку, и запустите контроль качества повторно. Убедитесь, что результаты контроль качества не отличаются для различных аналитов до того, как подтвердите результаты тестирования образцов пациентов. Все тесты, проведенные с использованием упаковки, выдающие предупреждение – «завышенный сигнал», должны быть повторены.

Если значения контролей выходят за установленные границы, все результаты тестов, полученные после последнего контроля с допустимыми значениями, должны быть оценены с точки зрения их пригодности.

С) Загрузка образцов/технологический процесс

Образцы загружаются в штатив, предусмотренный в приборе, так как описано в Руководстве для пользователя BioPlex 2200. Технологический процесс в BioPlex 2200 полностью автоматизирован. Следуйте Руководству для пользователя BioPlex 2200 для установки соответствующего программного обеспечения.

D) Справка о стандартах

Для аналитов в наборе HSV-1 и HSV-2 на данный момент нет материалов по сертификации стандартов.

Интерпретация результатов

Расчеты

Все необходимые расчеты выполняются автоматически программным обеспечением BioPlex 2200.

Информация об анализах

Результаты для всех антител представлены в виде индекса антител (ИА).
Результаты $<0,9$ ИА считаются отрицательными, результаты от $0,9$ до $1,0$ — сомнительными, свыше $1,1$ включительно — положительными.

Таблица 1. Интерпретация результатов для HSV-1 IgG

Индекс Антител	Результат	Интерпретация
$<0,9$ ИА	Отрицательный	Антител IgG HSV-1 не выявлено. Пациент предположительно не имел HSV-1 инфекции.
$0,9-1,0$ ИА	Сомнительный	Сомнительный результат: получите другой образец для повторного теста.
$>1,1$ ИА	Положительный	Антитела IgG HSV-1 выявлены.

Таблица 2. Интерпретация результатов для HSV-2 IgG

Индекс Антител	Результат	Интерпретация
$<0,9$ ИА	Отрицательный	Антител IgG HSV-2 не выявлено. Пациент предположительно не имел HSV-1 инфекции.
$0,9-1,0$ ИА	Сомнительный	Сомнительный результат: получите другой образец для повторного теста.
$>1,1$ ИА	Положительный	Антитела IgG HSV-2 выявлены.

Важно:

Математическая разница с cut-off не дает информации о реальной концентрации HSV-1 и HSV-2 IgG.

Результаты тестов должны быть интерпретированы совместно с клинической картиной, эпидемиологическими данными и другой информацией, доступной лечащему врачу.

Возможны ложноотрицательные результаты. Повторное тестирование на других аппаратах может быть показательным, особенно для популяций с низкой предрасположенностью к HSV инфекции.

Ограничения методики

- На основании результатов тестов с использованием набора HSV-1 и HSV-2 IgG нельзя ставить диагноз простого герпеса. Постановка диагноза возможна только с учетом результатов исследований других лабораторий и клинических проявлений.
- Образцы, полученные в самом начале развития заболевания могут не содержать достаточный для обнаружения уровень антител. Отрицательные результаты HSV-2 могут быть связаны с задержкой сероконверсии.
- Время сбора сыворотки может быть решающим фактом при постановке тестов. Для некоторых пациентов характерно колебание уровней титров антител от определяемых до нераспознаваемых в течение месяца. У других пациентов уровни могут не подниматься до необходимых для распознавания.
- Невозможно оценить способность перекрестной реактивности рекомбинантного вектора gG1 с E.coli.
- С помощью данных тестов невозможно различить старую и недавнюю инфекции, отрицательный результат HSV-2 для недавних инфекций может быть связан с длительным временем сероконверсии gG-2. Положительные результаты невозможно разделить на первичную и повторную инфекции.
- Серологическое определение вируса герпеса не позволяет сделать вывод о форме инфекции (генитальная и не генитальная).
- Иммунные комплексы и другие агрегации иммуноглобулинов могут вызвать ложноположительные результаты, в связи с повышением неспецифического связывания. Для этого, набор BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG включает свободные гранулы в каждом тесте (подтверждение отсутствия неспецифического связывания).
- Прогнозируемая ценность положительных и отрицательных результатов зависит от распространенности в популяции и предварительно оценивает вероятность HSV-1 и HSV-2.
- Математическая разница с cut-off не дает информации о реальной концентрации HSV-1 и HSV-2 IgG.

- Возможны ложноотрицательные результаты. Повторное тестирование на других аппаратах может быть показательным, особенно для популяций с низкой предрасположенностью к HSV инфекции.

Статистические данные.

Распространенность.

Зарегистрированная распространенность и математическое ожидание для набора BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG представлены для группировок по возрасту и полу. Результаты даны для сексуально активных людей с проведением теста на HSV-1 (n=289), с проведением теста на HSV-2 (n=286), и для беременных женщин (n=399). Результаты показаны в таблицах 3-9.

Таблица 3. Сексуально активные люди с проведением теста HSV-1 IgG (n=289)

Возраст	Пол	BioPlex 2200 HSV-1 IgG						С
		Положительные		Сомнительные		Отрицательные		
		Количество	%	Количество	%	Количество	%	
18-20	Женский	6	85,70%	0	0,00%	1	14,30%	
	Мужской	8	66,70%	0	0,00%	4	33,30%	
21-30	Женский	15	62,50%	0	0,00%	9	37,50%	
	Мужской	21	58,30%	0	0,00%	15	41,70%	
31-40	Женский	19	86,40%	1	4,50%	2	9,10%	
	Мужской	23	71,90%	1	3,10%	8	25,00%	
41-50	Женский	17	81,00%	0	0,00%	4	19,00%	
	Мужской	38	74,50%	1	2,00%	12	23,50%	
51-60	Женский	8	61,50%	0	0,00%	5	38,50%	
	Мужской	23	74,20%	2	6,50%	6	0,19%	
61-70	Женский	11	68,80%	0	0,00%	5	31,30%	
	Мужской	15	75,00%	0	0,00%	5	25,00%	
71-80	Женский	1	50,00%	0	0,00%	1	50,00%	
	Мужской	2	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	
81-89	Женский	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
	Мужской	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
Общее		207	71,60%	5	1,70%	77	26,60%	

Таблица 4. Сексуально активные люди с проведением теста HCV-2 IgG (n=286)

Возраст	Пол	BioPlex 2200 HSV-2 IgG						Общее
		Положительные		Сомнительные		Отрицательные		
		Количество	%	Количество	%	Количество	%	
18-20	Женский	2	50,00%	0	0,00%	2	50,00%	
	Мужской	2	22,20%	0	0,00%	7	77,80%	
21-30	Женский	10	38,50%	0	0,00%	16	61,50%	
	Мужской	15	36,60%	0	0,00%	26	63,40%	
31-40	Женский	9	69,20%	0	0,00%	4	30,80%	
	Мужской	16	32,00%	1	2,00%	33	66,00%	
41-50	Женский	9	52,90%	0	0,00%	8	47,10%	
	Мужской	21	40,40%	0	0,00%	31	59,60%	
51-60	Женский	7	46,70%	0	0,00%	8	53,30%	
	Мужской	10	37,00%	0	0,00%	17	63,00%	
61-70	Женский	4	50,00%	0	0,00%	4	50,00%	
	Мужской	4	20,00%	0	0,00%	16	80,00%	
71-80	Женский	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
	Мужской	0	0,00%	0	0,00%	3	1,00%	
81-89	Женский	0	0,00%	0	0,00%	1	1,00%	
	Мужской	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
Общее		109	38,10%	1	0,40%	176	26,60%	

Таблица 5. Сексуально активные люди с проведением теста HCV-1 IgG (n=289)
(одновременно положительны HSV-1 и HSV-2 IgG)

Возраст	Пол	BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG Одновременно положительные		
		Количество	%	Количество
18-20	Женский	3	42,90%	7
	Мужской	3	25,00%	12
21-30	Женский	10	41,70%	24
	Мужской	10	27,80%	36
31-40	Женский	14	63,60%	22
	Мужской	12	37,50%	32
41-50	Женский	10	47,60%	21
	Мужской	9	17,60%	51
51-60	Женский	3	23,10%	13
	Мужской	8	25,80%	31
61-70	Женский	3	18,80%	16
	Мужской	5	25,00%	20
71-80	Женский	1	50,00%	2
	Мужской	0	0,00%	2
81-89	Женский	0	0,00%	1
	Мужской	0	0,00%	0

Общее	91	31,50%	290
-------	----	--------	-----

Таблица 6. Сексуально активные люди с проведением теста HCV-2 IgG (n=286)
(одновременно положительны HSV-1 и HSV-2 IgG)

Возраст	Пол	BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG Одновременно положительные		
		Количество	%	Количество
18-20	Женский	1	25,00%	4
	Мужской	1	11,10%	9
21-30	Женский	7	26,90%	26
	Мужской	9	22,00%	41
31-40	Женский	4	30,80%	13
	Мужской	10	20,00%	50
41-50	Женский	6	35,30%	17
	Мужской	13	25,00%	52
51-60	Женский	4	26,70%	15
	Мужской	7	25,90%	27
61-70	Женский	4	50,00%	8
	Мужской	4	20,00%	20
71-80	Женский	0	0,00%	0
	Мужской	0	0,00%	3
81-89	Женский	0	0,00%	1
	Мужской	0	0,00%	0
Общее		70	24,50%	286

Таблица 7. Беременные: BioPlex 2200 HSV-1 IgG (n=399)

Возраст	BioPlex 2200 HSV-1 IgG						Общее
	Положительные		Сомнительные		Отрицательные		
	Количество	%	Количество	%	Количество	%	
14-20	35	58,30%	0	0,00%	25	41,70%	60
21-30	133	70,70%	2	1,10%	53	28,20%	188
31-40	98	76,00%	0	0,00%	31	24,00%	129
41-50	21	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	21
Неизвестен	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	1
Общее	288	72,20%	2	0,50%	109	27,30%	399

Таблица 8. Беременные: BioPlex 2200 HSV-2 IgG (n=399)

Возраст	BioPlex 2200 HSV-2 IgG						Общее
	Положительные		Сомнительные		Отрицательные		
	Количество	%	Количество	%	Количество	%	
14-20	12	20,00%	0	0,00%	48	80,00%	60
21-30	66	35,10%	0	0,00%	122	64,90%	188
31-40	68	52,70%	0	0,00%	61	47,30%	129
41-50	11	52,40%	0	0,00%	10	47,60%	21

Неизвестен	0	0,00%	0	0,00%	1	100,00%	1
Общее	157	39,30%	0	0,00%	242	60,70%	399

Таблица 9. Беременные: BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 одновременно положительные (n=399)

Возраст	BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG Одновременно положительные		
	Количество	%	Количество
14-20	9	15,00%	60
21-30	46	24,50%	188
31-40	56	43,40%	129
41-50	11	52,40%	21
Неизвестен	0	0,00%	1
Общее	122	36,00%	399

Распространенность вирусов герпеса первого и второго типов может варьироваться в зависимости от географической зоны, возраста и пола. Прогнозируемая ценность анализа основана на распространенности герпес-инфекции. В таблицах 10-12 показаны зарегистрированная распространенность и прогнозируемая ценность, а также гипотетическая прогнозируемая ценность при снижении уровня распространенности. Представленная прогнозируемая ценность HSV-1 основана на 97,6% чувствительности и 90,1% специфичности набора BioPlex 2200 HSV-1 IgG для сексуально активных людей с проведением теста HSV-1 и на 96,3% чувствительности и 99% специфичности для беременных женщин. Представленная прогнозируемая ценность HSV-2 основана на 90,6% чувствительности и 98,2% специфичности набора BioPlex 2200 HSV-2 IgG для сексуально активных людей с проведением теста HSV-2 и на 96,9% чувствительности и 100% специфичности для беременных женщин.

BioPlex 2200 HSV-1 IgG			BioPlex 2200 HSV-2 IgG		
Распространенность	ППО	НПО	Распространенность	ППО	НПО
71,60%	96,20%	93,60%	н/о	н/о	н/о
н/о	н/о	н/о	38,10%	97,30%	93,80%
72,20%	99,70%	90,10%	39,30%	100,00%	97,90%

Распространенность	Сексуально активные люди		Беременные	
	ППО	НПО	ППО	НПО
80,00%	97,50%	90,40%	99,70%	87,00%
70,00%	95,80%	94,10%	99,60%	92,00%
60,00%	93,70%	96,20%	99,30%	94,70%
50,00%	90,80%	97,40%	99,00%	96,40%
40,00%	86,80%	98,30%	98,50%	97,50%
30,00%	80,90%	98,90%	97,60%	98,40%

25,00%	76,70%	99,10%	97,00%	98,80%
20,00%	71,10%	99,30%	96,00%	99,10%
15,00%	63,50%	99,50%	94,40%	99,30%
10,00%	52,30%	99,70%	91,50%	99,60%
5,00%	34,20%	99,90%	83,50%	99,80%

Распространенность	Сексуально активные люди		Беременные	
	ППО	НПО	ППО	НПО
80,00%	99,50%	72,30%	100,00%	89,00%
70,00%	99,20%	81,70%	100,00%	93,30%
60,00%	98,70%	87,40%	100,00%	95,60%
50,00%	98,10%	91,30%	100,00%	97,00%
40,00%	97,10%	94,00%	100,00%	98,00%
30,00%	95,60%	96,10%	100,00%	98,70%
25,00%	94,40%	96,90%	100,00%	99,00%
20,00%	92,60%	97,70%	100,00%	99,20%
15,00%	89,90%	98,30%	100,00%	99,50%
10,00%	84,80%	98,90%	100,00%	99,70%
5,00%	72,60%	99,50%	100,00%	99,80%

Характеристики эффективности.

В таблице 13 показана сумма всех анализов, проведенных при тестах сравнения, с использованием набора BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG. В 14 по 21 таблицах вы можете получить детальную информацию о проведенных суммарных исследованиях.

Характеристика выборки	BioPlex 2200 HSV-1 IgG				BioPlex 2200 HSV-2 IgG			
	Чувствительность %	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал	Чувствительность %	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал
Сексуально активные люди с (n=289)	97,6% (202/207)	94,5-99%	90,1% (73/81)	81,7-94,9%	н/п	н/п	н/п	н/п

Сексуально активные люди с (n=286)	н/п	н/п	н/п	н/п	90,6% (106/117)	83,9- 94,7%	98,2% (166/169)	94,9 99,4%
Беременные (n=399)	96,3% (287/298)	93,5- 97,9%	99% (100/101)	94,6- 99,8%	96,9% (157/162)	93,0- 98,7%	100% (237/237)	98,4 100%
Панель центра по контролю заболеваний (n=100)	100%* (50/50)	92,8- 100%	96%** (48/50)	86,5- 98,9%	100%* (50/50)	92,8- 100%	100%** (50/50)	92,8 100%
Низкая распространенность (n=200)	93,3% (97/104)	86,7- 96,7%	97,9% (94/96)	92,7- 99,4%	н/п	н/п	97,8% (181/185)	94,6 99,2%

Тесты сравнения.

Все члены выборки для проведения анализов с помощью набора BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2 IgG были повторно протестированы серийно выпускаемым иммуоблот-тестом в проспективном исследовании с участием трех клинических баз США. С целью расчета чувствительности и специфичности, сомнительные результаты BioPlex 2200 были противопоставлены результатам иммуоблот-теста. Таким же образом, сомнительные результаты иммуоблот-теста были противопоставлены результатам набора BioPlex.

Характеристики эффективности для сексуально активных людей.

Для оценки чувствительности и специфичности набора HSV-1 и HSV-2 IgG использовались остатки образцов сывороток крови сексуально активных людей, с проведением теста HSV-1 (n=289) и с проведением теста HSV-2 (n=286). Образцы были протестированы на трех клинических базах США. Совместные результаты всех трех баз представлены в таблицах 14 и 15.

		BioPlex 2200 HSV-1 IgG							
		Положительный	Сомнительный	Отрицательный	Общее	% чувствительности	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал
Доступный для приобретения HSV-1 IgG Immunoblot	Положительный	202	1	1	204	97,8% (202/207)	(94,5- 99%)	90,1% (73/81)	(81,7- 94,9%)
	Сомнительный	1	1	3	5				
	Отрицательный	4	3	73	80				

	Общее	207	5	77	289			
--	-------	-----	---	----	-----	--	--	--

		BioPlex 2200 HSV-2 IgG							
		Положительный	Сомнительный	Отрицательный	Общее	% чувствительности	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал
Доступный для приобретения HSV-2 IgG Immunoblot	Положительный	106	1	10	117	90,6% (106 117)	(83,9-94,7%)	98,2% (166/169)	(94,9-99,4%)
	Сомнительный	0	0	0	0				
	Отрицательный	3	0	166	169				
	Общее	109	1	176	286				

Характеристики эффективности для беременных.

Оценка чувствительности и специфичности набора HSV-1 и HSV-2 проводилась с использованием остатков образцов сывороток крови беременных женщин (n=399). Результаты показаны в таблицах 16 и 17.

	BioPlex 2200 HSV-1 IgG
--	------------------------

		Положительный	Сомнительный	Отрицательный	Общее	% чувствительности	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал
 Доступный для приобретения HSV-1 IgG Immunoblot	Положительный	287	2	8	297	96,3% (287/298)	(93,5-97,9%)	99% (100/101)	(94,6-99,8%)
	Сомнительный	0	0	1	1				
	Отрицательный	1	0	100	101				
	Общее	288	2	109	399				

		BioPlex 2200 HSV-2 IgG							
		Положительный	Сомнительный	Отрицательный	Общее	% чувствительности	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал
 Доступный для приобретения HSV-2 IgG Immunoblot	Положительный	157	0	4	161	96,9% (157/162)	(93-98,7%)	100% (237/237)	(98,4-100%)
	Сомнительный	0	0	1	1				
	Отрицательный	0	0	237	237				
	Общее	157	0	242	399				

Соответствие панелям Центра контроля заболеваний (ЦКЗ).

Оценка эффективности набора BioPlex HSV-1 и HSV-2 проводилась с использованием маскированной, луночной HSV панели, предоставленной ЦКЗ. Панель содержит 24% образцов одновременно положительных по вирусам герпеса первого и второго типов, 50% HSV-1 положительных, 50% HSV-1 отрицательных и 48% HSV-2 положительных, 52% HSV-2 отрицательных. Результаты

анализа тестовой панели передаются для получения дополнительной информации, но не подразумевают одобрения анализов Центром контроля заболеваний. Результаты показаны в таблицах 18 и 19.

		BioPlex 2200 HSV-1 IgG							
		Положительный	Сомнительный	Отрицательный	Общее	% Чувствительности	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал
Результат панели ЦКЗ HSV-1	Положительный	50	0	0	50	100% (50/50)	(92,8-100%)	96% (48,50)	(86,5-98,9%)
	Отрицательный	0	2	48	50				
	Общее	50	2	48	100				

	BioPlex 2200 HSV-2 IgG
--	------------------------

		Положительный	Сомнительный	Отрицательный	Общее	% чувствительности	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал
Результат панели ЦКЗ HSV-2	Положительный	50	0	0	50	100% (50/50)	(92,8-100%)	100% (50/50)	(92,8-100%)
	Отрицательный	0	0	50	50				
	Общее	50	0	50	100				

Характеристики эффективности для выборки с низкой распространенности.

Для оценки чувствительности и специфичности набора HSV-1 и HSV-2 IgG использовались остатки образцов сывороток крови членов выборки с низкой распространенностью, собранные у лиц, не страдающих венерическими заболеваниями, возрастом от 16 до 19 лет (n=200). Образцы были протестированы на двух клинических базах США. Результаты показаны в таблицах 20 и 21.

		BioPlex 2200 HSV-1 IgG							
		Положительный	Сомнительный	Отрицательный	Общее	% чувствительности	95% доверительный интервал	Специфичность %	95% доверительный интервал
Доступный для приобретения HSV-1 IgG Immunoblot	Положительный	97	1	4	102	96,3% (97/104)	(86,7-96,7%)	97,9% (94/96)	(92,7-99,4%)
	Сомнительный	0	0	2	2				
	Отрицательный	2	0	94	96				
	Общее	99	1	100	200				



Доступный для приобретения HSV-2 IgG Immunoblot							
Общее	Отрицательный	Сомнительный	Положительный				
14	3	0	11	Положительный			
1	1	0	0	Сомнительный			
185	181	2	2	Отрицательный			
200	185	2	13	Общее			
73,3% (11/15)				% Чувствительности			
н/п				95% доверительный интервал			
97,8% (181/185)				Специфичность %			
(94,6 99,2%)				95% доверительный интервал			

BioPlex 2200 HSV-2 IgG

Воспроизводимость результатов.

Для оценки воспроизводимости каждого анализа набора BioPlex HSV-1 и HSV-2, Bio-Rad лабораторией была изготовлена панель воспроизводимости. Панель состоит из восьми образцов и HSV-1 и HSV-2 IgG положительных контролей. Образцы приготовлены из разведенной сыворотки пациентов. Тесты на воспроизводимость были проведены на двух внешних оценочных базах и внутри Bio-Rad лаборатории, используя три серии реагентов HSV-1 и HSV-2 IgG, три серии калибраторов HSV-1 и HSV-2 IgG и три серии HSV-1 и HSV-2 IgG контролей (для каждой базы – своя серия). Каждая панель была протестирована в дубле дважды в день, в течение пяти дней, для трех лотов (2 анализа x 2 постановки x 5 дней x 3 серии = 60 постановок для каждого образца панели). Результаты были проанализированы как в рамках одного эксперимента, так и для независимых экспериментов. Расчет проводился на основании руководства Института Клинических и Лабораторных стандартов EP15-A2 (том 25, номер 17). Посчитаны стандартное отклонение и коэффициент вариации в процентах. Результаты показаны в таблицах 22 и 23.

Результат теста на HSV-2 IgG	BioPlex 2200 HSV-2 IgG											
	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между тестами		Между днями		Между базами*		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%
Сильно положительный	59**	3	0,149	5	0,124	4,1	0	0	0,155	5,2	0,249	8,2
Сильно положительный	60	3,5	0,121	3,4	0,135	3,8	0,093	2,6	0,226	6,4	0,304	8,6
Слабоположительный	60	1,8	0,111	6,1	0	0	0,074	4,1	0,145	7,9	0,197	10,7
Слабоположительный	60	1,5	0,061	4	0,047	3,1	0,059	3,9	0,117	7,8	0,151	10,1
Около cut-off	60	1,2	0,052	4,3	0,034	2,9	0,059	4,9	0,063	5,3	0,106	8,9
Около cut-off	60	1,2	0,034	2,9	0,072	6	0,04	3,4	0,069	5,8	0,113	9,4
Сильно отрицательный	60	0,7	0,039	5,2	0	0	0,037	5,1	0,058	7,9	0,079	10,7
Сильно отрицательный	60	0,6	0,037	6,3	0	0	0,029	5	0,027	4,7	0,054	9,3
Положительный контроль	60	2,8	0,097	3,4	0,092	3	0,088	3,1	0,056	2	0,17	6

Результат теста на HSV-2 IgG	BioPlex 2200 HSV-2 IgG											
	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между тестами		Между днями		Между базами*		Общие	
			СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%
Сильно положительный	59**	3	0,149	5	0,124	4,1	0	0	0,155	5,2	0,249	8,2
Сильно положительный	60	3,5	0,121	3,4	0,135	3,8	0,093	2,6	0,226	6,4	0,304	8,6
Слабоположительный	60	1,8	0,111	6,1	0	0	0,074	4,1	0,145	7,9	0,197	10,7
Слабоположительный	60	1,5	0,061	4	0,047	3,1	0,059	3,9	0,117	7,8	0,151	10,1
Около cut-off	60	1,2	0,052	4,3	0,034	2,9	0,059	4,9	0,063	5,3	0,106	8,9
Около cut-off	60	1,2	0,034	2,9	0,072	6	0,04	3,4	0,069	5,8	0,113	9,4
Сильно отрицательный	60	0,7	0,039	5,2	0	0	0,037	5,1	0,058	7,9	0,079	10,7
Сильно отрицательный	60	0,6	0,037	6,3	0	0	0,029	5	0,027	4,7	0,054	9,3
Положительный контроль	60	2,8	0,097	3,4	0,092	3	0,088	3,1	0,056	2	0,17	6

Изучение прецизионности.

Панель прецизионности состоит из восьми образцов, приготовленных лабораторией Bio-Rad. Для каждого анализа, 2 из 8 образцов панели содержат высокие уровни антител, 2 содержат низкий уровень антител, два образца – с показателями антител около cut-off. В дополнение, два из восьми образцов содержат высоко отрицательные уровни антител.

Тест прецизионности проводился лабораторией Bio-Rad с использованием одной серии реагентов HSV-1 и HSV-2, одной серии калибраторов HSV-1 и HSV-2 и одной серии контролей HSV-1 и HSV-2. Каждый образец панели был протестирован в дубле в двух постановках в течение 20 дней (2 анализа x 2 постановки 20 дней = 80 постановок). Результаты были проанализированы как в рамках одного эксперимента, так и для независимых экспериментов. Расчет проводился на основании руководства Института Клинических и Лабораторных стандартов EP5-A2, исправленное в ноябре 2004. Посчитаны стандартное отклонение и коэффициент вариации в процентах. Результаты показаны в таблицах 24 и 25.

Результат теста на HSV-1 IgG (панель)	BioPlex 2200 HSV-1 IgG									
	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между тестами		Между днями		Общие	
			СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%
Сильно положительный	80	3,2	0,14	4,4	0,16	5	0	0	0,21	6,6
Сильно положительный	80	3,6	0,16	4,3	0,08	2,2	0,1	2,7	0,2	5,5
Слабоположительный	80	1,3	0,05	3,7	0,02	1,5	0,03	2,5	0,06	4,7
Слабоположительный	80	1,7	0,08	4,9	0,09	5,5	0,03	1,7	0,13	7,6
Около cut-off	80	1	0,03	2,7	0,03	3,4	0,03	2,9	0,05	5,2
Около cut-off	80	1,1	0,04	3,9	0,03	2,7	0,02	2,2	0,06	5,2
Сильно отрицательный	80	0,7	0,04	5,8	0	0	0,01	2	0,04	6,1
Сильно отрицательный	80	0,5	0,02	4,5	0,02	3,2	0,01	2,6	0,03	6,1

Результат теста на HSV-2 IgG (панель)	BioPlex 2200 HSV-2 IgG									
	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между тестами		Между днями		Общие	
			СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%
Сильно положительный	80	5,5	0,17	3	0,2	3,6	0,03	0,5	0,26	4,8
Сильно	80	4,4	0,17	3,8	0,07	1,5	0,11	2,4	0,21	4,8

положительный										
Слабоположительный	80	1,8	0,09	5,2	0,02	1,2	0,05	2,9	0,11	6,1
Слабоположительный	80	2,4	0,09	3,8	0,09	3,6	0,09	3,6	0,15	6,3
Около cut-off	80	1,3	0,05	3,8	0,04	2,7	0,02	1,4	0,06	4,9
Около cut-off	80	1,1	0,06	5,2	0,04	3,2	0,02	2,1	0,07	6,5
Сильно отрицательный	80	0,8	0,05	5,8	0,03	3,4	0,01	1,3	0,05	6,8
Сильно отрицательный	80	0,6	0,03	4,6	0	0	0,02	2,9	0,03	5,4

Перекрестная реактивность.

Исследование перекрестной реактивности проводилось для определения влияния различных статусов заболевания и других потенциально реактивных агентов на результаты тестов набором BioPlex HSV-1 и HSV-2. Образцы, положительные по одному из перечисленных в таблице потенциально реакционных реагентов, тестировались набором BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2. До этого, все образцы также протестированы на серийно выпускаемом наборе HSV-1 и HSV-2 иммуноблот. Только отрицательные после иммуноблот-теста образцы затем тестировались набором BioPlex 2200 HSV-1 и HSV-2. В таблице 26 сведены вместе отрицательные результаты обоих тестов по всем 12 образцам панели перекрестной реактивности. Результаты говорят о том, что нижеперечисленные заболевания не реагируют перекрестно с двумя антигенами набора BioPlex HSV-1 и HSV-2.

Потенциально перекрестно-реагирующие агенты	HSV-1 IgG		HSV-2 IgG	
	Количество	BioPlex 2200 соответствует отрицательному результату	Количество	BioPlex 2200 соответствует отрицательному результату
Антинуклеарные антитела IgG	5	5/5	10	10/10
Candida albicans	8	8/8	9	9/9
ЦМВ IgG	8	8/8	8	8/8
E.coli	2	2/2	8	8/8
Toxoplasma gondii IgG	8	8/8	8	8/8
Гепатит С IgG	7	7/7	10	10/10
Вирус ветряной оспы IgG	10	10/10	10	10/10
Краснуха IgG	6	6/6	7	7/7
Hbs антитела	8	8/8	9	9/9
Антитела к вирусу Эпштейн-Барр IgG	7	7/7	7	7/7
Сифилис IgG	4	4/4	7	7/7
N.gonorrhea	4	4/4	10	10/10
Вирус папилломы человека IgG	10	10/10	10	10/10
C.Trachomatis	5	5/5	9	9/9
ВИЧ	10	10/10	5	5/5
Ревматоидный фактор	7	7/7	9	9/9
Бактериальный вагинит				
Bacteroides sp.	н/п	н/п	6	6/6

Trichomonas	10	10/10	10	10/10
Mobiluncus sp.	1	1/1	4	4/4
Gardnerella vaginalis	10	10/10	10	10/10

Интерферирующие вещества.

Тестирование на интерферирующие вещества проводилось согласно протоколу Института Клинических и Лабораторных стандартов EP7-A2 (том 25, номер 27).

Образцы подготавливались с помощью смешивания отрицательной и положительно сывороток крови на HSV-1 и HSV-2 до достижения концентрации 3,0-5,0 ИА. Растворитель (отрицательный контроль) или интерференты добавлялись экзогенно в концентрациях, обозначенных в таблице 27. Образцы и контроли были проанализированы в 10 повторах. Изменения сигнала колебались от -8,3 до 10,3%. Значимого взаимного влияния установлено не было.

Вещества	Концентрация
Гемоглобин	500 мг/дл
Неконъюгированный билирубин	20 мг/дл
Конъюгированный билирубин	30 мг/дл
Холестерин	500 мг/дл
Эритроциты	0,40%
Гамма-глобулин	6 г/дл
Триглицериды	3300 мг/дл
Бета каротин	0,6 мг/дл
Общий белок	12 г/дл
Аскорбиновая кислота	3 мг/дл
Литиевый гепарин	8000 ед/дл
Натриевый гепарин	8000 ед/дл
ЭДТА	800 мг/дл
Цитрат натрия	1000 мг/дл

Набор BioPlex 2200 ANA-screen

Сфера использования.

Набор BioPlex 2200 ANA-screen предназначен для качественного скрининга антинуклеарных антител, количественного выявления антител к dsDNA и полуколичественного выявления 10 различных антител (хроматин, Р-белок рибосом, SS-A, SS-B, Sm, SmPNP, RNP, Scl-70, Jo-1 < центромера В) в сыворотке и/или ЭДТА или гепаринизированной плазме человека. Тест система может использоваться как помощь в диагностике системных аутоиммунных заболеваний.

Набор ANA-screen предназначен для использования в приборе BioPlex 2200.

Система поддержки принятия клинических решений (СПКР) BioPlex 2200, используемая совместно с набором ANA-screen, является инструментом, сопоставляющим уровни антител пациента с профилями антител, прописанными в программе. Описанные профили соответствуют определенным аутоиммунным заболеваниям: системной красной волчанке (СКВ), смешанное соединительно тканное заболевание, синдром Шегрена, склеродермия (системный склероз) и полимиозит.

Краткое содержание и пояснения.

Набор ANA-screen выявляет аутоантитела, характерные для клинических синдромов, в сыворотке или плазме. Определение таких антител эффективно при диагностике системных аутоиммунных заболеваний таких как системная красная волчанка (СКВ), смешанное соединительно тканное заболевание, недифференцированное соединительно тканное заболевание синдром Шегрена, склеродермия (системный склероз), дерматомиозит, полимиозит, ревматоидный артрит, CREST-синдром и синдром Рейно.

Раньше наиболее часто для определения антинуклеарных антител применялся иммунофлуорисцентный анализ (РИФ). Методика теста заключается в использовании контролируемой линии клеток, фиксированной на предметном стекле. Клетки содержат не менее 120 различных антигенов, используемых для диагностики аутоиммунных нарушений. Когда разведенная человеческая сыворотка, содержащая аутоантитела, наносится на закрепленные клетки, происходит связывание антител с антигенами клеток. Обычно распознавание комплексов происходит при помощи античеловеческих иммуноглобулинов с флуорисцентной меткой. Иногда, из-за не характерных для клинических синдромов аутоантител в образцах пациентов, могут возникать ложноположительные результаты.

Технология иммуноферментного анализа также может применяться при диагностике аутоиммунных заболеваниях. При ИФА используется смесь наиболее распространенных антигенов для выявления антител, ассоциированных с аутоиммунными заболеваниями. Состав смеси зависит от производителя. При ИФА тесте разведенная сыворотка смешивается с антигенами, фиксированными на твердофазном носителе (чаще всего — микропланшет). Антитела, связанные с планшетом, затем выявляются с помощью античеловеческого IgG, меченого ферментом и характеризуются определенным колориметрическим сигналом. При применении ИФА технологии для определения антинуклеарных антител возникает «композиционный» сигнал. Например, при сильном сигнале от одного из антител его нельзя отделить от остальных. Присутствует риск ложноположительных результатов при ИФА тестах из-за неспецифического связывания других антител IgG с твердофазным носителем.

Принцип процедуры.

В наборе BioPlex ANA-screen используется метод проточной иммунофлуоресценции, который очень схож с традиционным ИФА, но позволяет разделять и идентифицировать различные антитела в одной пробирке.

Тринадцать типов частиц покрыты различными антигенами ассоциированными с аутоиммунными заболеваниями (хроматин, Р-белок рибосом, SS-A, SS-B, Sm, SmPNP, RNP, Scl-70, Jo-1, центромера В). В реакционной пробирке BioPlex 2200 соединяется определенное количество сыворотки пациента, раствор для разведения и набор реакционных частиц. Смесь инкубируется при 37°C. После цикла промывки, добавляются антитела против IgG человека,

конъюгированные с фикоэритрином, и инкубируются при 37°C. Избыток конъюгата удаляется в следующем цикле промывки, частицы ресуспендируются в промывочном буфере. Затем частицы пропускаются через детектор. Распознавание окрашенных частиц производится с помощью регистрации флуоресценции красителей, а количество антител, связанных с антигенами, с помощью регистрации флуоресценции присоединенного фикоэритрина. Исходные данные рассчитываются по относительному измерению интенсивности флуоресценции.

Три дополнительных типа окрашенных частиц, внутренние частицы-образцы (ISB), частицы для проверки сывороток (SVB) и частицы без реагентов (RBB) присутствуют в каждой реакционной смеси для подтверждения работы детектора, добавления сыворотки в реакционную пробирку и контроля значимого неспецифического связывания. Для более подробной информации читайте Руководство пользователя BioPlex 2200.

Система калибруется с использованием шести флаконов калибраторов, отдельно поставляемых компанией Bio-Rad. Для dsDNA — шесть флаконов с разными концентрациями для количественной калибровки (результаты выражены в Ед/мл). Результаты меньше либо равные 4 Ед/мл, 5-9 Ед/мл — сомнительными, большие или равные 10 Ед/мл — положительными. Для других анализов — четыре флакона с различными концентрациями для полуколичественной калибровки (результаты выражены в ИА). Результаты меньше 1 ИА считаются отрицательными, равные 1,0 или большие — положительными. Популяция здоровых людей чаще всего (99%) соответствует результату 1,0 ИА, результаты выше 1,0 ИА считаются положительными.

При активации СПКР результаты тестов сравниваются с результатами базы, состоящей из 1400 образцов, полученных от здоровых людей и пациентов ревматологических клиник. При получении одного или более положительных результатов СПКР выдает ассоциированные с ними профили. Кроме того, определение ассоциированных профилей может помочь в определении добавочных тестов. Обратите внимание: вывод СПКР группы «Отрицательные» или «Не ассоциированные» не означает отсутствия аутоиммунного заболевания (смотрите Руководство по интерпретации результатов).

В случае если выявляются антитела к SS-A 52 и/или SS-A 60, результат будет определен как положительный на SS-A. Также, при выявлении антител RNP A и/или RNP 68, результат будет определен как положительный на RNP.

Состав набора

Флакон	Описание
Набор частиц	Один флакон (10 мл), содержащий окрашенные частицы, покрытие хроматином, Р-белком рибосом, SS-A, SS-B, Sm, SmPNP, RNP, Scl-70, Jo-1, центромерой В. Внутренние частицы-образцы (ISB), частицы контроля сывороток (SVB) и частицы без реагентов (RBB). Глицерол и белковый стабилизатор (бычий) в MOPS буфере (3-Морфолинпропансульфоновая кислота). ProClin 300 (0,3%) и натрия азид (<0,1%) в качестве консервантов.
Конъюгат	Один флакон (5мл), содержащий комплекс конъюгат (мышинный моноклональный) против фактора XIII/фикоэритрин в фосфатном буфере. ProClin 300 (0,3%) в качестве консерванта.
Раствор для разведения образцов	Один флакон (10мл), содержащий белковые стабилизаторы (бычий и мышинный) в триэтаноламинном буфере. ProClin 300 (0,3%) в качестве консервантов.

Дополнительные необходимые позиции, поставляемые компанией BioRad.

REF	Описание
663-1100	Набор для калибровки BioPlex ANA-screen: два флакона калибраторов (1,5 мл), содержащие антитела к хроматину, Р-белку рибосом, SS-A, SS-B, Sm, SmPNP, RNP, Scl-70, Jo-1, центромере В в сыворотке человека, с добавлением консерванта 0,3% ProClin 300.
663-1130	Набор контролей BioPlex EBV IgM: положительный контроль – два флакона (1,5 мл), содержащие антитела к хроматину, Р-белку рибосом, SS-A, SS-B, Sm, SmPNP, RNP, Scl-70, Jo-1, центромере В в сыворотке человека. Отрицательный контроль – два флакона (1,5 мл). Все контроли содержат консервант 0,3% ProClin 300.
660-0817	Буферный раствор BioPlex 2200: две бутылки (4 литра) с Солевым Фосфатным буфером (PBS). ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
660-0818	Промывочный раствор BioPlex 220: одна бутылка (10 литров) с Солевым Фосфатным буфером (PBS) и Tween 20. ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
660-0000	Прибор BioPlex 2200 и программное обеспечение.

Меры предосторожности/предупреждения

0,3% ProClin 300 – раздражитель.

R43 – может вызвать раздражение при контакте с кожей.

S24-35-37: предотвращайте контакт с кожей. Контейнер и содержащийся в нем материал должны применяться с учетом мер безопасности. Используйте перчатки.

1. Для проведения диагностики в лабораторных условиях.
2. Только для профессионального использования.
3. Рассматривайте все материалы, изготовленные из тканей человека, как потенциально опасные и работайте с ними, соблюдая все рекомендованные меры предосторожности (29 CFR 1910.1030).
4. Во время работы с наборами реагентов и образцами пациентов воздержитесь от курения, приема пищи и напитков.
5. Не пишите ртом.
6. Во время работы с реагентами и образцами и управления прибором BioPlex 2200 наденьте средства индивидуальной защиты.
7. Уничтожайте все отходы в соответствии с предписаниями лаборатории.
8. Отходы, содержащие образцы пациентов или биологические продукты реакций, следует уничтожать как биологически-опасные.
9. Химические реагенты необходимо использовать в соответствии с правилами «Надлежащей лабораторной практики».
10. Для получения дополнительной информации о безопасном использовании и биологической опасности наборов и дополнительных материалов изучите Инструкцию по безопасности использования материалов (MSDS). Инструкция

предъявляется по требованию.

11. Незамедлительно тщательно протирайте поверхности, на которые были разлиты жидкости. Протезинфицируйте поверхности, загрязненные биологически-опасными материалами. Надлежащим образом храните контаминирующие материалы.
12. Не используйте реагенты после истечения срока годности. Срок годности отпечатан на коробках.
13. Не меняйте между собой крышки флаконов и бутылок, это может привести к перекрестной контаминации.
14. Каждый образец человеческой сыворотки, использованный при производстве наборов ANA-screen (включая калибраторы и наборы контролей), протестирован на наличие HBsAg, антител к вирусу гепатита С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, с помощью методов принятых Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). На сегодняшний день отсутствуют методы, дающие абсолютную гарантию, что материалы, полученные из сыворотки человека, не содержат этих, либо иных возбудителей заболеваний. В соответствии с правилами «Надлежащей лабораторной практики», все материалы, полученные из тканей человека, считаются потенциально опасными из-за возможного инфицирования Гепатитом В, Гепатитом С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, и любыми другими возбудителями. По этой причине, использование набора ANA-screen, включая реагенты, калибраторы и контроли, должно проводиться с соблюдением всех мер предосторожности, характерных для работы с инфицированным материалом.
15. Необходимо строго соблюдать протокол, описанный в данном документе, для обеспечения правильного использования продукта. При обнаружении результатов, отклоняющихся от нормы, обратитесь в службу технической поддержки Bio-Rad.
16. Никогда не смешивайте одинаковые реагенты из разных бутылок. Это может привести к контаминации реагентов и снижать эффективность использования продукта.
17. Азид натрия может вступать в реакцию с медными и свинцовыми трубками с образованием взрывоопасных азидов этих металлов. Для предотвращения образования отложений азидов, промывайте контейнеры большим количеством воды после удаления жидкостей.

Сбор образцов и правила обращения с ними.

Методы предосторожности при сборе образцов.

Рассматривайте все материалы, изготовленные из тканей человека, как потенциально опасные и работайте с ними, соблюдая все рекомендованные меры предосторожности.

Типы образцов

Рекомендуется проводить анализы, используя сыворотку. Предотвращайте гемолиз.

Хранение образцов

Сыворотка и плазма должны храниться при температуре 2-8°C не дольше 7 дней. Для длительного хранения замораживайте образцы при температуре от -20°C и ниже.

Подготовка образцов

Тщательно перемешивайте размороженные образцы, рекомендуется центрифугировать размороженные образцы для растворения образованных плотных скоплений. Не размораживайте образцы более трех раз.

Транспортировка образцов

Все тестируемые сыворотки и другие образцы тканей человека должны транспортироваться в соответствии с внутренними региональными и международными правилами. Не превышайте время хранения и температурный режим, описанные выше.

Подготовка и хранение реагентов.

- Не замораживайте реагенты ANA-screen
- Реагенты в наборе ANA-screen готовы к использованию. После вскрытия флаконов реагентов, храните не более 30 дней при температуре 2-8°C либо невскрытые упаковки до окончания срока действия.
- Не используйте наборы с истекшим сроком действия.

Признаки нестабильных и испорченных реагентов

Храните реагенты при обозначенной на этикетке температуре. Не используйте после истечения срока действия.

Не используйте мутные реагенты, реагенты с осадком или измененным цветом. Не используйте подтекающие флаконы с реагентами.

Методика.

Для получения достоверных состоятельных результатов точно следуйте данной инструкции. Не изменяйте условия хранения образцов и реагентов и способ эксплуатации.

Инструкция по применению, включая калибровку, контроль качества, техническое обслуживание, также описана в Руководстве для пользователя BioPlex 2200. Приступая к тестам ANA-screen, убедитесь, что прибор включен, наборы реагентов загружены, наполнены резервуары с растворами и проведено все надлежащее техническое обслуживание. Пожалуйста, следуйте Руководству для пользователя, для получения большей информации по этим пунктам.

Должны быть заменены серия промывочного раствора и проточного буфера.

А) Калибровка

Калибровка с помощью набора для калибровки ANA-screen должна проводиться минимум два раза в месяц и с каждой новой серией реагентов. point-to-point curve. Следуйте Руководству для пользователя, для получения большей информации.

В) Ежедневно и для каждой новой упаковки реагентов необходимо проводить контроль качества с помощью набора для контроля качества BioPlex ANA-screen так, как описано в Руководстве для пользователя.

Набор для контроля BioPlex 2200 ANA-screen включает в себя отрицательный и мультианалитный положительный контроли, изготовленные из дефибринолизированной плазмы человека, содержащей антитела для определения с помощью набора реагентов BioPlex 2200 ANA-screen. Положительный контроль предназначен для получения положительных результатов со значениями выше cut-off для каждого вида частиц. Отрицательный контроль предназначен для получения отрицательных результатов со значениями ниже cut-off для каждого вида частиц. Положительный и отрицательный контроль обязательно должны давать положительный и отрицательный результат соответственно.

Обратите внимание: положительные и отрицательный контроли предназначены для определения непригодности реагентов. Положительные контроли не гарантируют точность cut-off.

Значения положительных контролей загружаются в базу данных прибора после сканирования штрих-кода на флаконе либо введения его вручную. После распознавания штрих-кода программное обеспечение прибора сопоставляет результаты тестирования контролей с

загруженными в базу данными.

Ошибки при получении значений контролей приводят к проведению несостоятельных анализов и означают ошибки методики, неправильное обращение с образцами или испорченные реагенты.

Обратите внимание: контроли некоторых аналитов набора ANA-screen должны быть разведены в соответствии со значениями, загруженными в базу данных прибора BioPlex 2200. Прибор разводит эти аналиты автоматически, используя дополнительную реакционную пробирку.

Нахождение и устранение неисправностей в постановке контроля качества: редко реагенты показывают низкие сигналы для выбранных аналитов. При нижеописанных ошибках выполните следующие действия:

1. Предупреждения Контроля Качества – занижен для некоторых аналитов.

Повторите контроль качества. Если предупреждение возникло снова, удалите упаковку данного контроля и более не используйте ее. Сообщите в центр поддержки BioRad при обнаружении упаковки, выдающей низкий сигнал. Запустите контроль качества, используя новую упаковку. Если результаты не изменились, избавьтесь от испорченной упаковки реагентов, выдающей предупреждение – «низкий сигнал» и не подтверждайте результаты тестирования образцов, проведенные с использованием этой упаковки реагентов. Если предупреждение возникает снова, свяжитесь с центром технической поддержки Bio-Rad для помощи в нахождении и устранении неисправности. Повторите все тесты, проведенные с использованием испорченной упаковки реагентов. Если в прибор загружены различные упаковки наборов, то серийный номер набора, повлекшего за собой ошибку, будет выведен в диалоговом окне процедуры Контроля Качества.

2. Предупреждения Контроля Качества – завышен для некоторых аналитов.

Заново откалибруйте упаковку, вызвавшую ошибку, и запустите контроль качества повторно. Убедитесь, что результаты контроль качества не отличаются для различных аналитов до того, как подтвердите результаты тестирования образцов пациентов. Все тесты, проведенные с использованием упаковки, выдающие предупреждение – «завышенный сигнал», должны быть повторены. Образцы, протестированные с помощью непригодной упаковки.

Если значения контролей выходят за установленные границы, все результаты тестов, полученные после последнего контроля с допустимыми значениями, должны быть оценены с точки зрения их пригодности.

С) Загрузка образцов/технологический процесс

Образцы загружаются в штатив, предусмотренный в приборе, так как описано в Руководстве для пользователя BioPlex 2200. Технологический процесс в BioPlex 2200 полностью автоматизирован. Следуйте Руководству для пользователя BioPlex 2200 для установки соответствующего программного обеспечения.

D) Справка о стандартах

Набор для калибровки ANA-screen используется в соответствии со стандартом B03 Wo/80 dsDNA для dsDNA. Для других аналитов в наборе ANA-screen на данный момент нет материалов по сертификации стандартов.

Интерпретация результатов

Расчеты

Все необходимые расчеты выполняются автоматически программным обеспечением BioPlex 2200.

Информация об анализе.

Все результаты выражены в индексе антител (ИА), исключая dsDNA, выраженном в Ед/мл. Для dsDNA результаты меньше либо равные 4 Ед/мл, 5-9 Ед/мл — сомнительными, большие или равные 10 Ед/мл — положительными. Для других анализов, результаты меньше 1 ИА считаются отрицательными, равные 1,0 или больше — положительными. В случае, если выявляются антитела к SS-A 52 и/или SS-A 60, результат будет определен как положительный на SS-A. Также, при выявлении антител RNP A и/или RNP 68, результат будет определен как положительный на RNP. результат будет определен как положительный. Пределы выявления для dsDNA составляют 1-300 Ед/мл и 0,2-0,8 ИА.

Для удобства пользователя положительные результаты ANA-screen полученные по формату В (резервированная тестовая группа: ANA+) или формату С (резервированная тестовая группа: ANA11) в дальнейшем могут анализироваться с использованием профилей Системы поддержки принятия клинических решений BioPlex 2200 (дополнительную информацию вы можете получить в соответствующем разделе). Данная система основана на анализе результатов более 1400 охарактеризованных образцов сыворотки и плазмы. Система основана на статистическом методе «к-ближайших соседей». Каждый «неизвестный» результат сопоставляется с 1400 охарактеризованными образцами сыворотки и плазмы. Все результаты Системы поддержки принятия клинических решений попадают в одну из групп: отрицательные, не ассоциированные или ассоциированные с заболеванием. Если результат попадает в группу ассоциированных с заболеванием, программа, основываясь на сходстве полученного результата с образцами базы, предложит максимум два типа заболеваний. Также Система поддержки решений может быть полезна для определения добавочных аутоиммунных серологических тестов.

Выбор желаемых результатов.

Программное обеспечение Системы поддержки принятия клинических решений позволяет пользователю получить результаты в одном из доступных форматов. Доступ к этой части защищен паролем, и обычно выбор формата происходит при установке программы. Следуйте Руководству пользователя BioPlex 2200 для получения более подробной информации.

Формат А: качественный скрининг (резервированная тестовая группа: ANA)

В формате Качественный скрининг результаты показаны как положительные или отрицательные на антиядерные антитела, основываясь на наличии (отсутствии) одного или более антител в концентрации, превышающей cut-off. Система поддержки принятия клинических решений не активируется. Для удобства пользователя, положительные результаты, полученные с использованием данного формата, в дальнейшем могут быть проанализированы по отдельным выбранным антителам (или группе выбранных антител), как «Add-On» тесты с немедленным получением результатов. Следуйте Руководству пользователя BioPlex 2200 для получения более подробной информации.

Обратите внимание: положительными результаты считаются при нахождении одного или более следующих анализатов: хроматин, Р-белок рибосом, SS-A, SS-B, Sm, SmPNP, RNP, Scl-70, Jo-1, центромера В. И наоборот, отрицательными (или сомнительными для dsDNA) считаются результаты около или ниже значений cut-off для всех значимых анализатов.

Формат В: качественный, ассоциированный с заболеваниями (резервированная тестовая группа: ANA+)

В формате Качественный, ассоциированный с заболеваниями все результаты относятся к положительным или отрицательным по тем же критериям, что и в предыдущем формате. В дополнение к этому, положительные результаты распределяются по типам заболеваний по сходству с образцами, содержащимися в базе Системы поддержки принятия решений. Ниже перечислены заданные в программе заболевания:

3. системная красная волчанка (СКВ)
4. синдром Шегрена
5. склеродермия (системный склероз)
6. смешанное соединительнотканное заболевание
7. полимиозит

Результаты Системы сгруппированы следующим образом.

Если результаты попадают в группу профилей, ассоциированных с аутоиммунными заболеваниями, программа предлагает максимум значимых возможных заболеваний. Смотрите Приложение А, в котором перечислены все возможные комбинации. Примеры предлагаемых результатов:

- уровни антител ассоциированы с профилями СПКР для системного аутоиммунного заболевания. Предполагается СКВ.
- уровни антител ассоциированы с профилями СПКР для системного аутоиммунного заболевания. Предполагается СКВ или синдром Шегрена.
- уровни антител ассоциированы с профилями СПКР для системного аутоиммунного заболевания. Предполагается склеродермия.

Формат С: Результаты по выборочным антителам.

В формате Результаты по выборочным антителам, отображаются только результаты тестирования антител, выбранных пользователем. В данном формате любые антитела могут быть запрошены индивидуально либо в группе для каждого отдельного образца. Для предварительного выбора тестируемой группы используется окно программы «Test group setup», также позволяющее выбрать ранее созданную группу. Например, SS-A и SS-B могут тестироваться совместно. Также может быть выбрана большая группа. Ниже представлена группа анализов стандартной ENA панели.

- SS-A
- SS-B
- RNP
- Scl-70
- Sm
- Jo-1

Также могут проводиться тесты "Add-on" для быстрого получения результатов по добавленным индивидуально антителам (либо по созданной пользователем группе антител). Если выбранные антитела запрашивались ранее, они будут обработаны как повторный запрос. Следуйте Руководству пользователя BioPlex 2200 для получения более подробной информации.

Специальный тестовый набор (резервированная тестовая группа: ANA11)

Если один тип антител, небольшая группа или все индивидуальные антитела запрашиваются по формату, описанному выше, то СПКР не активируется. В то же время, если запрашивается тестовая группа ANA11 (все индивидуальные антитела как группа), то СПКР активируется автоматически. В дополнение к этому, предоставляется графическое отображение уровней антител и ассоциация с заболеваниями. Графическое отображение доступно только при описанном плане действий (см. Приложение В) и только, когда имеется положительный результат хотя бы по одному антителу. Следуйте Руководству пользователя BioPlex 2200 для получения более подробной информации.

Обратите внимание: при запросе определенных антител могут появляться over-range результаты. Для тестов на dsDNA образцы могут разводиться промыочным буфером и тестироваться повторно. Следуйте Руководству пользователя BioPlex 2200 при использовании окна программы Dilution для загрузки и анализа разведенных образцов. Для

других антител разведение не рекомендуется.

Ограничения методики.

- Набор ANA-screen отдельно не является критерием для постановки диагноза аутоиммунных заболеваний и должен использоваться совместно с другими результатами лабораторных тестов и оценкой клинических проявлений.
- Заданные в СПКР ассоциации с заболеваниями отдельно не является диагностическим критерием и должна использоваться совместно с другими результатами лабораторных тестов и оценкой клинических проявлений.
- Положительные результаты могут обнаруживаться у здоровых людей. Таким образом, результаты должны использоваться совместно с другими результатами лабораторных тестов и оценкой клинических проявлений.
- Иммунные комплексы или другие агрегаты иммунноглобулинов могут вызывать неспецифическое связывание и ложноположительные результаты. Набор ANA-screen в каждом тесте содержит свободные частицы (подтверждение отсутствия неспецифического связывания).
- Пациенты с СКА, получающие терапию стероидами или иммуносупрессантами, могут давать при тестировании отрицательный результат.
- Пациенты с ревматоидным артритом могут быть ассоциированы СПКР с СКВ. В дополнение, пациенты с ревматоидным артритом, получающие терапию блокаторами TNF α , могут продуцировать антитела к dsDNA и хроматину. По этим причинам следует с осторожностью интерпретировать результаты таких пациентов.
- Если результат отнесен СПКР в группы «отрицательные» или «не ассоциированные», это не означает отсутствия аутоиммунного заболевания.

Статистика.

Распространенность.

Математическое ожидание для набора ANA-screen представлено в следующих таблицах для двух групп: доноры крови (n=222) и пациенты, наблюдающиеся в ревматологических клиниках (n=908). Для dsDNA результаты меньше либо равные 4 Ед/мл, 5-9 Ед/мл — сомнительными, большие или равные 10 Ед/мл — положительными. Для других анализов, результаты меньше 1 ИА считаются отрицательными, равные 1,0 или больше — положительными.

Таблица А: Доноры крови (N=222)

Результат	Кол-во положительных результатов	Кол-во отрицательных результатов	Кол-во сомнительных результатов
ANA-screen ^{1,2}	15 (6,8%)	207 (93,2%)	Н/п
dsDNA	3 (1,4%)	211 (95%)	8 (3,6%)
Хроматин	2 (0,9%)	220 (99,1%)	Н/п
Рибосомальный Р-белок	0 (0%)	222 (100%)	
SS-A	2 (0,9%)	220 (99,1%)	
SS-B	0 (0%)	222 (100%)	
Sm	1 (0,5%)	221 (99,5%)	
SmRNP	2 (0,9%)	220 (99,1%)	
RNP	6 (2,7%)	216 (97,3%)	
Scl-70	3 (1,4%)	221 (99,5%)	
Jo-1	0 (0%)	222 (100%)	
Центромера В	3 (1,4%)	219 (98,6%)	

Н/п - неприменимы 1) смотрите сноску ниже 2) результаты посчитаны на основании всех анализов

Таблица В: Пациенты ревматологических клиник (N=908)

Результат	Кол-во положительных результатов	Кол-во отрицательных результатов	Кол-во сомнительных результатов
ANA-screen	390 (43%)	518 (57%)	N/o
dsDNA	119 (13,1%)	741 (81,6%)	48 (5,3%)
Хроматин	168 (18,5%)	740 (81,5%)	N/o
Рибосомальный Р-белок	37 (4,1%)	871 (95,9%)	
SS-A	173 (19%)	735 (81%)	
SS-B	76 (8,4%)	832 (91,6%)	
Sm	60 (6,6%)	848 (93,4%)	
SmRNP	103 (11,3%)	805 (88,7%)	
RNP	112 (12,3%)	796 (87,7%)	
Scl-70	23 (2,5%)	885 (97,5%)	
Jo-1	6 (0,7%)	902 (99,3%)	
Центромера В	38 (4,2%)	870 (95,8%)	

N/o - неприменимы 1) смотрите сноску ниже

Характеристики эффективности.

Обратите внимание: 95% доверительные интервалы в главе Характеристики эффективности данной инструкции были рассчитаны с использованием одного из нижеследующих методов.

Тесты сравнения.

Проспективное сравнение ANA-screen и ANA микропланшетный ИФА.

Тест ANA-screen проводился одновременно с серийно выпускаемым ANA микропланшетным ИФА. 908 образцов сывороток тестировались на трех клинических базах США. Образцы собраны от пациентов, наблюдающихся в ревматологических клиниках с подозрением на аутоиммунное заболевание. Результаты показаны в таблице С.

Таблица С: Ana-screen и микропланшет ИФА ANA

	Положительные ANA-screen ¹	Отрицательные ANA-screen ¹	Общее
Положительные ИФА	351	149	500
Отрицательные ИФА	39	369	408
Общее	390	518	908

1) смотрите сноску под таблицей В

Результаты проспективных тестов сравнения показывают следующее:

- Положительные совпадения $351/500 = 70,2\%$ (95% ДИ 66,1-74,3%)
- Отрицательные совпадения $369/408 = 90,4\%$ (95% ДИ 87,5-93,4%)
- общее совпадение $720/908 = 79,3\%$ (95% ДИ 76,6-82%)

Ретроспективное сравнение выбранных антител с ИФА методами.

Набором ANA-screen были протестированы 40 ретроспективных образцов по аналиту, известно положительных на ANA и одному или более антителам, перечисленным ниже. В дополнение, были протестированы 100 известно отрицательных образцов сывороток на ANA. Ретроспективные образцы, одновременно с ANA-screen, тестировались серийно выпускаемыми микропланшетами ИФА (специфичными по представленным антителам). Результаты показаны в таблице D.

Таблица D: Screen совместно с ИФА: выборочные антитела - ретроспектива

Антитела/Группа антител	dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Scl-70	Jo-1	Цетромера В
Количество	123*	138*	138*	139*	140	139*	139*	138**	139*	130*	140
Количество (пол)	22	28	17	39	39	35	40	41	17	30	36
Количество (отр)	101	110	121	100	101	104	99	97	122	100	104
БюРпех 2200 и ИФА пол	19	11	14	37	39	25	38	37	13	30	36
БюРпех 2200 пол и ИФА отр	0	2	3	0	1	0	0	2	4	0	3
БюРпех 2200 и ИФА отр	101	108	118	100	100	104	99	95	118	100	101
БюРпех 2200 отр и ИФА пол	3	17	3	0	0	10	2	4	4	0	0
%положительных совпадений	86,00%	39,00%	82,00%	95,00%	100,00%	71,00%	95,00%	80,00%	77,00%	100,00%	100,00%
95% ДИ	81-95%	24-58%	58-94%	86-100%	99-100%	54-89%	87-100%	79-100%	53-90%	92-100%	99-100%
%отрицательных совпадений	100,00%	98,00%	98,00%	100,00%	99,00%	100,00%	100,00%	98,00%	97,00%	100,00%	97,00%
95% ДИ	99,5-100%	95-100%	94-100%	99,5-100%	97-100%	99,5-100%	99,6-100%	95-100%	93-100%	99,5-100%	93-100%
%общих совпадений	98,00%	86,00%	96,00%	99,00%	99,00%	93,00%	99,00%	96,00%	94,00%	100,00%	98,00%
95% ДИ	94-100%	80-92%	92-99,5%	96-100%	98-100%	96-100%	96-100%	92-99,5%	90-99%	99,6-100%	95-100%

*Исключены

16

промежуточных

и

сомнительных

результатов

dsDNA

BioPlex

2200

**Исключены

2

сомнительных

результата

RNP

*19 образцов ретроспективного исследования были исключены слабого ответа от частиц контроля сывороток

Корреляция с сывороткой-образцом Центра Контроля Заболеваний (ЦКЗ).

ЦКЗ разработал сывороточную панель, которая тестировалась для определения характеристик набора ANA-screen. Результаты показаны в значениях для получения дополнительной информации после проведения теста ANA-screen на характеризованной сывороточной панели.

Образец	Ожидаемые результаты	ANA Screen	dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Scl-70	Jo-1	Центромера В
ЦКЗ-1	?	+	+	+				+	+				
ЦКЗ-2	?	+				+	+						
ЦКЗ-3	?	+		+		+	+	+	+	+			
ЦКЗ-4	U1-RNP	+		+					+	+			
ЦКЗ-5	Sm	+		+				+	+	+			
ЦКЗ-6	Ядерный	+		+									
ЦКЗ-7	SSA/Ro	+				+							
ЦКЗ-8	Центромера	+											+
ЦКЗ-9	Scl-70	+									+		
ЦКЗ-10	Jo-1	+				+						+	
ЦКЗ-11	PM/Scl												

Перспективное сравнение выбранных антител с ИФА методами.

908 перспективных образцов были протестированы набором ANA-screen. Сыворотки с положительным результатом на специфические антитела были также протестированы серийно выпускаемым микропланшетом ИФА. Результаты показаны в таблице F.

Таблица F: Screen совместно с ИФА: выборочные антитела - перспективное исследование

Антитела/Группа антител	dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Scl-70	Jo-1	Центромера В
Количество	832*	908	908	908	908	908	908	879*	908	908	908
Биоплекс 2200 и ИФА пол	83	98	18	156	57	35	90	79	90-99%	6	31
Биоплекс 2200 пол и ИФА отр	25	70	19	17	19	25	13	25	14	0	7
Биоплекс 2200 и ИФА отр	699	880	868	721	820	843	782	759	877	897	869
Биоплекс 2200 отр и ИФА пол	25	60	3	14	12	54-89%	23	16	8	5	1
%положительных совпадений	77%%	82,00%	86,00%	92,00%	83,00%	88,00%	80,00%	83,00%	53,00%	55,00%	97,00%
95% ДИ	68-85%	54-70%	65-95%	87-96%	73-93	75-100%	72-88%	75-92%	31-74%	28-79%	89-100%
%отрицательных совпадений	97%%	91,00%	98,00%	98,00%	98,00%	97,00%	98,00%	97,00%	98,00%	100,00%	99,00%
95% ДИ	95-98%	89-93%	97-99	97-99%	97-99%	96-98%	97-99%	96-98%	98-99%	99-100%	99-100%
%общих совпадений	94%%	86,00%	98,00%	97,00%	97,00%	97,00%	96,00%	95,00%	98,00%	99,00%	99,00%
95% ДИ	92-96%	83-88%	97-99	95-98%	95-98%	96-98%	95-97%	94-97%	97-99%	99-100%	99-100%

*Исключены 76 промежуточных и сомнительных результатов dsDNA Биоплекс 2200

**Исключены 2 сомнительных результата RNP

Соответствие клиническим проявлениям.

Анализ заданных заболеваний.

В дополнение к оценкам чувствительности, специфичности и математического ожидания для аутоиммунных заболеваний рекомендовано использование коэффициента вероятности. Результаты ANA-screen сравнивались по пяти заданным ассоциированным заболеваниям с результатами, представленными в таблице 6. Образцы были проспективно собраны среди пациентов, наблюдающихся в ревматологических клиниках с установленным диагнозом (ACR) либо соответствующих диагностическим критериям классификации заболеваний по какому-либо из перечисленных ниже заданному ассоциированному заболеванию:

8. системная красная волчанка (СКВ)
9. синдром Шагрена
10. склеродермия (системный склероз)
11. смешанное соединительнотканное заболевание
12. полимиозит

- Чувствительность: 67,6% 95%ДИ 63-72,3%
- Специфичность: 77,7% 95%ДИ 73,9-81,5%
- Общее совпадение: 73,1% 95%ДИ 70,2-76,1%
- Положительный коэффициент вероятности: 3,04 95%ДИ 2,54-3,62
- Отрицательный коэффициент вероятности: 0,42 95%ДИ 0,36-0,48
- ODDS коэффициент: 7,29 95%ДИ 5,43-9,8
- Распространенность: 45,6% 95%ДИ 42,3-48,9

Результаты считались по следующим формулам:

- Чувствительность: $VP/(VP+ЛО) \times 100$
- Специфичность: $ВО/(ЛП+ВО) \times 100$
- Общее совпадение: $(VP+ВО)/(VP+ЛО+ЛП+ВО)$
- Положительный коэффициент вероятности: $чувствительность/(100-специфичность)$
- Отрицательный коэффициент вероятности: $(100-чувствительность)/специфичность$
- ODDS коэффициент: $(VP \times ВО)/(ЛП+ЛО)$
- Распространенность: $(VP+ЛО)/(VP+ЛО+ЛП+ВО) \times 100$

где

ВП — верно положительный

ЛП — ложно положительный

ВО — верно отрицательный

ЛО — ложно отрицательный

Раздельный анализ заболеваний.

Тесты ANA-screen проводились с сопоставлением соответственно утвержденному механизму по пяти заданным ассоциированным заболеваниям. Это исследование показано в следующем наборе таблиц, сведенных по клиническим проявлениям. Белая зона соответствует аутоантителам, выявление которых при данном заболевании спорно. Светло-серая зона соответствует аутоантителам, которые обычно характерны для данного заболевания. Темно-серая зона соответствует аутоантителам, которые обычно не характерны для данного заболевания. Пациенты могли иметь в анамнезе несколько заболеваний и быть отнесены к нескольким группам.

Системная красная волчанка (СКВ).

Сравнение тестов ANA-screen проводилось соответственно утвержденному механизму с помощью тестирования образцов, полученных от пациентов ревматологических клиник с диагнозом (по ACR критериям) СКВ. Образцы тестировались ANA-screen и серийно выпускаемым микропланшетами ИФА (методами, специфичными для данного типа аутоантител). Результаты показаны в таблице Н.

Таблица Н: ANA-screen совместно с ИФА: клиническая диагностика - СКВ

Результаты (количество=332)	ANA- screen	dsDNA*	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP**	Scl-70	Jo-1	Центромера В
ВюРлех 2200 и ИФА пол	213	75	86	16	101	34	30	66	53	1	1	6
ВюРлех 2200 пол и ИФА отр	7	9	36	14	10	8	19	10	13	6	0	5
ВюРлех 2200 и ИФА отр	57	190	183	299	218	280	280	241	244	323	328	321
ВюРлех 2200 отр и ИФА пол	55	12	27	3	3	10	3	15	7	2	2	0
95% ДИ	81,00%	93,00%	81,00%	95,00%	96,00%	95,00%	92,00%	93,00%	94,00%	98,00%	99,00%	98,00%
%общего совпадения	77- 86%	89-96%	77-85%	92-97%	94- 98%	92- 97%	90-96%	89-95%	91-97%	96-99%	98- 100%	97-100%

*Исключены 46 промежуточных результатов

**Исключены 16 сомнительных результатов RNP ИФА

Первично выявленный синдром Шегрена.

Сравнение тестов ANA-screen проводилось соответственно утвержденному механизму с помощью тестирования образцов, полученных от пациентов ревматологических клиник с диагнозом (по ACR критериям) первично выявленный синдром Шегрена. Образцы тестировались ANA-screen и серийно выпускаемым микропланшетами ИФА (методами, специфичными для данного типа аутоантител). Результаты показаны в таблице I.

Таблица I: ANA-screen совместно с ИФА: клиническая диагностика - первично выявленный синдром Шегрена

Результаты (количество=16)	ANA- screen	dsDNA*	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Sci-70	Jo-1	Цетромера В
ВюРлех 2200 и ИФА пол	15	1	1	0	15	13	0	0	0	1	1	1
ВюРлех 2200 пол и ИФА отр	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
ВюРлех 2200 и ИФА отр	1	12	13	16	1	2	16	14	15	16	16	16
ВюРлех 2200 отр и ИФА пол	0	0	1	0	0	1	0	2	0	0	0	0
95% ДИ	100,00%	100,00%	88,00%	100,00%	100,00%	94,00%	100,00%	88,00%	94,00%	100,00%	100%	100,00%
%Общего совпадения	86- 100%	51-90%	64-97%	86-100%	86- 100%	72- 99%	86- 100%	64-97%	72- 99%	86- 100%	86- 100%	86-100%

*Исключены 3 промежуточных результатов dsDNA и сомнительных dsDNA ИФА

Склеродермия (системный склероз).

Сравнение тестов ANA-screen проводилось соответственно утвержденному механизму с помощью тестирования образцов, полученных от пациентов ревматологических клиник с диагнозом (по ACR критериям) склеродермия. Образцы тестировались ANA-screen и серийно выпускаемым микропланшетами ИФА (методами, специфичными для данного типа аутоантител). Результаты показаны в таблице J.

Таблица J: ANA-screen совместно с ИФА: клиническая диагностика - склеродермия

Результаты (количество=44)	ANA- screen	dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Sci-70	Jo-1	Цетромера В
ВюРлех 2200 и ИФА пол	28	1	3	0	7	1	0	3	4	6	0	12

БюРлех 2200 пол и ИФА отр	1	3	3	0	3	1	2	0	0	1	0	0
БюРлех 2200 и ИФА отр	5	40	36	44	30	42	42	40	38	36	44	32
БюРлех 2200 отр и ИФА пол	10	0	2	0	4	0	0	1	2	1	0	0
96% ДИ	75,00%	93,00%	89,00%	100%%	84,00%	98,00%	96,00%	98,00%	96,00%	96,00%	100%	100,00%
%общего совпадения	80-90%	84- 100%	78-100%	99-100%	72- 97%	92- 100%	88- 100%	92- 100%	87- 100%	87- 100%	99- 100%	99-100%

Смешанное соединительнотканное заболевание.

Сравнение тестов ANA-screen проводилось соответственно утвержденному механизму с помощью тестирования образцов, полученных от пациентов ревматологических клиник с диагнозом (по ACR критериям) смешанное соединительнотканное заболевание. Образцы тестировались ANA-screen и серийно выпускаемым микропланшетами ИФА (методами, специфичными для данного типа аутоантител). Результаты показаны в таблице К.

Таблица К: ANA-screen совместно с ИФА: клиническая диагностика - смешанное соединительнотканное заболевание

Результаты (количество=16)	ANA- screen	dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Scl-70	Jo-1	Цетромера В
БюРлех 2200 и ИФА пол	16	1	3	1	2	0	4	15	14	0	1	1
БюРлех 2200 пол и ИФА отр	0	1	11	0	0	0	1	0	1	1	0	0
БюРлех 2200 и ИФА отр	0	13	2	15	14	16	10	1	1	15	15	15

БиоРех 2200 отр и ИФА пол	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
95% ДИ	100,00%	88,00%	31,00%	100,00%	100,00%	100%	88,00%	100,00%	94,00%	94,00%	100%	100,00%
%общего совпадения	88-100%	64-97%	14-58%	88-100%	88- 100%	88- 100%	64- 97%	88- 100%	72- 99%	72-99%	88- 100%	88-100%

Полимйозит.

Сравнение тестов ANA-screen проводилось соответственно утвержденному механизму с помощью тестирования образцов, полученных от пациентов ревматологических клиник с диагнозом (по ACR критериям) полимиозит. Образцы тестировались ANA-screen и серийно выпускаемым микропланшетами ИФА (методами, специфичными для данного типа аутоантител). Результаты показаны в таблице L.

Таблица L: ANA-screen совместим с ИФА: клиническая диагностика - полимиозит

Результаты (количество=12)	ANA- screen	dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Scl-70	Jo-1	Цетромера B
БиоРех 2200 и ИФА пол	6	0	0	0	5	0	0	1	1	0	2	0
БиоРех 2200 пол и ИФА отр	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
БиоРех 2200 и ИФА отр	3	12	11	12	7	12	12	11	11	12	10	12
БиоРех 2200 отр и ИФА пол	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
95% ДИ	75,00%	100,00%	92,00%	100,00%	100,00%	100%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100%	100,00%
%общего совпадения	47- 91%	82- 100%	65-99%	82-100%	82- 100%	82- 100%	82- 100%	82- 100%	82- 100%	82- 100%	82- 100%	82-100%

Заболевания, не поражающие соединительную ткань.

Сравнение тестов ANA-screen проводилось соответственно утвержденному механизму с помощью тестирования образцов, полученных от пациентов ревматологических клиник с неустановленным диагнозом соединительнотканного заболевания. Образцы тестировались ANA-screen и серийно выпускаемым микропланшетами ИФА (методами, специфичными для данного типа аутоантител). Результаты показаны в таблице М.

Таблица М: ANA-screen совместно с ИФА: клиническая диагностика - заболевания, не поражающие соединительную ткань

Результаты (количество=494)	ANA- screen	dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Scl-70	Jo-1	Цетромера В
БюРех 2200 и ИФА пол	79	6	7	1	28	9	3	9	10	2	2	13
БюРех 2200 пол и ИФА отр	31	15	20	5	6	10	4	3	12	6	0	1
БюРех 2200 и ИФА отр	303	459	437	488	453	474	486	477	465	481	490	479
БюРех 2200 отр и ИФА пол	81	14	30	0	7	1	1	5	7	5	2	1
95% ДИ	77,00%	94,00%	90,00%	99,00%	97,00%	98,00%	99,00%	98,00%	96,00%	98,00%	99,60%	99,60%
%общего совпадения	74-81%	92-96%	87-93%	98-100%	96- 99%	96- 99%	98- 100%	97- 100%	94- 98%	96-99%	99- 100%	99-100%

Система поддержки принятия клинических решений (СПКР).

Система поддержки принятия клинических решений BioPlex 2200 — модель алгоритма распознавания, которая может повышать качество ANA-screen с помощью ассоциирования полученных результатов с моделями заболеваний. Результаты СПКР после сопоставления с классификацией по ACR, литературными или соответственными утвержденным медицинским критериями заболеваний, поражающими соединительную ткань представлены в таблицах N-T. Система может предложить одно или более ассоциированное заболевание после распознавания одной из моделей (различные уровни антител). В дополнение, могут быть выведены такие ответы СПКР как: отсутствие ассоциированных заболеваний с моделями программы («Не ассоциированные»), результаты анализа на все антитела ниже установленного значения cut-off («Отрицательные»). Для создания программы были проведены тесты для 908 образцов, полученных от пациентов ревматологических клиник, и 222 предполагаемо отрицательных образца, полученных от доноров крови (общее количество — 1130). Все возможные ассоциации программы с заболеваниями представлены в приложении А. Обратите внимание: как отмечено в приложении А, не для всех данных выводимых СПКР, проведены клинические исследования.

Обратите внимание: иногда, даже при одновременном рассмотрении серологических и клинических данных, сложно различить СКВ и синдром Шегрена. Свойственная диагностике аутоиммунных заболеваний сложность также проиллюстрирована в недавнем исследовании, показавшем, что только в 49% случаев совпадает терапевтический и окончательный диагнозы.

Описание возможных результатов, предлагаемых СПКР, приведено далее.

Отрицательный по всем антителам	Все уровни антител находятся ниже установленного значения cut-off
Положительный по одному или более антителам	Один любой из 11 анализ BioPlex 2200 ANA - положителен
SLE	СКВ
SS	Синдром Шегрена
Склеродермия	Склеродермия
MCTD	Смешанное соединительнотканное заболевание
Полимйозит	Полимйозит
Не ассоциирован	Уровни антител образца не ассоциируются ни с одной моделью аутоиммунного заболевания СПКР

В таблице N рассмотрен процент совпадений между СПКР и терапевтическим диагнозом. Информация представлена как процент совпадений по заболеваниям среди пациентов с одним или более положительными уровнями антител и среди пациентов с наблюдаемым антительным ответом при заболеваниях, поражающими соединительную ткань (ЗПСТ). Также в таблицу включены результаты отрицательные на все антитела. Для таких результатов СПКР не предлагает ассоциированных заболеваний.

Таблица N: СПКР совместно с классификацией заболеваний (N=908)

Классификация заболеваний по критерию**		Количество	Отр по всем антителам	Пол по одному и более антителам	Группа СПКР*						% совпадения диагнозов	
					Не ассоциирован	Ассоциирован с СКВ	Ассоциирован с синдромом Шегрена	Ассоциирован со склеродермией	Ассоциирован с СЗСТ	Ассоциирован с полимиозитом	Пациенты с пол рез-ом по одному антителу	Пациенты с заболеваниями СТ по классификации
Заболевания, поражающие соединительную ткань (ЗПСТ)	СКВ	332	114	218	28	186	22	7	18	0	85,3% (186/218)	56,6% (186/332)
	Первично выявленный синдром Шегрена	16	1	15	0	15	13	0	0	0	86,% (13/15)	81,3% (13/16)
	Склеродермия	44	12	31	3	19	1	16	3	0	51,6% (16/31)	36,4% (16/44)
	СЗСТ	16	0	16	0	15	0	1	13	0	81,3% (13/16)	81,3% (13/16)
	Полимиозит	12	6	6	0	4	0	0	0	2***	33,3% (2/6)	16,7% (2/12)

Исторически сложилось, что при предполагаемом диагнозе аутоиммунного заболевания проводятся лабораторные измерения аутоантител. Например, нахождение антител к Sm позволяет предположить СКВ. Положительный результат на антитела к Sm будет являться подтверждением предполагаемого диагноза. В таблице О

Таблица О: Группа СПКР у пациентов с заболеваниями, поражающими соединительную ткань и положительный результат на антитела

Положительный результат тест на антитела	Заболевание, утвержденное по мед. критериям	Группа СПКР	% совпадения	95% ДИ
dsDNA (N=119)	СКВ (N=92)	СКВ (N=87)	95	89-100
Хроматин (N=168)	СКВ (N=122)	СКВ (N=112)	92	86-97
Рибосомальный Р-белок (N=37)	СКВ (N=30)	СКВ (N=29)	97	83-99
SSA (N=173)	Синдром Шегрена (N=15)	Синдром Шегрена или СКВ (N=13)	87	62-96
	СКВ (N=111)	СКВ (N=106)	96	91-100
SSB (N=76)	Синдром Шегрена (N=13)	Синдром Шегрена или СКВ (N=13)	100	83-100
Sm (N=60)	СКВ (N=49)	СКВ (N=49)	100	99-100
SmRNP (N=103)	СЗСТ (N=15)	СЗСТ или СКВ (N=13)	87	62-96
RNP (N=112)	СЗСТ (N=15)	СЗСТ или СКВ (N=13)	87	62-96
Scl-70 (N=23)	Склеродермия (N=7)	Склеродермия; СКВ или склеродермия (N=5)	71	36-92
Jo-1 (N=6)***	Полимйозит (N=12)	Полимйозит (N=11)	100	43-100
Центромера (N=38)	Склеродермия (N=12)	Склеродермия; СКВ или склеродермия (N=11)	92	65-99
	СКВ (N=11)	СКВ (N=9)	82	52-95

??????????????

Воспроизводимость результатов.

Лабораторией Bio-Rad была приготовлена панель воспроизводимости, состоящая из 11 образцов. Каждый из 10 положительных образцов панели содержит один или более антител к одному (или более) из 13 анализов теста ANA-screen (хроматин, Р-белок рибосом, SS-A, SS-B, Sm, SmPNP, RNP, Scl-70, Jo-1, центромера В). Пять из десяти образцов содержат высокие уровни антител, другие пять образцов — уровни около значений cut-off. Один образец панели отрицателен по всем 13 анализам. В дополнение, были протестированы три серии наборов контролей ANA-screen (один разведенный положительный контроль и один контроль отрицательный по всем 13 анализам).

Изучение воспроизводимости проводилось на трех различных аппаратах США с использованием трех серий реагентов ANA-screen. На каждом аппарате использовалась одна серия набора ANA-screen. На каждую испытательную базу были поставлены все 11 образцов панели. Каждый из 11 образцов панели и аутоиммунный набор контролей был протестирован

в дубли дважды в день (утром и вечером) в течении 10 дней с использованием одной серии набора реагентов ANA-screen и набора калибраторов ANA_screen на всех трех базах (2 раза x 2 повтора x 10 дней = 40 постановок для каждого образца панели на каждой базе. Общее число повторов = 120). Результаты были проанализированы как в рамках одного эксперимента, так и для независимых экспериментов. Расчет проводился на основании руководства Национального комитета Клинических и Лабораторных стандартов (NCCLS EP5-A, Vol 19, No.2, p7, Eq. (1) p8 Eq.(4)). Посчитаны индекс антител (ИА), стандартное отклонение и коэффициент вариации в процентах для каждого образца панели. Посчитаны концентрация (Ед/мл), стандартное отклонение и коэффициент вариации в процентах для dsDNA. Результаты тестирования положительного контроля, панели высоко положительных и слабо положительных образцов представлены в таблицах U-Z.

Клиническая база 1, Серия 1		ANA Screen - внутри одного теста												
		dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A 52	SS-A 60	SS-B	Sm	SmRNP	RNP A	RNP 68	Sci-70	Jo-1	Цетромера В
Панель сильно положительных образцов	Значение	45,6	2,7	2,4	4,1	3,4	3,6	3,3	4	4,1	3,8	3,3	3,9	3,7
	CO	0,89	0,08	0,07	0,19	0,07	0,07	0,09	0,08	0,1	0,13	0,08	0,01	0,08
	KB %	2	2,9	2,7	4,6	1,9	2	2,9	2	2,4	3,5	2,4	2,5	2,2
	Кол-во	40	40	40	36	36	36	40	40	40	40	40	40	40
Панель слабо положительных образцов	Значение	17	1,3	1,2	2,2	1,8	1,7	1,5	2,2	1,9	1,8	1,9	1,9	2
	CO	0,05	0,06	0,04	0,17	0,07	0,05	0,05	0,06	0,05	0,09	0,06	0,09	0,05
	KB %	2,9	4,4	3,9	7,9	3,9	3,1	3,2	2,6	2,6	4,9	2,9	5	2,7
	Кол-во	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Положительный контроль	Значение	23,2	2,5	1,7	3,1	2,5	2,7	2,8	3	2,7	2,5	2,7	2,7	2,8
	CO	0,62	0,1	0,04	0,16	0,04	0,07	0,07	0,07	0,08	0,06	0,06	0,08	0,05
	KB %	2,7	4	2,6	5,1	1,7	2,6	2,4	2,2	3	6,6	2	2,9	1,9
	Кол-во	36	36	40	36	36	36	36	40	36	36	36	36	36

Линейность.

Стандарт ВОЗ Wo/80 dsDNA.

Серийное разведение по стандарту ВОЗ Wo/dsDNA было приготовлено по инструкции для проведения серии анализов. Затем разведенные образцы тестировались набором ANA-screen. Результаты показаны на следующем графике.

Таблица AA: линейность dsDNA

Образец	% разведения	Ожидаемое значение dsDNA	Результат BioPlex 2200 dsDNA	% восстановления
1	10	26	26	100
	20	51	62	121
	40	102	119	116
	60	153	182	119
	80	204	242	119
	100	255	300	118
2	10	31	31	100
	20	61	57	93
	40	122	116	95

	60	183	180	98
	80	244	242	99
	100	305	297	97
3	10	44	44	100
	20	89	80	90
	40	177	163	92
	60	266	246	93
	80	354	328	93
	100	443	400	90
4	10	34	34	100
	20	68	66	97
	40	136	136	100
	60	204	206	101
	80	272	286	105
	100	340	348	102

Разведение при анализе dsDNA.

Проводилось серийное разведение четырех образцов с высокими уровнями антител для количественного анализа на dsDNA набором ANA-screen (соответственно протоколу NCCLS EP6-A Vol.23 No 16). Результаты показаны в таблице АА.

Корреляция при анализе dsDNA.

Была проведена калибровка ANA-screen и сравнение по утвержденному механизму. Корреляция рассчитывалась после тестирования проспективной выборки, состоящей из 908 образцов. При расчете для образцов со значениями ниже 25 Ед/мл (N=850, включены промежуточные и сомнительные результаты), линейная регрессия дала следующие результаты: $Y=0,05X+1,08$, $R=0,536$. При расчете для всех образцов, исключая промежуточные и сомнительные (N=812), линейная регрессия дала следующие результаты: $Y=0,23X-0,76$, $R=0,544$. Результаты расчета корреляции между результатами теста dsDNA ANA-screen и известными результатами разведений dsDNA свидетельствуют о том, что различные группы

Перекрестная реактивность.

Исследование перекрестной реактивности проводилось для определения влияния различных статусов заболевания и других потенциально возможных инфекций на результаты тестов набором ANA-screen. Панель из 10 образцов, положительных на все исследуемые перекрестно реактивные инфекции, была протестирована набором ANA-screen на каждый из 11 аутоантител. Образцы с положительными результатами затем тестировались при помощи серийно выпускаемого микропланшета ИФА. Результаты показывают, что образцы положительные по различным заболеваниям на реагируют перекрестно ни с одним из 11 аутоантител набора ANA-screen. Большинство тестируемых образцов содержало высокие уровни маркеров обозначенных заболеваний. Результаты тестирования всех потенциально реактивных образцов на соответствующие маркеры заболевания были положительными.

Потенциально перекрестно реагирующие вещества	Количество	Метод	dsDNA	Хроматин	Рибосомальный Р-белок	SS-A	SS-B	Sm	SmRNP	RNP	Scl-70	Jo-1	Центромера В
Гистоны	10	БюПлекс 2200	6	н/п	4	3	1	5	6	5	1	0	0
		ИФА	6	н/п	2	3	1	5	6	5	1	н/т	н/т
ssDNA	10	БюПлекс 2200	4	4	2	4	2	1	1	1	2	0	1
		ИФА	4	4	1	4	2	1	1	сомн	1	н/т	1
Ревматоидный фактор	10	БюПлекс 2200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		ИФА	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т
Гладкая мускулатура	10	БюПлекс 2200	2	2	2	1	0	1	2	1	0	0	0
		ИФА	2	2	2	1	н/т	1	2	1	н/т	н/т	н/т
Митохондрия M2	10	БюПлекс 2200	1	3	0	4	1	0	1	2	0	0	6
		ИФА	0	2	н/т	4	1		1	1	н/т	н/т	4
Протеиназа (ПР3)	3	БюПлекс 2200	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		ИФА	н/т	0	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	1

Миелопероксидаза	10	ВюРлех 2200	2	1	2	1	0	0	0	0	0	0	1
		ИФА	0	0	0	0	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	0
антигиреондная пероксидаза	10	ВюРлех 2200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		ИФА	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	2
анти-Тиреоглобулин	10	ВюРлех 2200	1	2	0	1	0	1	1	2	0	0	2
		ИФА	0	0	н/т	0		0	1	1	н/т	н/т	2
Кардиолипид	10	ВюРлех 2200	1	3	0	4	0	1	2	0	0	1	0
		ИФА	1	3	н/т	4	н/т	0	2	н/т	н/т	1	н/т
Глиадин	10	ВюРлех 2200	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		ИФА	н/т	н/т	н/т	1	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т	н/т

Интерферирующие вещества.

Тестирование на интерферирующие субстанции проводилось согласно протоколу Института Клинических и Лабораторных стандартов EP7-A2 (том 25, номер 27). Значимого взаимного влияния установлено не было. Вещества в максимальной концентрации (по 10 тестируемых образцов), представленные в таблице СС, были тестированы в дубле одной серией реагентов.

Вещества	Концентрация
Гемоглобин	$\leq 500 \text{ мг/дл}$
Неконъюгированный билирубин	$\leq 20 \text{ мг/дл}$
Конъюгированный билирубин	$\leq 20 \text{ мг/дл}$
Триглицериды	$\leq 3000 \text{ мг/дл}$
Общий белок	$\leq 12 \text{ г/дл}$
Холестерин	$\leq 500 \text{ мг/дл}$
Эритроциты	$\leq 0,4 \%$
Гамма-глобулин	$\leq 2,5 \text{ г/дл}$
Аскорбиновая кислота	$\leq 3 \text{ мг/дл}$

Набор EBV IgM BioPlex 2200

Сфера использования.

Набор EBV IgM BioPlex 2200 предназначен для мультиплексной качественной проточной иммунодетекции двух различных анализатов: капсидного антигена IgM Эпштейн-Барр вируса и гетерофильных антител в сыворотке человека. Тест-система может использоваться совместно с набором BioPlex 2200 EBV IgG как помощь в диагностике инфекционного мононуклеоза (ИМ).

Набор EBV IgM предназначен для использования в приборе Bio-Rad BioPlex 2200.

Описанные характеристики анализа не доказаны для иммунокомпрометированных и иммуносупрессированных пациентов, пуповинной крови, образцов новорожденных и младенцев. Представленные характеристики не установлены для назофарингиальной карциномы, лимфомы Беркетта и других лимфоаденопатий, ассоциированных с вирусом Эпштейн-Барр.

Краткое содержание и пояснения.

Вирус Эпштейн-Барр относится к семейству герпесвирусов. Первичное инфицирование сопровождается развитием инфекционного мононуклеоза — острым самокупирующимся лимфопролиферативным заболеванием. Около 80-90% населения инфицировано вирусом Эпштейн-Барр.

При инфицировании вирусом происходит продукция антител к четырем различным антигенным комплексам: ядерный антиген (NA), ранний антиген (EA), капсидный антиген (VCA), мембранный антиген. Комплекс раннего антигена включает в себя диффузный и рестриктивный компоненты. Из-за существующей зависимости между реакцией вирус/пациент и клиническими проявлениями, отслеживание шаблонных изменений антител EBV может быть полезно в диагностике инфекции Эпштейн-Барр. Индивидуальные уровни специфических антител не обязательно являются показателем статуса заболевания, но могут иметь диагностическую значимость при отслеживании профиля титров антигенного ответа. Профиль титров антигенного ответа для различных антигенов Эпштейн-Барр вируса может показать характерную картину бессимптомной первичной или хронической латентной инфекции.

EBV VCA: Антитела IgM к капсидному антигену в норме обнаруживаются при остром ИМ и обычно отсутствуют после выздоровления. Рост уровня антител указывает на острую стадию заболевания или реактивацию. Выявление антител у здоровых людей обычно указывает либо на бессимптомную первичную инфекцию либо на предшествующее инфицирование или реактивацию. Титр антител растет и достигает максимального уровня после 3-4 недель, затем снижается и обычно исчезает после 2-3 месяцев.

Гетерофильные антитела: В норме антитела к антигена мононуклеоза выявляются только при остром ИМ. Рост антител указывает на острую стадию заболевания. Выявление антител у здоровых людей обычно указывает либо на бессимптомную первичную инфекцию либо на предшествующее инфицирование. Титр антител растет и достигает максимального уровня после 3-4 недель, затем снижается и обычно исчезает после 2-3 месяцев.

В настоящее время, гетерофильный тест на антитела наиболее частая процедура при диагностике острого ИМ. Для выявления гетерофильных антител к ИМ используются антигены мононуклеоза. Однако у 20% пациентов с первичной вирусной Эпштейн-Барр инфекцией не обнаруживаются гетерофильные антитела. С введением в пользование теста EBV VCA IgM, совершенствуется диагностика острого ИМ. Однако антитела EBV VCA IgM обнаруживаются не у всех пациентов с острым ИМ, таким образом одновременное тестирование на гетерофильные антитела и анти-VCA IgM повышает вероятность выявления острой первичной инфекции.

В наборе Bio-Rad EBV IgM используется группа антигенов, выявляющих два анализата одновременно. Выявление анализатов может проводиться отдельно, так как для каждого антитела существует индивидуальный покрытый антигеном тип частиц.

Принцип процедуры.

В наборе BioPlex EBV IgM используется метод проточной иммуофлуоресценции, который очень схож с традиционным ИФА, но позволяет отдельно выявлять и идентифицировать различные антитела в одной пробе.

Два различных типа частиц покрыты белками, ассоциированными с инфекционным мононуклеозом. Один тип - рекомбинантный белок E.coli, полученный путем слияния, EBV VCA p18 (40kD), второй тип - экстракт эритроцитарных стромальных клеток лошади (гетерофильный антиген). В реакционной пробирке BioPlex 2200 соединяется определенное количество сыворотки пациента, раствор для разведения и набор реакционных частиц. Смесь инкубируется при 37°C. После цикла промывки, добавляются антитела против IgM человека, конъюгированные с фикоэритрином, и инкубируются при 37°C. Избыток конъюгата удаляется в следующем цикле промывки, частицы ресуспендируются в промывочном буфере. Затем частицы пропускаются через детектор. Распознавание окрашенных частиц производится с помощью регистрации флуоресценции красителей, а количество антител, связанных с антигенами, с помощью регистрации флуоресценции присоединенного фикоэритрина. Исходные данные рассчитываются по относительному измерению интенсивности флуоресценции.

Три дополнительных типа окрашенных частиц, внутренние частицы-образцы (ISB), частицы для проверки сывороток (SVB) и частицы без реагентов (RBB) присутствуют в каждой реакционной смеси для подтверждения работы детектора, добавления сыворотки в реакционную пробирку и контроля значимого неспецифического связывания. Для более подробной информации читайте Руководство пользователя BioPlex 2200.

Инструмент калибруется с помощью двух флаконов калибраторов с разными концентрациями антител, отдельно поставляемых компанией Bio-Rad. Концентрации всех антител выражены в индексе антител (ИА).

Состав набора

Флакон	Описание
Набор частиц	Один флакон (10 мл), содержащий два различных типа окрашенных частиц, покрытых очищенным рекомбинантным белком, сходными с E.coli, EBV VCA p18 (40kD), и гетерофильным антигеном (экстракт эритроцитарных стромальных клеток лошади). Внутренние частицы-образцы (ISB), частицы контроля сывороток (SVB) и частицы без реагентов (RBB). Глицерол и белковый стабилизатор (бычий) в MOPS буфере (3-Морфолинопропансульфоновая кислота). ProClin 300 (0,3%) и натрия азид (<0,1%) в качестве консервантов.
Конъюгат	Один флакон (5мл), содержащий комплекс конъюгат (ослиный) против IgM человека/фикоэритрин, комплекс конъюгат (мышинный моноклональный) против фактор XIII/фикоэритрин, с белковым стабилизатором (мышинный) в фосфатном буфере. ProClin 300 (0,3%) и натрия азид (<0,1%) в качестве консервантов.
Раствор для разведения образцов	Один флакон (10мл), содержащий IgG белковые стабилизаторы (бычий и мышинный) в триэтаноламинном буфере. ProClin 300 (0,3%) и натрия азид (<0,1%) в качестве консервантов.

Дополнительные необходимые позиции, поставляемые компанией BioRad.

REF	Описание
663-1300	Набор для калибровки BioPlex EBV IgM: два флакона калибраторов (0,5 мл), содержащие антитела к EBV VCA и гетерофильные антитела. Калибраторы изготовлены на основе сыворотки человека, полученной из дефибринированной плазмы, с добавлением консерванта 0,3% ProClin 300.
663-1330	Набор контролей BioPlex EBV IgM: положительный контроль – два флакона (1,5 мл), содержащие антитела к EBV VCA и гетерофильные антитела. Контроль изготовлен на основе сыворотки человека, полученной из дефибринированной плазмы. Отрицательный контроль – два флакона (1,5 мл). Контроль изготовлен на основе сыворотки человека, полученной из дефибринированной плазмы. Все контроли содержат

- консервант 0,3% ProClin 300.
- 660-0817 Буферный раствор BioPlex 2200: две бутылки (4 литра) с Солевым Фосфатным буфером (PBS). ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
- 660-0818 Промывочный раствор BioPlex 220: одна бутылка (10 литров) с Солевым Фосфатным буфером (PBS) и Tween 20. ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
- 660-0000 Прибор BioPlex 2200 и программное обеспечение.

Меры предосторожности/предупреждения

0,3% ProClin 300 – раздражитель.

R43 - может вызвать раздражение при контакте с кожей.

S24-35-37: предотвращайте контакт с кожей. Контейнер и содержащийся в нем материал должны применяться с учетом мер безопасности. Используйте перчатки.

S56: утилизируйте этот контейнер и содержащийся в нем материал вместе с опасными отходами.

1. Для проведения диагностики в лабораторных условиях.
2. Только для профессионального использования.
3. Каждый образец человеческой сыворотки, использованный при производстве наборов BioPlex 2200 EBV IgM (включая калибраторы и наборы контролей), протестирован на наличие HBsAg, антител к вирусу гепатита С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, с помощью методов принятых Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). На сегодняшний день отсутствуют методы, дающие абсолютную гарантию, что материалы, полученные из сыворотки человека, не содержат этих, либо иных возбудителей заболеваний. В соответствии с правилами «Надлежащей лабораторной практики», все материалы, полученные из тканей человека, считаются потенциально опасными из-за возможного инфицирования Гепатитом В, Гепатитом С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, и любыми другими возбудителями. По этой причине, использование набора BioPlex 2200 EBV IgM, включая реагенты, калибраторы и контроли, должно проводиться с соблюдением всех мер предосторожности, характерных для работы с инфицированным материалом. При работе с набором и образцами для анализов рекомендовано придерживаться рекомендациям Управления охраны труда (США) (в соответствии с государственными нормами для биологически опасных веществ 2 группы для всех материалов, содержащих и возможно содержащих инфекционные агенты).
4. Рассматривайте все материалы, изготовленные из тканей человека, как потенциально опасные и работайте с ними, соблюдая все рекомендованные меры предосторожности (29 CFR 1910.1030).
5. Во время работы с наборами реагентов и образцами пациентов воздержитесь от курения, приема пищи и напитков.
6. Не пинетируйте ротом.
7. Во время работы с реагентами и образцами и управления прибором BioPlex 2200 наденьте средства индивидуальной защиты.
8. Уничтожайте все отходы в соответствии с предписаниями лаборатории.
9. Отходы, содержащие образцы пациентов или биологические продукты реакций, следует уничтожать как биологически-опасные.
10. Химические реагенты необходимо использовать в соответствии с правилами «Надлежащей лабораторной практики».
11. Для получения дополнительной информации о безопасном использовании и биологической опасности наборов и дополнительных материалов изучите Инструкцию по безопасности использования материалов (MSDS). Инструкция предоставляется по требованию.

12. Незамедлительно тщательно протирайте поверхности, на которые были разлиты жидкости. Прозеинфицируйте поверхности, загрязненные биологически-опасными материалами. Надлежащим образом храните контаминирующие материалы.
13. Не используйте реагенты после истечения срока годности. Срок годности отпечатан на коробках.
14. Не меняйте между собой крышки флаконов и бутылок, это может привести к перекрестной контаминации.
15. Необходимо строго соблюдать протокол, описанный в данном документе, для обеспечения правильного использования продукта. При обнаружении результатов, отклоняющихся от нормы, обратитесь в службу технической поддержки Bio-Rad.
16. Никогда не смешивайте одинаковые реагенты из разных бутылок. Это может привести к контаминации реагентов и снижать эффективность использования продукта.
17. Азид натрия может вступать в реакцию с медными и свинцовыми трубками с образованием взрывоопасных азидов этих металлов. Для предотвращения образования отложений азидов, промывайте контейнеры большим количеством воды после удаления жидкостей.

Сбор образцов и правила обращения с ними.

Методы предосторожности при сборе образцов.

Рассматривайте все материалы, изготовленные из тканей человека, как потенциально опасные и работайте с ними, соблюдая все рекомендованные меры предосторожности.

Типы образцов

Рекомендуется проводить анализы, используя сыворотку. Предотвращайте гемолиз.

Хранение образцов

Сыворотка и плазма должны храниться при температуре 2-8°C не дольше 7 дней. Для длительного хранения замораживайте образцы при температуре от -20°C и ниже.

Подготовка образцов

Тщательно перемешайте размороженные образцы, рекомендуется центрифугировать размороженные образцы для растворения образованных плотных скоплений. Не размораживайте образцы более трех раз.

Транспортировка образцов

Все тестируемые сыворотки и другие образцы тканей человека должны транспортироваться в соответствии с внутренними региональными и международными правилами. Не превышайте время хранения и температурный режим, описанные выше.

Подготовка и хранение реагентов.

- Не замораживайте реагенты EBV IgM.
- Реагенты в наборе EBV IgM готовы к использованию. После вскрытия флаконов реагентов, храните не более 30 дней при температуре 2-8°C либо невскрытые упаковки до окончания срока действия.
- Не используйте наборы с истекшим сроком действия.

Признаки нестабильных и испорченных реагентов

Храните реагенты при обозначенной на этикетке температуре. Не используйте после истечения срока действия.

Не используйте мутные реагенты, реагенты с осадком или измененным цветом. Не используйте подтекающие флаконы с реагентами.

Методика.

Для получения достоверных состоятельных результатов точно следуйте данной инструкции. Не изменяйте условия хранения образцов и реагентов и способ эксплуатации.

Инструкция по применению, включая калибровку, контроль качества, техническое обслуживание, также описана в Руководстве для пользователя BioPlex 2200. Приступая к тестам EBV IgM, убедитесь, что прибор включен, наборы реагентов загружены, наполнены резервуары с растворами и проведено все надлежащее техническое обслуживание. Пожалуйста, следуйте Руководству для пользователя, для получения большей информации по этим пунктам.

А) Калибровка

Калибровка с помощью набора для калибровки EBV IgM должна проводиться минимум два раза в месяц и с каждой новой серией реагентов. point-to-point curve Следуйте Руководству для пользователя, для получения большей информации.

В) Ежедневно и для каждой новой упаковки реагентов необходимо проводить контроль качества с помощью набора для контроля качества BioPlex EBV IgM так, как описано в Руководстве для пользователя.

Обратите внимание: положительные и отрицательный контроли предназначены для определения непригодности реагентов. Положительные контроли не гарантируют точность cut-off.

Набор для контроля BioPlex 2200 EBV IgM включает в себя отрицательный и EBV мультианалитный положительный контроли, изготовленные из дефибринолизированной плазмы человека, содержащей антитела для определения с помощью набора реагентов BioPlex 2200 EBV IgM. Положительный контроль предназначен для получения положительных результатов со значениями выше cut-off для каждого вида частиц. Отрицательный контроль предназначен для получения отрицательных результатов со значениями ниже cut-off для каждого вида частиц. Положительный и отрицательный контроль обязательно должны давать положительный и отрицательный результат соответственно.

Ошибки при получении значений контролей приводят к проведению несостоятельных анализов и означают ошибки методики, неправильное обращение с образцами или испорченные реагенты. Добавочные контроли могут тестироваться в соответствии местными, региональными и федеральными правилами, сертифицированными требованиями или внутренним порядком лаборатории.

Нахождение и устранение неисправностей в постановке контроля качества: редко реагенты показывают низкие сигналы для выбранных аналитов. При нижеописанных ошибках выполните следующие действия:

1. Предупреждения Контроля Качества – занижен для некоторых аналитов.

Повторите контроль качества. Если предупреждение возникло снова, удалите упаковку данного контроля и более не используйте ее. Сообщите в центр поддержки BioRad при обнаружении упаковки, выдающей низкий сигнал. Запустите контроль качества, используя новую упаковку. Если результаты не изменились, избавьтесь от испорченной упаковки реагентов, выдающей предупреждение – «низкий сигнал» и не подтверждайте результаты тестирования образцов, проведенные с использованием этой упаковки реагентов. Если предупреждение возникает снова, свяжитесь с центром технической поддержки Bio-Rad для помощи в нахождении и устранении неисправности. Повторите все тесты, проведенные с использованием испорченной упаковки реагентов. Если в прибор загружены различные упаковки наборов, то серийный номер набора, повлекшего за собой ошибку, будет выведен в диалоговом окне процедуры Контроля Качества.

2. Предупреждения Контроля Качества – завышен для некоторых аналитов.

Заново откалибруйте упаковку, вызвавшую ошибку, и запустите контроль качества повторно. Убедитесь, что результаты контроль качества не отличаются для различных аналитов до того, как подтвердите результаты тестирования образцов пациентов. Все тесты, проведенные с использованием упаковки, выдающие предупреждение – «завышенный сигнал», должны быть повторены.

Если значения контролей выходят за установленные границы, все результаты тестов, полученные после последнего контроля с допустимыми значениями, должны быть оценены с точки зрения их пригодности.

С) Загрузка образцов/технологический процесс

Образцы загружаются в штатив, предусмотренный в приборе, так как описано в Руководстве для пользователя BioPlex 2200. Технологический процесс в BioPlex 2200 полностью автоматизирован. Следуйте Руководству для пользователя BioPlex 2200 для установки соответствующего программного обеспечения.

Д) Справка о стандартах

Для анализов в наборе EBV IgM на данный момент нет материалов по сертификации стандартов.

Интерпретация результатов

Расчеты

Все необходимые расчеты выполняются автоматически программным обеспечением BioPlex 2200.

Информация об анализах

Результаты для всех антител представлены в виде индекса антител (ИА). Результаты $<0,8$ ИА считаются отрицательными, результаты от 0,9 до 1,0 — сомнительными, свыше 1,1 включительно — положительными.

Индекс антител (ИА)	Результат	Интерпретация
$\leq 0,8$ ИА	Отрицательный	Результат $\leq 0,8$ ИА для антител EBV VCA или гетерофильных антител говорит о том, что для каждого отдельного маркера не выявляются антитела IgM. Результат должен быть обозначен как нереактивный по данному маркеру.
0,9 ИА-1,0 ИА	Сомнительный	Образцы с сомнительными результатами по любому из двух маркеров должны тестироваться с использованием других серологических методов, либо тестироваться повторно с использованием другого образца.
$\geq 1,1$ ИА	Положительный	Положительный результат по любому из двух маркеров показывает, что образец положителен по антителам к данному маркеру. Положительный результат указывает на настоящую инфекцию или реактивацию и должен рассматриваться как реактивный по данному маркеру. Следует провести дополнительные тесты, такие как EBV VCA IgG для подтверждения серологического статуса, острой, прошедшей либо текущей инфекции ИМ.

Необходимо получить дополнительный образец для повторного тестирования пациентов с сомнительными результатами. При совпадении результатов двух тестов, иммунный статус пациента должен определяться с учетом клиники, факторов риска и результатов других диагностических тестов.

Для тестирования в лаборатории могут быть выбраны как все антитела, так и каждый по отдельности. Для этого при помощи программного обеспечения необходимо создать группировку в окне, названном «Test group setup». Это позволяет оператору в дальнейшем выбирать для тестов созданную группу. Например, EBV VCA и гетерофильные антитела могут тестироваться совместно.

Типичный антигенный ответ.

Следующая таблица показывает общий алгоритм классификации пациентов по серологическому статусу EBV с использованием серологических профилей. Основываясь на результатах стандартных тестов, пациенты могут быть отнесены к тому или иному серологическому статусу. При остром ИМ, быстро растут титры антител IgG и IgM к капсидному антигену. EBV VCA IgM исчезают после четырех недель. Гетерофильные антитела, которые являются антителами класса IgM, обнаруживаются только в течение острой инфекции и быстро затухают после четырех недель.

Титры антител EBV EA-D IgG в течении острой инфекции кратковременно растут и не определяются после 3-6 месяцев. Антитела EBV NA-1 IgG обычно появляются спустя 3 месяца после инфицирования и остаются в течение всей жизни.

Таблица «А». Серологический статус

Серологический статус EBV	EBV NA-1 IgG	EBV VCA IgG	EBV EA-D IgG	EBV VCA IgM	Гетерофильные антитела
Первичная острая	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)
	Отр (-)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)
	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)
	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)
	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)
	Отр (-)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)
	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)
	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)
Поздняя острая	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)
	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)
	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)
	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)
	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Отр (-)
	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)
Выздоровление	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Отр (-)
Предшествующие инфекции	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)
	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)
Восприимчивость	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)

Примечание: В целях определения серологического статуса, неопределённые (equivocal) результаты интерпретировались как негативные.

Любая серологическая картина (pattern) не представленная в Таблице «А» должна расцениваться как неокончательная.

Ограничения методики.

- Набор EBV IgG не пригоден для постановки диагноза отдельно от результатов других лабораторных тестов (например, BioPlex 2200 EBV IgM) и клинической картины. Диагноз может поставить только терапевт.

- Представленные характеристики не установлены для назофарингиальной карциномы, лимфомы Беркетта, лимфоаденопатий ассоциированных с EBV и других ассоциированных с EBV заболеваний, кроме инфекционного мононуклеоза.

- Результаты, полученные для новорожденных и иммунокомпромированных пациентов, следует интерпретировать с осторожностью.

- Возможна перекрестная реактивность для образцов, содержащих антитела к E.coli.

- Иммуные комплексы и другие агрегации иммуноглобулинов могут вызвать ложноположительные результаты, в связи с повышением неспецифического связывания. Для этого, набор BioPlex 2200 EBV IgG включает свободные гранулы в каждом тесте (подтверждение отсутствия неспецифического связывания).

- Значения индекса антител показательны для качественной оценки и не могут быть ассоциированы со статусом заболевания и клиническими проявлениями.

- Тесты не предназначены для скрининговых исследований популяции. Рассчитанное соотношение положительных и отрицательных результатов зависит от распространенности аналитов в представленной выборке. Тестирование должно проводиться только при соответствующей клинической картине и подозрении на инфекционный мононуклеоз.

Статистика

Распространенность

Математическое ожидание для набора EBV IgM рассчитано по полу и возрасту в нижеследующих таблицах. Тестировались произвольные сыворотки пациентов педиатрических отделений и взрослые (n=302) и пациенты с проведенным тестом EBV (n=619). В общем, был отобран 621 пациент с проведенным тестом EBV и 303 пациента среди госпитализированных детей и взрослых. Один пациент из госпитализированной выборки и два пациента с проведенным тестом EBV были исключены RBB (?) из-за выдаваемой ошибки в момент тестирования BioPlex 2200 EBV IgM. Для всех анализов результаты <0,8 ИА считались отрицательными, результаты от 0,9 до 1,0 — сомнительными, свыше 1,1 включительно — положительными.

Таблица "В". Образцы госпитализированных пациентов: EBV VCA IgM

Возраст	Пол	BioPlex 2200 EBV VCA IgM						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	3	11	0	0	24	89	27
	Ж	1	5	0	0	19	95	20
5 — 12	М	2	9	0	0	20	91	22
	Ж	1	3	1	3	32	94	34
13 — 20	М	5	14	1	3	29	83	35
	Ж	0	0	1	7	14	93	15
21 — 30	М	0	0	0	0	6	100	6
	Ж	0	0	0	0	2	100	2
31 — 40	М	0	0	0	0	10	100	10
	Ж	0	0	0	0	11	100	11
41 — 50	М	1	8	0	0	12	92	13
	Ж	1	14	0	0	6	86	7
51 — 60	М	0	0	0	0	23	100	23
	Ж	0	0	1	5	18	95	19
61 — 70	М	0	0	0	0	11	100	11
	Ж	0	0	0	0	11	100	11
71 — 80	М	1	9	0	0	10	91	11
	Ж	0	0	0	0	6	100	6
81 — 90	М	0	0	0	0	11	100	11
	Ж	0	0	0	0	6	100	6
91 — 100	М	0	0	0	0	0	0	0
	Ж	0	0	0	0	2	100	2
Общее количество		15	5	4	1	283	94	302

Таблица "С". Образцы госпитализированных пациентов: гетерофильные антитела

Возраст	Пол	BioPlex 2200 EBV гетерофильные антитела						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	1	4	0	0	26	96	27
	Ж	0	0	0	0	20	100	20

5 — 12	М	0	0	0	0	22	100	22
	Ж	1	3	0	0	33	97	34
13 — 20	М	0	0	0	0	35	100	35
	Ж	0	0	0	0	15	100	15
21 — 30	М	0	0	0	0	6	100	6
	Ж	0	0	0	0	2	100	2
31 — 40	М	0	0	0	0	10	100	10
	Ж	0	0	0	0	11	100	11
41 — 50	М	0	0	0	0	13	100	13
	Ж	0	0	0	0	7	100	7
51 — 60	М	0	0	0	0	23	100	23
	Ж	0	0	0	0	19	100	19
61 — 70	М	0	0	0	0	11	100	11
	Ж	0	0	0	0	11	100	11
71 — 80	М	0	0	0	0	11	100	11
	Ж	0	0	0	0	6	100	6
81 — 90	М	0	0	0	0	11	100	11
	Ж	0	0	0	0	6	100	6
91 — 100	М	0	0	0	0	0	0	0
	Ж	0	0	0	0	2	100	2
Общее количество		2	1	0	0	300	99	302

Таблица "D". Образцы пациентов, которым был сделан тест EBV: EBV VCA IgM

Возраст	Пол	BioPlex 2200 EBV VCA IgM						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее количество
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	
<5 лет	М	3	10	0	0	27	90	30
	Ж	6	18	0	0	27	82	33
5 — 12	М	9	15	1	2	52	84	62
	Ж	6	10	1	2	55	89	62
13 — 20	М	17	22	2	3	59	76	78
	Ж	10	26	1	3	27	71	38
21 — 30	М	5	11	1	2	40	87	46
	Ж	7	21	1	3	25	76	33
31 — 40	М	5	10	1	2	46	88	52
	Ж	1	4	0	0	23	96	24
41 — 50	М	3	9	1	3	30	88	34
	Ж	4	13	1	3	26	84	31
51 — 60	М	4	15	1	4	22	81	27
	Ж	2	8	1	4	23	88	26
61 — 70	М	1	8	0	0	12	92	13
	Ж	0	0	0	0	21	100	21
71 — 80	М	0	0	0	0	2	100	2
	Ж	0	0	0	0	3	100	3
81 — 90	М	0	0	0	0	2	100	2
	Ж	0	0	0	0	2	100	2
91 —	М	0	0	0	0	0	0	0

100	Ж	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество		83	13	12	2	524	85	619

Таблица "Е". Образцы пациентов, которым был сделан тест EBV: гетерофильные антитела

Возраст	Пол	BioPlex 2200 EBV гетерофильные						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	0	0	0	0	30	100	30
	Ж	0	0	0	0	33	100	33
5 — 12	М	3	5	0	0	59	95	62
	Ж	3	5	0	0	59	95	62
13 — 20	М	8	10	1	1	69	88	78
	Ж	7	18	1	3	30	79	38
21 — 30	М	0	0	2	4	44	96	46
	Ж	4	12	0	0	29	88	33
31 — 40	М	0	0	0	0	52	100	52
	Ж	1	4	1	4	22	92	24
41 — 50	М	0	0	0	0	34	100	34
	Ж	0	0	0	0	31	100	31
51 — 60	М	0	0	0	0	27	100	27
	Ж	0	0	0	0	26	100	26
61 — 70	М	0	0	0	0	13	100	13
	Ж	0	0	0	0	21	100	21
71 — 80	М	0	0	0	0	2	100	2
	Ж	0	0	0	0	3	100	3
81 — 90	М	0	0	0	0	2	100	2
	Ж	0	0	0	0	2	100	2
91 — 100	М	0	0	0	0	0	0	0
	Ж	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество		26	4	5	1	588	95	619

Распределение полученных значений для EBV VCA IgM и гетерофильных антител сывороток госпитализированной выборки и выборки пациентов с проведенным тестом EBV представлено на следующих гистограммах.

Характеристики эффективности.

Тесты сравнения.

Все члены выборки были протестированы набором BioPlex 2200 EBV IgM и, одновременно, серийно выпускаемым микропланшетом ИФА/агглютинирующим тестом. Слепым методом на трех клинических базах США были протестированы 621 образец сывороток (с проведенным тестом EBV). Набор BioPlex 2200 EBV IgG запускался совместно с набором BioPlex 2200 EBV IgM для получения полного профиля титров антител. Характеристика иммунного ответа не сопоставлялась с наличием или отсутствием клинической картины, статусом заболевания. Два образца были исключены в процессе тестирования BioPlex 2200 EBV IgM из-за RBB (?) ошибки. Один образец был исключен в процессе тестирования BioPlex 2200 EBV IgG из-за RBB (?) ошибки. С использованием таблицы классификации «А»...

Таблица "F". BioPlex 2200 EBV VCA IgM и EIA: Сравнение по серологическому статусу

Серологический статус EBV	Результаты эталона EBV VCA IgM						Общее
	Положительный			Отрицательный			
	BioPlex 2200 EBV VCA IgM			BioPlex 2200 EBV VCA IgM			
	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	
	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	
Первичный острый	30	1	0	0	0	0	31
Поздний острый	31	1	16	1	4	57	110
Выздоровление	0	0	0	1	0	3	4
Ранее инфицированный	0	0	0	6	6	293	305
Восприимчивый	0	0	0	4	0	123	127
Неподтвержденный	4	0	0	6	0	31	41
Общее	65	2	16	18	10	507	618

Таблица "G". BioPlex 2200 EBV VCA IgM и EIA: Процент совпадений и доверительный интервал по серологическому статусу

Серологический статус EBV	Совпадение положительных результатов		95% ДИ	Совпадение отрицательных результатов		95% ДИ
Первичный острый	(30/31)	96,8%	83,8-99,4%	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*
Поздний острый	(31/48)	64,6%	50,4-17,6%	(57/62)	91,9%	82,5-96,5%
Выздоровление	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*	(3/4)	75,0%	30,1-95,4%
Ранее инфицированный	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*	(293/305)	96,1%	93,2-97,7%
Восприимчивый	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*	(123/127)	96,9%	92,2-98,8%
Неподтвержденный	(4/4)	100%	51,0-100%	(31/37)	83,8%	68,9-92,3%
Общее	(65/83)	78,3%	68,3-85,5%	(507/535)	94,8%	92,5-96,4%

* В случаях результата совпадения (0/0), процент совпадений и 95% доверительный интервал не могут быть вычислены

Таблица "H". BioPlex 2200 ГА и Тест на агглютинацию: сравнение по серологическому статусу

Серологический статус EBV	Результаты эталона EBV гетерофильные антитела						Общее
	Положительный			Отрицательный			
	BioPlex 2200 EBV ГА			BioPlex 2200 EBV ГА			
	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	
	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	
Первичный острый	16	1	2	2	0	10	31
Поздний острый	3	0	1	1	1	104	110
Выздоровление	0	0	0	0	0	4	4
Ранее инфицированный	0	0	0	0	3	302	305
Восприимчивый	0	0	0	0	0	127	127
Неподтвержденный	4	0	23	0	0	14	41
Общее	23	1	26	3	4	561	618

Таблица "I". BioPlex 2200 ГА и Тест на агглютинацию: Процент совпадений и доверительный интервал по серологическому статусу

Серологический статус EBV	Совпадение положительных результатов		95% ДИ	Совпадение отрицательных результатов		95% ДИ
Первичный острый	(16/19)	84,2%	62,4-94,5%	(10/12)	83%	55,2-95,3%
Поздний острый	(3/4)	75,0%	30,1-95,4%	(102/106)	96,2%	93,4-99,5%
Выздоровление	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*	(4/4)	100,0%	51,0-100%
Ранее инфицированный	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*	(302/305)	99,0%	97,1-99,7%
Восприимчивый	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*	(127/127)	100,0%	97,1-100%
Неподтвержденный	(4/27)	14,8%	5,9-32,5%	(14/14)	100%	78,5-100%
Общее	(23/50)	46,0%	33,0-59,6%	(561/568)	98,8%	97,5-99,4%

* В случаях результата совпадения (0/0), процент совпадений и 95% доверительный интервал не могут быть вычислены

Сравнение набора BioPlex 2200 EBV IgM и микропланшета ИФА (известные положительные VCA IgM образцы)

Эффективность набора EBV IgM оценивалась при помощи тестирования известно-положительных образцов по EBV VCA IgM по серийно выпускаемому ИФА. Положительные образцы, общим количеством 100, тестировались набором EBV IgM после серийно выпускаемого ИФА на клинических базах США. Для получения полного профиля титров антител анализы ставились вместе с тестом EBV IgG. Характеристика иммунного ответа не сопоставлялась с наличием или отсутствием клинической картины, статусом заболевания. С использованием таблицы классификации «А»...

Таблица "J". BioPlex 2200 EBV VCA IgM и EIA: Сравнение по серологическому статусу

Серологический статус EBV	Результаты эталона EBV VCA IgM						Общее
	Положительный			Отрицательный			
	BioPlex 2200 EBV VCA IgM			BioPlex 2200 EBV VCA IgM			
	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	
	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	
Поздний острый	100	0	0	0	0	0	100
Общее	100	0	0	0	0	0	100

Таблица "K". BioPlex 2200 EBV VCA IgM и EIA: Процент совпадений и доверительный интервал по серологическому статусу

Серологический статус EBV	Совпадение положительных результатов		95% ДИ	Совпадение отрицательных результатов		95% ДИ
Первичный острый	(100/100)	100%	96,3-100%	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*
Общее	(100/100)	100%	96,3-100%	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*

* В случаях результата совпадения (0/0), процент совпадений и 95% доверительный

интервал не могут быть вычислены

Таблица "L". BioPlex 2200 ГА и Тест на агглютинацию: Сравнение по серологическому статусу

Серологический статус EBV	Результаты эталона EBV гетерофильные антитела						Общее
	Положительный			Отрицательный			
	BioPlex 2200 EBV ГА			BioPlex 2200 EBV ГА			
	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	
	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во
Поздний острый	100	0	0	0	0	0	100
Общее	100	0	0	0	0	0	100

Таблица "М". BioPlex 2200 ГА и Тест на агглютинацию: Процент совпадений и доверительный интервал по серологическому статусу

Серологический статус EBV	Совпадение положительных результатов		95% ДИ	Совпадение отрицательных результатов		95% ДИ
Первичный острый	(100/100)	100%	96,3-100%	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*
Общее	(100/100)	100%	96,3-100%	(0/0)	Н/Д*	Н/Д*

* В случаях результата совпадения (0/0), процент совпадений и 95% доверительный интервал не могут быть вычислены

Сравнение характеристик серологических статусов EBV.

С использованием таблицы классификации, образцы были разделены на группы по серологическому статусу, по заболеванию ассоциированному с EBV, с использованием серийно выпускаемого микропланшета ИФА и теста агглютинации, и затем сопоставлены с группами, выделенными при помощи BioPlex 2200 EBV IgG. Набор BioPlex 2200 EBV IgG запускался совместно с набором BioPlex 2200 EBV IgM для получения полного профиля титров антител. Характеристика иммунного ответа не сопоставлялась с наличием или отсутствием клинической картины, статусом заболевания. Результаты тестирования 618 образцов на трех клинических базах США показаны в таблице "N".

Таблица "N". Сравнение характеристик серологических статусов EBV

Серологический статус EBV		Профиль титров EBV IgG и IgM антител BioPlex 2200								
		Первичный острый	Поздний острый	Выздоровление	Ранне инфицированный	Восприимчивый	Неподтвержденный	Общее	Процент совпадения	95% ДИ
Доступные для приобретения тесты	Первичный острый	30	0	0	0	0	1	31	96,8%	83,8-99,4%
	Поздний острый	5	90	1	1	0	1	110	81,8%	73,6-87,9%
	Выздоровление	1	0	3	0	0	0	4	75,0%	30-95,4%
	Ранне инфицированный	0	31	2	263	4	5	305	86,2%	81,9-89,7%
	Восприимчивый	4	0	0	0	122	1	127	96,1%	91,1-98,3%
	Неподтвержденный	6	10	0	7	11	7	41	17,1%	8,5-31,3%
	Общее	46	131	6	283	137	15	618	83,3%	80,2-86,1%

Примечание: Вычисления производились только для незатемненных областей

Таблица "M". BioPlex 2200 ГА и Тест на агглютинацию: Процент совпадений и

доверительный интервал по серологическому статусу

Сравнение острого и не острого серологического статуса EBV.

Результаты, полученные после суммирования информации из предыдущей таблицы, были разделены на две группы (острая и не острая инфекция). Острая инфекция включала в себя первичную и позднюю острую инфекции. Не острая – ранее инфицированных, выздоравливающих и восприимчивых (так как это определено в таблице классификации). Неподтвержденные образцы включали в себя все образцы, реактивность антител которых не может быть отнесена ни к одной группе таблицы классификации "А". Результаты приведены в таблице "О".

Таблица "О". Острая и неострая инфекция

Серологический статус EBV		Профиль титров EBV IgG и IgM антител BioPlex 2200					
		Острый	Не острый	Неподтвержденный	Общее	Процент совпадения	95% ДИ
Доступные для приобретения тесты	Острый	125	14	2	141	88,70%	82,4-92,9%
	Не острый	36	394	6	436	30,40%	87,2-92,8%
	Неподтвержденный	16	18	7	41	17,1%	8,5-31,3%
	Общее	177	426	15	618	85,10%	82,1-87,7%

Примечание: Вычисления производились только для незатемненных областей

Сравнение характеристик серологических статусов EBV (известные положительные IgM образцы)

С использованием таблицы классификации, образцы были разделены на группы по серологическому статусу, по заболеванию ассоциированному с EBV, с использованием серийно выпускаемого микропланшета ИФА и теста агглютинации, и затем сопоставлены с группами, выделенными при помощи BioPlex 2200 EBV IgG. Набор BioPlex 2200 EBV IgG запускался совместно с набором BioPlex 2200 EBV IgM для получения полного профиля титров антител. Характеристика иммунного ответа не сопоставлялась с наличием или отсутствием клинической картины, статусом заболевания. Положительные образцы, общим количеством 100, протестированы на клинической базе США. Результаты приведены в таблице "Р".

Таблица "Р". Сравнение характеристик серологических статусов EBV (известные положительные VCA IgM образцы)

Серологический статус EBV		Профиль титров EBV IgG и IgM антител BioPlex 2200							
		Первичный острый	Поздний острый	Выздоровление	Раннее инфицированный	Восприимчивый	Неподтвержденный	Общее	Процент совпадения
Доступные для приобретения тесты	Первичный острый	0	0	0	0	0	0	0	Н/Д
	Поздний острый	0	100	0	0	0	0	100	96,3-100%
	Выздоровление	0	0	0	0	0	0	0	Н/Д
	Раннее инфицированный	0	0	0	0	0	0	0	Н/Д
	Восприимчивый	0	0	0	0	0	0	0	Н/Д
	Неподтвержденный	0	0	0	0	0	0	0	Н/Д
	Общее	0	100	0	0	0	0	100	100%

Примечание: Вычисления производились только для незатемненных областей

Сравнение острого и не острого серологического статуса EBV(известные положительные VCA IgM образцы) .

Результаты, полученные после суммирования информации из предыдущей таблицы, были разделены на две группы (острая и не острая инфекция). Острая инфекция включала в себя первичную и позднюю острую инфекции. Не острая – ранее инфицированных, выздоравливающих и восприимчивых (так как это определено в таблице классификации). Неподтвержденные образцы включали в себя все образцы, реактивность антител которых не может быть отнесена ни к одной группе таблицы классификации "А". Результаты приведены в таблице "Q".

Таблица "Q". Острая и неострая инфекции (известные положительные VCA IgM образцы)

Серологический статус EBV		Профиль титров EBV IgG и IgM антител BioPlex 2200					
		Острый	Не острый	Неподтвержденный	Общее	Процент совпадения	95% ДИ
Доступные для приобретения тесты	Острый	100	0	0	100	100%	96,3-100%
	Не острый	0	0	0	0	Н/Д	Н/Д
	Неподтвержденный	0	0	0	0	Н/Д	Н/Д
	Общее	100	0	0	100	100%	96,3-100%

Примечание: Вычисления производились только для незатемненных областей

Группировка пациентов с первичной острой инфекцией по возрасту.

Группа острой первичной инфекции из таблицы характеристики по серологическому статусу была разбита на группы по возрасту. Результаты показаны в таблице "R".

Таблица "R". Группировка пациентов с первичной острой инфекцией по возрасту

Группировка пациентов с первично острой инфекцией по возрасту	N	Профиль титров EBV IgM антител BioPlex 2200			BioPlex 2200 ГА		
		Полож (+)	(%)	95% ДИ	Полож (+)	(%)	95% ДИ
Менее 5 лет	4	4	100%	51,0-100%	0	0%	Н/Д
От 5 до 12 лет	7	7	100%	64,6-100%	5*	71%	35,9-91,8%
От 13 до 20 лет	14	13	92,9%	68,5-98,7%	10	71%	45,4-88,3%
Взрослые, старше 21 года	6	6	100%	61,0-100%	3**	50%	18,8-81,2%
Общее	31	30	96,8%	83,8-99,4%	18	58%	40,8-73,6%

* Два (2) образца были положительными на BioPlex 2200 и отрицательными на гетерофильную агглютинацию (серийно выпускаемый тест)

** Один (1) образец был положительным на гетерофильную агглютинацию

(серийно выпускаемый тест) и
отрицательным на BioPlex 2200

Воспроизводимость результатов

Панель воспроизводимости, состоящая из 6 образцов, приготовлена Bio-Rad лабораторией. Два из шести образцов содержат высокие уровни антител, присутствующих в наборе BioPlex 2200 EBV IgM (УИМ VCA и гетерофильные антитела). Два из шести образцов содержат уровни антител около cut-off. Оба типа образцов изготовлены из положительной сыворотки пациента. Два из шести образцов - отрицательны (один высоко отрицательный, один слабо отрицательный) по обоим анализам. В дополнение, тестировались положительный и отрицательный контроли (по обоим анализам).

Тестирование воспроизводимости проводилось на каждой из трех клинических баз США с использованием трех серий набора EBV IgM, трех серий калибраторов EBV IgM, трех серий контролей EBV IgM. Все три базы были обеспечены панелями для проведения исследования. Каждый из шести образцов, положительный и отрицательный контроли были протестированы четырежды ежедневно в течение трех дней на всех трех клинических базах с использованием одной серии наборов EBV IgM, калибраторов EBV IgM и контролей EBV IgM (4 раза x 3 дня x 3 базы = 36 повторов для каждого образца панели контролей). Расчет проводился на основании руководства Института Клинических и Лабораторных стандартов EP5-A2, исправленное в ноябре 2004, и ISO/TR 22971:2005. Посчитаны стандартное отклонение и коэффициент вариации в процентах.

Результат тестирования образцов панели EBV VCA IgM	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Между базами		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%
Сильноположительный 1	36	1,9	0,1	5,9	0,1	4,5	0,1	3,8	0	0	0,2	8,4
Сильноположительный 2	36	2	0,1	3,5	0	0	0,1	5,8	0	2,2	0,1	7,1
Слабоположительный 1	35	1,2	0,1	4,4	0,1	5,6	0	1,4	0	3,9	0,1	8,3
Слабоположительный 2	36	1,4	0,1	5,8	0,1	4,8	0	0	0	2,4	0,1	7,9
Положительный контроль	36	2	0,1	5,5	0,1	2,8	0,1	3	0,3	15,9	0,3	17,2

Результат тестирования образцов панели ГИ	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Между базами		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%
Сильноположительный 1	36	2,8	0,1	2,8	0	0	0,1	5,2	0,1	5,1	0,2	7,8
Сильноположительный 2	36	2,7	0,1	3,2	0	0	0,1	4,4	0	0,7	0,1	5,5
Слабоположительный 1	35	1,9	0,1	5	0	0	0	0	0	2,3	0,1	5,5
Слабоположительный 2	36	1,8	0,1	4,7	0	1	0	0	0,1	5,6	0,1	7,4

Положительный
контроль

36

2,5

0,1

5,3

0,1

2,6

0

0

0

0

0,1

5,9

Изучение прецизионности.

Панель прецизионности состоит из шести образцов, приготовленных лабораторией Bio-Rad. Два образца из шести содержат высокие уровни антител, содержащихся в наборе BioPlex 2200 EBV IgM (EBV VCA IgM и гетерофильные антитела), и два образца из шести содержат антитела в количестве около cut-off. Образцы приготовлены из положительных сывороток пациентов. Два из шести образцов – отрицательны (высоко отрицательный и низко отрицательный) ко всем анализам.

Тест прецизионности проводился лабораторией Bio-Rad с использованием одной серии реагентов EBV IgM, одной серии калибраторов EBV IgM и одной серии EBV IgM. Каждый образец панели был протестирован в дубле в двух постановках в течение 10 дней с использованием одной серии реагентов EBV IgM, одной серии калибраторов EBV IgM и одной серии EBV IgM (2 анализа x 2 постановки 10 дней = 40 постановок). Результаты были проанализированы как в рамках одного эксперимента, так и для независимых экспериментов. Расчет проводился на основании руководства Института Клинических и Лабораторных стандартов EP5-A2, исправленное в ноябре 2004, и ISO/TR 22971:2205. Посчитаны стандартное отклонение и коэффициент вариации в процентах.

Результат тестирования образцов панели EBV VCA IgM	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%
Сильноположительный 1	42	2,5	0,2	8,8	0,1	2,4	0,2	6,6	0,3	13,2
Сильноположительный 2	43	2,7	0,2	5,6	0,2	6,9	0,1	1,8	0,2	9,1
Слабоположительный 1	42	1,6	0,1	6,5	0	0	0,1	4,3	0,1	7,8
Слабоположительный 2	42	1,9	0,1	4,4	0,1	2,9	0,1	4,8	0,1	7,1
Высоко отрицательный	43	0,7	0	6,4	0	0	0	2,7	0	7
Слабоотрицательный	43	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0

Результат тестирования образцов панели ГА	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%
Сильноположительный 1	42	2,8	0,1	3,7	0,2	8,6	0,1	1,8	0,3	9,5
Сильноположительный 2	43	2,8	0,1	4,7	0,3	9,9	0,1	5,3	0,3	12,2

Слабоположительный 1	42	2,1	0,1	3,9	0,1	3,7	0,2	9	0,2	10,5
Слабоположительный 2	42	1,9	0,1	3,9	0,1	4,6	0,1	7,5	0,2	9,6
Высоко отрицательный	43	0,7	0	7	0	4,6	0	0	0,1	8,4
Слабоотрицательный	43	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Перекрестная реактивность.

Изучение перекрестной реактивности проводилось с целью определения возможного влияния образцов сывороток с различными заболеваниями и другими потенциально итерферирующими агентами на результаты тестов BioPlex 2200 EBV IgM. Панель с десятью положительными образцами по каждому потенциально перекрестно-реагирующему агенту была протестирована набором BioPlex 2200 EBV IgM по обоим анализам. Для всех образцов были также проведен ИФА и тест латекс-агглютинации. Были протестированы 33 дополнительных положительных на токсоплазмоз и 42 положительных на ЦМВ образца из-за десяти образцов, изначально одновременно положительных по токсоплазмозу, ЦМВ и EBV VCA. Исследование проводилось для того, чтобы показать, что при постановке теста набором EBV IgM отсутствует перекрестная реактивность с токсоплазмозом и ЦМВ. Для добавочных образцов, показывающих перекрестную реактивность, проводился серийно выпускаемый ИФА и тест латекс-агглютинации. Большинство образцов были высоко положительными по каждому исследуемому заболеванию. Большинство заявленных положительных результатов были подтверждены тестированием на серийно выпускаемом микропланшете ИФА, что вероятнее показывает реактивность EBV IgM нежели перекрестную реактивность с интерферирующими факторами.

Потенциально перекрестно-реагирующие агенты	Количество	Метод	BioPlex 2200 EBV IgM	
			EBV VCA IgM	Гетерофильные антитела
Антинуклеарные антитела	10	BioPlex 2200	1	7
		ИФА	1	0
		Несоответствия	0	0
Краснуха IgG	10	BioPlex 2200	0	0
		ИФА	0	0
		Несоответствия	0	0
ГепатитС IgM	10	BioPlex 2200	0	0
		ИФА	0	0
		Несоответствия	0	0
E.coli	4	BioPlex 2200	0	0
		ИФА	н/о	н/о
		Несоответствия	н/о	н/о
Токсоплазмоз IgG	10	BioPlex 2200 (N)	43	43
		BioPlex 2200 (+)	14	0
		ИФА (N)	14	10
		ИФА (+)	9	0
		Несоответствия	5	0
Ревматоидный фактор	10	BioPlex 2200	0	0
		ИФА	0	0
		Несоответствия	0	0
Ветряная оспа IgG	10	BioPlex 2200	0	0
		ИФА	0	0
		Несоответствия	0	0
ВИЧ	10	BioPlex 2200	0	0
		ИФА	н/о	н/о
		Несоответствия	н/о	н/о
Беременные женщины	10	BioPlex 2200	0	0
		ИФА	0	0
		Несоответствия	0	0

ЦМВ IgG	10	BioPlex 2200 (N)	52	52
		BioPlex 2200 (+)	25	1
		ИФА (N)	25	10
		ИФА (+)	22	0
		Несоответствия	3	1

Интерферирующие вещества.

Тестирование на интерферирующие вещества проводилось согласно протоколу Института Клинических и Лабораторных стандартов EP7-A2 (том 25, номер 27). Значимого взаимного влияния установлено не было. Вещества в максимальной концентрации (по 10 тестируемых образцов), представленные в таблице, были тестированы одной серией реагентов.

Вещества	Концентрация
Гемоглобин	≤ 500 мг/дл
Неконъюгированный билирубин	≤ 20 мг/дл
Конъюгированный билирубин	≤ 20 мг/дл
Триглицериды	≤ 3000 мг/дл
Общий белок	≤ 12 г/дл
Холестерин	≤ 500 мг/дл
Эритроциты	$\leq 0,4$ %
Гамма-глобулин	$\leq 2,5$ г/дл
Аскорбиновая кислота	≤ 3 мг/дл

Набор EBV IgG BioPlex 2200

Сфера использования.

Набор EBV IgG BioPlex 2200 предназначен для мультиплексной качественной проточной иммунодетекции трех отдельных антигенов EBV: ядерный антиген (EBV NA-1), капсидный антиген (EBV VCA) и ранний антиген (EBV EA-D) вируса Эпштейн-Барра в сыворотке человека. Тест-система может использоваться совместно с набором BioPlex 2200 EBV IgM как помощь в диагностике инфекционного мононуклеоза (ИМ).

Набор EBV IgG предназначен для использования в приборе Bio-Rad BioPlex 2200.

Описанные характеристики анализа не доказаны для иммунокомпрометированных и иммуносупрессированных пациентов, пуповинной крови, образцов новорожденных и младенцев. Представленные характеристики не установлены для назофарингиальной карциномы, лимфомы Беркетта и других лимфоаденопатий, ассоциированных с EBV.

Краткое содержание и пояснения.

Вirus Эпштейн-Барр относится к семейству герпесвирусов. Первичное инфицирование сопровождается развитием инфекционного мононуклеоза — острым самокупирующимся лимфопролиферативным заболеванием. Около 80-90% населения инфицировано вирусом Эпштейн-Барра.

При инфицировании вирусом происходит продукция антител к четырем различным антигенным комплексам: ядерный антиген (NA), ранний антиген (EA), капсидный антиген (VCA), мембранный антиген. Ранний антиген включает в себя диффузный и рестриктивный компоненты. Из-за существующей зависимости между реакцией вирус/пациент и клиническими проявлениями *tracking of EBV patterns may assist...*

Индивидуальные уровни специфических антител не обязательно являются показателем статуса заболевания, но могут иметь диагностическую значимость при отслеживании профиля титров антигенного ответа. Профиль титров антигенного ответа для различных антигенов Эпштейн-Барр вируса может показать характерную картину бессимптомной первичной или хронической латентной инфекции.

EBV NA-1: Антитела IgG к ядерному антигену 1 редко представленные при взрослом инфекционном мононуклеозе и обычно их титры растут вместе с выздоровлением. Выявление антител у здоровых людей обычно указывает на предшествующее инфицирование. Уровни антител растут и выходят на плато в течении трех месяцев и остаются неизменными в течении всей жизни.

EBV VCA: Антитела IgG к капсидному антигену обычно выявляются в остром периоде инфекции и после выздоровления. Рост антител указывает на острый период болезни. Выявление антител у здоровых людей обычно указывает либо на бессимптомную первичную инфекцию либо на предшествующее инфицирование. Уровни антител имеют тенденцию расти и достигать до максимума в течение 3-4 недель, затем снижаться и персистировать в течение всей жизни.

EBV EA-D: Антитела IgG к раннему антигену D часто выявляются при остром инфекционном мононуклеозе и, как правило, отсутствуют после выздоровления. Рост уровня антител указывает на острую, хроническую инфекцию или реактивацию. Выявление антител у здоровых людей обычно указывает на реактивацию, особенно если определение сопровождается ростом уровня антител к ядерному антигену 1. Уровни антител имеют тенденцию расти и достигать до максимума в течение 3-4 недель, затем снижаться и исчезать после 6 месяцев.

В настоящее время, гетерофильный тест на антитела наиболее частая процедура при

диагностике острого ИМ. Для выявления гетерофильных антител к ИМ используются антигены мононуклеоза. Однако у 20% пациентов с первичной вирусной Эпштейн-Барр инфекцией не обнаруживаются гетерофильные антитела. С введением в пользование теста EBV VCA IgM, совершенствуется диагностика острого ИМ. Однако антитела EBV VCA IgM обнаруживаются не у всех пациентов с острым ИМ, таким образом одновременное тестирование на гетерофильные антитела и анти-VCA IgM повышает вероятность выявления острой первичной инфекции.

В наборе Bio-Rad EBV используются группа антигенов, выявляющих три анализата одновременно. Частицы покрыты различными антигенами, поэтому выявление каждого антитела может быть установлено отдельно.

Принцип процедуры.

В наборе BioPlex EBV IgG используется метод проточной иммунофлуоресценции, который очень схож с традиционным ИФА, но позволяет разделять и идентифицировать различные антитела в одной пробирке.

Два различных типа частиц покрыты рекомбинантными белками E.coli, EBV NA-1 (28kD и 45 kD), EBV VCA p18 (40kD) и EBV EA-D (28kD) ассоциированных с инфекционным мононуклеозом. BioPlex 2200 соединяет в реакционной пробирке определенное количество сыворотки пациента, раствор для разведения и набор реакционных частиц. Смесь инкубируется при 37°C. После цикла промывки, добавляются антитела против IgG человека, конъюгированные с фикоэритрином, и инкубируются при 37°C. Избыток конъюгата удаляется в следующем цикле промывки, частицы ресуспендируются в промывочном буфере. Затем частицы пропускаются через детектор. Распознавание окрашенных частиц производится с помощью регистрации флуоресценции красителей, а количество антител, связанных с антигенами, с помощью регистрации флуоресценции присоединенного фикоэритрина Rew data//.

Три типа окрашенных частиц, внутренние частицы-образцы (ISB), частицы для проверки сывороток (SVB) и частицы без реагентов (RBB) присутствуют в каждой реакционной смеси для подтверждения работы детектора, добавления сыворотки в реакционную пробирку и отсутствия значительного неспецифического связывания. Для более подробной информации читайте Руководство пользователя BioPlex 2200.

Инструмент калибруется с помощью 7 отдельных флаконов калибраторов, отдельно поставляемых компанией Bio-Rad. Комбинация четырех различных флаконов (с различными концентрациями антител) используется для калибровки. Концентрации всех антител выражены в индексе антител (ИА).

Состав набора.

Флакон	Описание
Набор частиц	Один флакон (10 мл), содержащий три различных типа окрашенных частиц, покрытых очищенными рекомбинантными белками сходными с E.coli, EBV NA-1 (28kD и 45 kD), EBV VCA p18 (40kD) и EBV EA-D (28kD); внутренние частицы-образцы (ISB), частицы контроля сывороток (SVB) и частицы без реагентов (RBB); с белковым стабилизатором (бычий) в MOPS буфере (3-Морфолинопропансульфоновая кислота). ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
Конъюгат	Один флакон (5мл), содержащий раствор мышинных моноклональных антител против комплекса IgG человека/фикоэритрин, раствор мышинных моноклональных антител против комплекса фактор XIII/фикоэритрин, с белковым стабилизатором (мышинный) в фосфатном буфере. ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
Раствор для	Один флакон (10мл), содержащий белковые стабилизаторы (бычий и

разведения мышинный) в солевом буфере. ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и образцов натрия азид в качестве консервантов.

Дополнительные необходимые позиции, поставляемые компанией BioRad.

REF	Описание
663-1200	Набор для калибровки BioPlex EBV IgG: семь флаконов калибраторов (0,5 мл), содержащие антитела к EBV NA-1, EBV VCA и EBV EA-D. Калибраторы изготовлены на основе сыворотки человека из дефибринированной плазмы, полученной из сыворотки больного человека, с добавлением консерванта 0,3% ProClin 300.
663-1230	Набор контролей BioPlex EBV IgG: положительный контроль – два флакона (1,5 мл), содержащие человеческие антитела к EBV NA-1, EBV VCA и EBV EA-D. Контроль изготовлен на основе сыворотки человека из дефибринированной. Отрицательный контроль – два флакона (1,5 мл). Контроль изготовлен на основе сыворотки человека из дефибринированной, полученной из сыворотки больного человека. Все контроли содержат консервант 0,3% ProClin 300.
660-0817	Буферный раствор BioPlex 2200: две бутылки (4 литра) с Солевым Фосфатным буфером (PBS), ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
660-0818	Промывочный раствор BioPlex 220: одна бутылка (10 литров) с Солевым Фосфатным буфером (PBS) и Tween 20, ProClin 300 (0,3%), натрия бензоат (0,1%) и натрия азид в качестве консервантов.
660-0000	Прибор BioPlex 2200 и система программного обеспечения.

Меры предосторожности/предупреждения
0,3% ProClin 300 –

R43 - может вызвать раздражение при контакте с кожей.

S24-35-37: предотвращайте контакт с кожей. Контейнер и содержащийся в нем материал должны применяться с учетом мер безопасности. Используйте перчатки.

S56: утилизируйте этот контейнер и содержащийся в нем материал вместе с опасными отходами.

1. Для проведения диагностики в лабораторных условиях.
2. Только для профессионального использования.
3. Каждый образец человеческой сыворотки, использованный при производстве наборов BioPlex 2200 EBV IgG (включая калибраторы и наборы контролей), протестирован на наличие HBsAg, антител к вирусу гепатита С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, с помощью методов принятых Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (США). На сегодняшний день отсутствуют методы, дающие абсолютную гарантию, что материалы, полученные из сыворотки человека, не содержат этих, либо иных возбудителей заболеваний. В соответствии со правилами «Надлежащей лабораторной практики», все материалы, полученные из тканей человека, считаются потенциально опасными из-за возможности инфицированности Гепатитом В, Гепатитом С, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, и любыми другими возбудителями. По этой причине, использование набора BioPlex 2200 EBV IgG, включая реагенты, калибраторы и контроли, должно проводиться с соблюдением всех мер предосторожности, характерных для работы с инфицированным материалом. При работе с набором и образцами для анализов рекомендовано придерживаться рекомендациям Управления охраны труда (США) в соответствии с государственными нормами для биологически опасных веществ 2

группы для всех материалов, содержащих и возможно содержащих инфекционные агенты).

4. Рассматривайте все материалы, изготовленные из тканей человека, как потенциально опасные и работайте с ними, соблюдая все рекомендованные меры предосторожности (29 CFR 1910.1030).
5. Во время работы с наборами реагентов и образцами пациентов воздержитесь от курения, приема пищи и напитков.
6. Не пипетируйте ртом.
7. Во время работы с реагентами и образцами и управления прибором BioPlex 2200 надевайте средства индивидуальной защиты.
8. Уничтожайте все отходы в соответствии с предписаниями лаборатории.
9. Отходы, содержащие образцы пациентов или биологические продукты реакций, следует уничтожать как биологически-опасные.
10. Химические реагенты необходимо использовать в соответствии с правилами «Надлежащей лабораторной практики».
11. Для получения дополнительной информации о безопасном использовании и биологической опасности наборов и дополнительных материалов изучите Инструкцию по безопасности использования материалов (MSDS). Инструкция предъявляется по требованию.
12. Незамедлительно тщательно протирайте поверхности, на которые были разлиты жидкости. Прозеинфицируйте поверхности, загрязненные биологически-опасными материалами. Надлежащим образом храните контаминирующие материалы.
13. Не используйте реагенты после истечения срока годности. Срок годности отпечатан на коробках.
14. Не меняйте между собой крышки флаконов и бутылок, это может привести к перекрестной контаминации.
15. Необходимо строго соблюдать протокол, описанный в данном документе, для обеспечения правильного использования продукта. При обнаружении результатов, отклоняющихся от нормы, обратитесь в службу технической поддержки Bio-Rad.
16. Никогда не смешивайте одинаковые реагенты из разных бутылок. Это может привести к контаминации реагентов и снизить эффективность использования продукта.
17. Азид натрия может вступать в реакцию с медными и свинцовыми трубками с образованием взрывоопасных азидов этих металлов. Для предотвращения образования отложений азидов, промывайте контейнеры большим количеством воды после удаления жидкостей.

Типы образцов

Рекомендуется проводить анализы, используя сыворотку и гепаринизированную или ЭДТА плазму. Предотвращайте гемолиз.

Хранение образцов

Сыворотка и плазма должны храниться при температуре 2-8°C не дольше 7 дней. Для

длительного хранения замораживайте образцы при температуре от -20°C и ниже.

Подготовка образцов

Тщательно перемешайте размороженные образцы, рекомендуется центрифугировать размороженные образцы для растворения образованных плотных скоплений. Не размораживайте образцы более трех раз.

Транспортировка образцов

Все тестируемые сыворотки и другие образцы тканей человека должны транспортироваться в соответствии с внутренними региональными и международными правилами. Не превышайте время хранения и температурный режим, описанные выше.

Подготовка и хранение реагентов.

- Не замораживайте реагенты EBV IgG
- Реагенты в наборе EBV IgG готовы к использованию. После вскрытия флаконов реагентов, храните не более 30 дней при температуре 2-8°C либо невскрытые упаковки до окончания срока действия.
- Не используйте наборы с истекшим сроком действия.

Признаки нестабильных и испорченных реагентов

Храните реагенты при обозначенной на этикетке температуре и не используйте после истечения срока действия.

Не используйте мутные реагенты, реагенты с осадком или измененным цветом. Не используйте подтекающие флаконы с реагентами.

Методика.

Для получения достоверных состоятельных результатов точно следуйте данной инструкции. Не изменяйте условия хранения образцов и реагентов и способ эксплуатации.

Инструкция по применению, включая калибровку, контроль качества, техническое обслуживание, также описана в Руководстве для пользователя BioPlex 2200. Приступая к тестам EBV IgG, убедитесь, что прибор включен, наборы реагентов загружены, наполнены резервуары с растворами и проведено все надлежащее техническое обслуживание. Пожалуйста, следуйте Руководству для пользователя, для получения большей информации по этим пунктам.

А) Калибровка

Калибровка с помощью набора для калибровки EBV IgG должна проводиться минимум два раза в месяц и с каждой новой серией реагентов. point-to-point curve. Следуйте Руководству для пользователя, для получения большей информации.

В) Ежедневно и для каждой новой упаковки реагентов необходимо проводить контроль качества с помощью набора для контроля качества BioPlex EBV IgG так, как описано в Руководстве для пользователя.

Обратите внимание: положительные и отрицательный контроли предназначены для определения непригодности реагентов. Положительные контроли не гарантируют точность cut-off.

Набор для контроля BioPlex 2200 EBV IgG включает в себя отрицательный и EBV мультианалитный положительный контроли, изготовленные из дефибринолизированной плазмы человека, содержащей антитела для определения с помощью набора реагентов BioPlex 2200 EBV IgG. Положительный контроль предназначен для получения положительных результатов со значениями выше cut-off для каждого вида частиц. Отрицательный контроль предназначен для получения отрицательных результатов со значениями ниже cut-off для каждого вида частиц. Положительный и отрицательный

контроль обязательно должны давать положительный и отрицательный результат соответственно.

Ошибки при получении значений контролей приводят к проведению несостоятельных анализов и означают ошибки методики, неправильное обращение с образцами или испорченные реагенты. Добавочные контроли могут тестироваться в соответствии местными, региональными и федеральными правилами, сертифицированными требованиями или внутренним порядком лаборатории.

Нахождение и устранение неисправностей в постановке контроля качества: редко реагенты показывают низкие сигналы для выбранных аналитов. При нижеописанных ошибках выполните следующие действия:

1. Предупреждения Контроля Качества – занижен для некоторых аналитов.

Повторите контроль качества. Если предупреждение возникло снова, удалите упаковку данного контроля и более не используйте ее. Сообщите в центр поддержки BioRad при обнаружении упаковки, выдающей низкий сигнал. Запустите контроль качества, используя новую упаковку. Если результаты не изменились, избавьтесь от испорченной упаковки реагентов, выдающей предупреждение – «низкий сигнал» и не подтверждайте результаты тестирования образцов, проведенные с использованием этой упаковки реагентов. Если предупреждение возникает снова, свяжитесь с центром технической поддержки Bio-Rad для помощи в нахождении и устранении неисправности. Повторите все тесты, проведенные с использованием испорченной упаковки реагентов. Если в прибор загружены различные упаковки наборов, то серийный номер набора, повлекшего за собой ошибку, будет выведен в диалоговом окне процедуры Контроля Качества.

2. Предупреждения Контроля Качества – завышен для некоторых аналитов.

Заново откалибруйте упаковку, вызвавшую ошибку, и запустите контроль качества повторно. Убедитесь, что результаты контроля качества не отличаются для различных аналитов до того, как подтвердите результаты тестирования образцов пациентов. Все тесты, проведенные с использованием упаковки, выдающие предупреждение – «завышенный сигнал», должны быть повторены.

Обратите внимание: Для некоторых аналитов EBV IgG положительный контроль должен быть разведен соответственно значениям серии. Эти значения загружены в базу данных BioPlex 2200. Для таких аналитов разведения проводятся автоматически и проводятся с использованием дополнительной реакционной пробирки. Если значения контролей выходят за установленные границы, все результаты тестов, полученные после последнего контроля с допустимыми значениями, должны быть оценены с точки зрения их пригодности.

C) Загрузка образцов/технологический процесс

Образцы загружаются в штатив, предусмотренный в приборе, так как описано в Руководстве для пользователя BioPlex 2200. Технологический процесс в BioPlex 2200 полностью автоматизирован. Следуйте Руководству для пользователя BioPlex 2200 для установки соответствующего программного обеспечения.

D) Справка о стандартах

Для аналитов в наборе EBV IgG на данный момент нет материалов по сертификации стандартов.

Интерпретация результатов

Расчеты

Все необходимые расчеты выполняются автоматически программным обеспечением BioPlex 2200.

Информация об анализах

Результаты для всех антител представлены в виде индекса антител (ИА). Результаты <0,8

ИА считаются отрицательными, результаты от 0,9 до 1,0 — сомнительными, свыше 1,1 включительно — положительными.

Индекс антител (ИА)	Результат	Интерпретация
$\leq 0,8$ ИА	Отрицательный	Результат $\leq 0,8$ ИА для любого из трех маркеров EBV говорит о том, что для каждого отдельного маркера не выявляются антитела IgG. Результат должен быть обозначен как нереактивный по данному маркеру. Если все три маркера отрицательны, но есть подозрение на инфицирование вирусом Эпштейн-Барра, тестирование нового образца должно проводиться не ранее, чем через две недели.
0,9 ИА-1,0 ИА	Сомнительный	Образцы с сомнительными результатами по любому из трех маркеров должны тестироваться с использованием других серологических методов, либо тестироваться повторно с использованием другого образца.
$\geq 1,1$ ИА	Положительный	Положительный результат по любому из трех маркеров показывает, что образец положителен по антителам к данному маркеру. Положительный результат указывает на прошедшую или настоящую инфекцию и должен рассматриваться как реактивный по данному маркеру. Следует провести дополнительные тесты, такие как EBV VCA IgM для подтверждения серологического статуса, острой, прошедшей либо текущей инфекции ИМ.

Необходимо получить дополнительный образец для повторного тестирования пациентов с сомнительными результатами. При совпадении результатов двух тестов, иммунный статус пациента должен определяться с учетом клиники, факторов риска и результатов других диагностических тестов.

Для тестирования в лаборатории могут быть выбраны как все антитела, так и каждый по отдельности. Для этого при помощи программного обеспечения необходимо создать группировку в окне, названном «Test group setup». Это позволяет оператору в дальнейшем выбирать для тестов созданную группу. Например, EBV NA-1 и EBV VCA могут тестироваться совместно.

Типичный антигенный ответ.

Следующая таблица показывает общий алгоритм классификации пациентов по серологическому статусу EBV с использованием серологических профилей. Основываясь на результатах стандартных тестов, пациенты могут быть отнесены к тому или иному серологическому статусу. При остром ИМ, быстро растут титры антител IgG и IgM к капсидному антигену. EBV VCA IgM исчезают после четырех недель. Гетерофильные антитела, которые являются антителами класса IgM, определяются только в течении острой инфекции и быстро затухают после четырех недель. Титры антител EBV EA-D IgG в течении острой инфекции кратковременно растут и не определяются после 3-6 месяцев. Антитела

EBV NA-1 IgG обычно появляются спустя 3 месяца после инфицирования и остаются в течение всей жизни также, как и EBV VCA IgG.

Серологический статус EBV	EBV NA-1 IgG	EBV VCA IgG	EBV EA-D IgG	EBV VCA IgM	Гетерофильные антитела
Первичная острая	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)
	Отр (-)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)
	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)
	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)
	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)
	Отр (-)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)
	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)
	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)
Поздняя острая	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)
	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)
	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)
	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)
	Пол (+)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Отр (-)
	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)
Выздоровление	Отр (-)	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Отр (-)
Предшествующие инфекции	Отр (-)	Пол (+)	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)
	Пол (+)	Пол (+)	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)
Восприимчивость	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)	Отр (-)

Ограничения методики.

- Набор EBV IgG не пригоден для постановки диагноза отдельно от результатов других лабораторных тестов (например, BioPlex 2200 EBV IgM) и клинической картины. Диагноз может поставить только терапевт.

- Представленные характеристики не установлены для назофарингиальной карциномы, лимфомы Беркетта, лимфоаденопатий ассоциированных с EBV и других ассоциированных с EBV заболеваний, кроме инфекционного мононуклеоза.

- Результаты, полученные для новорожденных и иммунокомпромиссных пациентов, следует интерпретировать с осторожностью.

- Возможна перекрестная реактивность для образцов, содержащих антитела к E.coli.

- Иммуные комплексы и другие агрегации иммуноглобулинов могут вызвать ложноположительные результаты, в связи с повышением неспецифического связывания. Для этого, набор BioPlex 2200 EBV IgG включает свободные гранулы в каждом тесте (подтверждение отсутствия неспецифического связывания).

- Значения индекса антител показательны для качественной оценки и не могут быть ассоциированы со статусом заболевания и клиническими проявлениями.

- Тесты не предназначены для скрининговых исследований популяции. Рассчитанное соотношение положительных и отрицательных результатов зависит от распространенности аналитов в представленной выборке. Тестирование должно проводиться только при соответствующей клинической картине и подозрении на инфекционный мононуклеоз.

Статистика

Распространенность

Математическое ожидание для набора EBV IgG рассчитано по полу и возрасту в нижеследующих таблицах. Тестировались произвольные сыворотки пациентов педиатрических отделений и взрослые (n=303) и пациенты с проведенным тестом EBV (n=620). В общем, было отобрано 621 пациент с проведенным тестом EBV. Один пациент был исключен RBB (?) из-за выдаваемой ошибки в момент тестирования BioPlex 2200 EBV IgG. Для всех анализов результаты <0,8 ИА считались отрицательными, результаты от 0,9 до 1,0 — сомнительными, свыше 1,1 включительно — положительными.

Образцы госпитализированных пациентов: EBV NA-1 IgG

Возраст	Пол	BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	11	41	0	0	16	59	27
	Ж	6	30	0	0	14	70	20
5 — 12	М	13	59	0	0	9	41	22
	Ж	15	44	0	0	19	56	34
13 — 20	М	28	80	0	0	7	20	35
	Ж	10	67	0	0	5	33	15
21 — 30	М	5	83	0	0	1	17	6
	Ж	1	50	0	0	1	50	2
31 — 40	М	10	100	0	0	0	0	10
	Ж	11	100	0	0	0	0	11
41 — 50	М	13	100	0	0	0	0	13
	Ж	7	100	0	0	0	0	7
51 — 60	М	22	96	0	0	1	4	23
	Ж	18	95	0	0	1	5	19
61 — 70	М	11	100	0	0	0	0	11
	Ж	12	100	0	0	0	0	12
71 — 80	М	11	100	0	0	0	0	11
	Ж	6	100	0	0	0	0	6
81 — 90	М	11	100	0	0	0	0	11
	Ж	5	83	0	0	1	17	6

91 —	М	0	0	0	0	0	0	0
100	Ж	2	100	0	0	0	0	2
Общее количество		228	75	0	0	75	25	303

Образцы госпитализированных пациентов: EBV VCA IgG

Возраст	Пол	BioPlex 2200 EBV VCA IgG						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	11	41	0	0	16	59	27
	Ж	5	25	0	0	15	75	20
5 — 12	М	14	64	0	0	8	36	22
	Ж	15	44	0	0	19	56	34
13 — 20	М	29	83	0	0	6	17	35
	Ж	9	60	0	0	6	40	15
21 — 30	М	6	100	0	0	0	0	6
	Ж	1	50	0	0	1	50	2
31 — 40	М	10	100	0	0	0	0	10
	Ж	11	100	0	0	0	0	11
41 — 50	М	13	100	0	0	0	0	13
	Ж	7	100	0	0	0	0	7
51 — 60	М	22	96	0	0	1	4	23
	Ж	18	95	0	0	1	5	19
61 — 70	М	10	91	1	9	0	0	11
	Ж	11	92	1	8	0	0	12
71 — 80	М	10	91	1	9	0	0	11
	Ж	6	100	0	0	0	0	6
81 — 90	М	11	100	0	0	0	0	11
	Ж	5	83	0	0	1	17	6
91 — 100	М	0	0	0	0	0	0	0
	Ж	2	100	0	0	0	0	2

Общее количество	226	75	3	1	74	24	303
------------------	-----	----	---	---	----	----	-----

Образцы госпитализированных пациентов: EBV EA-D IgG

Возраст	Пол	BioPlex 2200 EA-D VCA IgG						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	2	7	0	0	25	93	27
	Ж	1	5	1	5	18	90	20
5 — 12	М	4	18	0	0	18	82	22
	Ж	5	15	0	0	29	85	34
13 — 20	М	9	26	2	6	24	69	35
	Ж	3	20	3	20	9	60	15
21 — 30	М	2	33	0	0	4	67	6
	Ж	1	50	1	50	0	0	2
31 — 40	М	4	40	2	20	4	40	10
	Ж	6	55	0	0	5	45	11
41 — 50	М	5	38	0	0	8	62	13
	Ж	2	29	0	0	5	71	7
51 — 60	М	8	35	5	22	10	43	23
	Ж	10	53	1	5	8	42	19
61 — 70	М	3	27	0	0	8	73	11
	Ж	5	42	1	8	6	50	12
71 — 80	М	4	36	2	18	5	45	11
	Ж	1	17	0	0	5	83	6

81 — 90	М	7	64	1	9	3	27	11
	Ж	5	83	0	0	1	17	6
91 — 100	М	0	0	0	0	0	0	0
	Ж	1	50	0	0	1	50	2
Общее количество		88	29	19	6	196	65	303

Пациенты с проведенным тестом EBV: EBV NA-1 IgG

Возраст	Пол	BioPlex 2200 NA-1 IgG						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	6	20	0	0	24	80	30
	Ж	9	26	0	0	25	74	34
5 — 12	М	22	35	0	0	40	65	62
	Ж	24	39	0	0	38	61	62
13 — 20	М	46	59	1	1	31	40	78
	Ж	19	49	0	0	20	51	39
21 — 30	М	42	91	0	0	4	9	46
	Ж	25	76	0	0	8	24	33
31 — 40	М	50	96	0	0	2	2	52
	Ж	22	92	0	0	2	8	24
41 — 50	М	33	100	0	0	0	0	33
	Ж	30	97	0	0	1	3	31
51 — 60	М	26	96	0	0	1	4	27
	Ж	21	81	0	0	5	19	26
61 — 70	М	11	85	0	0	2	15	13
	Ж	19	90	0	0	2	10	21

71 — 80	М	2	100	0	0	0	0	2
	Ж	3	100	0	0	0	0	3
81 — 90	М	2	100	0	0	0	0	2
	Ж	2	100	0	0	0	0	2
91 — 100	М	0	0	0	0	0	0	0
	Ж	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество		414	67	1	0	205	33	620

Пациенты с проведенным тестом EBV: EBV VCA IgG

Возраст	Пол	BioPlex 2200 VCA IgG						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	6	20	0	0	24	80	30
	Ж	11	32	0	0	23	68	34
5 — 12	М	21	34	0	0	41	66	62
	Ж	28	45	0	0	34	55	62
13 — 20	М	47	60	0	0	31	40	78
	Ж	20	51	0	0	19	49	39
21 — 30	М	43	93	1	2	2	4	46
	Ж	26	79	0	0	7	21	33
31 — 40	М	52	100	0	0	0	0	52
	Ж	22	92	0	0	2	8	24
41 — 50	М	32	97	0	0	1	3	33
	Ж	31	100	0	0	0	0	31

51 — 60	М	27	100	0	0	0	0	27
	Ж	24	92	0	0	2	8	26
61 — 70	М	12	92	0	0	1	8	13
	Ж	18	86	0	0	3	14	21
71 — 80	М	2	100	0	0	0	0	2
	Ж	3	100	0	0	0	0	3
81 — 90	М	2	100	0	0	0	0	2
	Ж	1	50	0	0	1	50	2
91 — 100	М	0	0	0	0	0	0	0
	Ж	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество		428	69	1	0	191	31	620

Пациенты с проведенным тестом EBV: EBV EA-D IgG

Возраст	Пол	BioPlex 2200 EA-D IgG						
		Положительный результат		Сомнительный результат		Отрицательный результат		Общее
		Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество	Процент (%)	Количество
<5 лет	М	3	10	3	10	24	80	30
	Ж	6	18	2	6	26	76	34
5 — 12	М	7	11	3	5	52	84	62
	Ж	6	10	4	6	52	84	62
13 — 20	М	16	21	8	10	54	69	78
	Ж	12	31	2	5	25	64	39
21 — 30	М	16	35	2	4	28	61	46
	Ж	9	27	3	9	21	64	33
31 — 40	М	15	29	5	10	32	62	52

	Ж	7	29	1	4	16	67	24
41 — 50	М	10	30	2	6	21	64	33
	Ж	4	13	1	3	26	84	31
51 — 60	М	13	48	3	11	11	41	27
	Ж	10	38	1	4	15	58	26
61 — 70	М	6	46	1	8	6	46	13
	Ж	5	24	3	14	13	62	21
71 — 80	М	0	0	1	50	1	50	2
	Ж	1	33	0	0	2	67	3
81 — 90	М	0	0	0	0	2	100	2
	Ж	1	50	0	0	1	50	2
91 — 100	М	0	0	0	0	0	0	0
	Ж	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество		147	24	45	7	428	69	620

Характеристики эффективности.

Тесты сравнения.

Все члены выборки были протестированы набором BioPlex 2200 EBV IgG и, одновременно, серийно выпускаемым микропланшетом ИФА. Слепым методом на трех клинических базах США был протестирован 621 образец сывороток (с проведенным тестом EBV). Набор BioPlex 2200 EBV IgG запускался совместно с набором BioPlex 2200 EBV IgM для получения полного профиля титров антител. Характеристика иммунного ответа не сопоставлялась с наличием или отсутствием клинической картины, статусом заболевания. Два образца были исключены в процессе тестирования BioPlex 2200 EBV IgM из-за RBB (?) ошибки. Один образец был исключен в процессе тестирования BioPlex 2200 EBV IgG из-за RBB ошибки. С использованием таблицы классификации

Серологический статус EBV	Результаты эталона EBV NA-1									Общее
	Положительный			Сомнительный			Отрицательный			
	BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			
	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	
	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	
Первичный острый	0	0	0	0	0	0	0	0	31	31
Поздний острый	104	0	4	0	0	0	0	0	2	110
Выздоровление	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
Ранее инфицированный	285	1	4	0	0	0	4	0	11	305
Восприимчивый	0	0	0	0	0	1	1	0	125	127
Неподтвержденный	20	0	3	0	0	0	0	0	12	41
Общее	409	1	17	0	0	1	5	0	185	618

Серологический статус EBV	Совпадение положительных рез-тов		95% ДИ	Совпадение отрицательных рез-тов		95% ДИ
Первичный острый	(0/0)	н/о	н/о	(31/31)	100%	89-100%
Поздний острый	(104/108)	96,30%	90,9-98,6%	(2/2)	100%	34,2-100%
Выздоровление	(0/0)	Н/о	Н/о	(4/4)	100%	51-100%
Ранее инфицированный	(285/290)	98,30%	96-99,3%	(11/15)	73,30%	48-98,1%
Восприимчивый	(0/1)	0%	н/о	(125/126)	99,20%	95,6-99,9%
Неподтвержденный	(20/29)	69%	50,8-82,7%	(12/12)	100%	75,8-100%
Общее	(409/428)	95,60%	93,2-97,1%	(185/190)	97,40%	94-98,9%

Серологический статус EBV	Результаты эталона EBV VCA									Общее
	Положительный			Сомнительный			Отрицательный			
	BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			
	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	
	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	
Первичный острый	4	0	3	0	0	1	0	0	23	31
Поздний острый	106	0	4	0	0	0	0	0	0	110
Выздоровление	4	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Ранне инфицированный	296	1	8	0	0	0	0	0	0	305
Восприимчивый	0	0	0	0	0	0	0	0	127	127
Неподтвержденный	16	0	0	0	0	0	1	0	24	41
Общее	426	1	15	0	0	1	1	0	174	618

Серологический статус EBV	Совпадение положительных рез-тов		95% ДИ	Совпадение отрицательных рез-тов		95% ДИ
Первичный острый	(4/8)	50%	21,5-78,5%	(23/23)	100%	85,7-100%
Поздний острый	(106/110)	96,40%	91-98,6%	(0/0)	н/о	н/о
Выздоровление	(4/4)	100%	51-100%	(0/0)	н/о	н/о
Раннее инфицированный	(296/305)	97,00%	94,5-98,4%	(0/0)	н/о	н/о
Восприимчивый	(0/0)	н/о	н/о	(127/127)	100,00%	97,1-100%
Неподтвержденный	(16/16)	100%	80,6-100%	(24/25)	96%	80,5-99,3%
Общее	(426/443)	96,30%	93,9-97,6%	(174/175)	97,40%	96,8-99,9%

Серологический статус EBV	Результаты эталона EBV EA-D									Общее
	Положительный			Сомнительный			Отрицательный			
	BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			BioPlex 2200 EBV NA-1 IgG			
	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	Пол	Сомн	Отр	
	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	Кол-во	
Первичный острый	18	1	2	0	0	0	2	1	7	31
Поздний острый	72	1	3	4	0	0	6	3	21	110
Выздоровление	4	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Ранне инфицированный	0	0	0	5	3	3	23	22	249	305

Восприимчивый	0	0	0	0	1	1	0	9	116	127
Неподтвержденный	10	2	1	0	0	0	2	2	24	41
Общее	104	4	6	9	4	4	33	37	417	618

Серологический статус EBV	Совпадение положительных рез-тов		95% ДИ	Совпадение отрицательных рез-тов		95% ДИ
Первичный острый	(18/21)	85,7%	65,4-95%	(7/10)	70%	39,7-89,2%
Поздний острый	(72/76)	94,7%	87,2-97,9%	(21/34)	61,8%	45-76,1%
Выздоровление	(4/4)	100%	51-100%	(0/0)	н/о	н/о
Ранее инфицированный	(0/3)	0%	н/о	(249/299)	83,3%	78,6-87,1%
Восприимчивый	(0/1)	0%	н/о	(116/125)	92,8%	86,9-96,2%
Неподтвержденный	(10/13)	76,9%	49,7-91,8%	(24/28)	85,7%	68,5-94,3%
Общее	(104/118)	88,1%	81,1-92,8%	(417/496)	84,1%	80,6-87%

Сравнение характеристик серологических статусов EBV.

С использованием таблицы классификации, образцы были разделены на группы по серологическому статусу, по заболеванию ассоциированному с EBV, с использованием серийно выпускаемого микропланшета ИФА и теста агглютинации, и затем сопоставлены с группами, выделенными при помощи BioPlex 2200 EBV IgG. Набор BioPlex 2200 EBV IgG запускался совместно с набором BioPlex 2200 EBV IgM для получения полного профиля титров антител. Характеристика иммунного ответа не сопоставлялась с наличием или отсутствием клинической картины, статусом заболевания. Результаты тестирования 618 образцов на трех клинических базах США показаны в таблице.

Серологический статус EBV		Профиль титров EBV IgG и IgM антител BioPlex 2200								
		Первичный острый	Поздний острый	Выздоровление	Раннее инфицированный	Восприимчивый	Неподтвержденный	Общее	Процент совпадения	95% ДИ
Доступные для приобретения тесты	Первичный острый	30	0	0	0	0	1	31	96,80%	83,8-99,4%
	Поздний острый	5	90	1	1	0	1	110	81,80%	73,6-87,9%
	Выздоровление	1	0	3	0	0	0	4	75%	30-95,4%
	Раннее инфицированный	0	31	2	263	4	5	305	86,20%	81,9-89,7%
	Восприимчивый	4	0	0	0	122	1	127	96,10%	91,1-98,3%
	Неподтвержденный	6	10	0	7	11	7	441	17,10%	8,5-31,3%
	Общее	46	131	6	283	137	15	618	83,30%	80,2-86,1%

Сравнение острого и не острого серологического статуса EBV.

Результаты, полученные после суммирования информации из предыдущей таблицы, были разделены на две группы (острая и не острая инфекция). Острая инфекция включала в себя первичную и позднюю острую инфекции. Не острая – ранее инфицированных, выздоравливающих и восприимчивых (так как это определено в таблице классификации). Неподтвержденные образцы включали в себя все образцы, реактивность антител которых не может быть отнесена ни к одной группе таблицы классификации.

Серологический статус EBV		Профиль титров EBV IgG и IgM антител BioPlex 2200					
		Острый	Не острый	Неподтвержденный	Общее	Процент совпадений	95% ДИ
Доступные для приобретения тесты	Острый	125	14	2	141	88,70%	82,4-92,9%
	Не острый	36	394	6	436	30,40%	87,2-92,8%
	Неподтвержденный	16	1	7	41	17%	8,5-31,3%
	Общее	177	426	15	618	85,10%	82,1-87,7%

Воспроизводимость результатов.

Панель воспроизводимости, состоящая из девяти образцов, приготовлена лабораторией Bio-Rad. Два образца панели содержат высокие уровни EBV NA-1 и EBV VCA, два образца содержат высокие уровни EBV EA-D, два образца содержат уровни EBV NA-1 и EBV VCA около cut-off, два образца содержат уровни EBV EA-D около cut-off. Все эти образцы приготовлены из положительных сывороток. Один образец панели отрицателен по всем трем анализам, содержащимся в наборе BioPlex 2200 EBV IgG. Также тестировался один положительный и один отрицательный контроль.

Тестирование воспроизводимости проводилось на трех базах с использованием трех серии реагентов EBV IgG, трех серии калибраторов EBV IgG и трех серии EBV IgG контролей (для каждой базы – своя серия). Каждый из девяти образцов панели был протестирован четырежды ежедневно в течение трех дней на каждой из трех клинических баз, с использованием одной серии реагентов EBV IgG, калибраторов EBV IgG и EBV IgG контролей (4 раза x 3 дня x 3 базы = 36 повторов для каждого образца панели). Результаты были проанализированы как в рамках одного эксперимента, так и для независимых экспериментов. Расчет проводился на основании руководства Института Клинических и Лабораторных стандартов EP5-A2, исправленное в ноябре 2004, и ISO/TR 22971:2005. Посчитаны стандартное отклонение и коэффициент вариации в процентах.

Результат теста EBV NA-1 IgG	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Между базами*		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%
Сильно положительный 1	36	4,2	0,1	3,2	0	0	0,1	2,9	0,3	7,4	0,4	8,5
Сильно положительный 2	36	4,3	0,1	3,4	0,1	2,5	0,1	2,8	0,3	7,5	0,4	9
Слабоположительный 1	36	1,5	0,1	4,8	0	0	0,1	5,7	0,2	11,6	0,2	13,8
Слабоположительный 2	36	2,1	0,1	3,2	0	1,1	0,1	3,7	0,2	9,4	0,2	10,7
Положительный контроль	36	2,9	0,1	1,9	0	1,1	0,1	2,4	0,5	17,2	0,5	17,5

Результат теста EBV VCA IgG	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Между базами*		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%

Сильно положительный 1	36	3,3	0,1	3,5	0	0	0,1	3,3	0,4	12,7	0,4	13,5
Сильно положительный 2	36	3,2	0,1	3,4	0	0	0,1	3,7	0,2	7,3	0,3	8,9
Слабоположительный 1	36	1,5	0,1	5	0	0	0,1	5,5	0,2	16,2	0,3	17,8
Слабоположительный 2	36	1,3	0,1	5,8	0	0	0,1	5	0,1	7,6	0,1	10,8
Положительный контроль	36	2,3	0,1	2,8	0	0	0,1	2,7	0,1	5,6	0,2	6,9

Результат теста EBV EA-D IgG	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Между базами*		Общие	
			СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%
Сильно положительный 1	36	4,1	0,2	4,4	0	0,8	0	0	0,4	8,7	0,4	9,8
Сильно положительный 2	36	4	0,1	3,7	0	0,7	0,1	3,5	0,2	6,2	0,3	8,1
Слабоположительный 1	36	2,3	0,2	8,8	0	2,8	0	0	0,1	5,7	0,2	10,9
Слабоположительный 2	36	2,2	0,1	4,6	0	0	0,1	3,5	0,1	4,2	0,2	7,2
Положительный контроль	36	3	0,1	3,1	0	0	0,1	2,5	0,6	18,8	0,6	19,2

Изучение прецизионности.

Панель прецизионности состоит из шести образцов, приготовленных лабораторией Bio-Rad. Два образца из шести содержат высокие уровни антител, содержащихся в наборе BioPlex 2200 EBV IgG (EBV NA-1 IgG, EBV VCA IgG, EBV ED-A IgG), и два образца из шести содержат антитела в количестве около cut-off. Образцы приготовлены из положительных сывороток пациентов. Два из шести образцов – отрицательны (высоко отрицательный и низко отрицательный) ко всем анализам.

Тест прецизионности проводился лабораторией Bio-Rad с использованием одной серии реагентов EBV IgG, одной серии калибраторов EBV IgG и одной серии EBV IgG. Каждый образец панели был протестирован в дубли в двух постановках в течение 10 дней с использованием одной серии реагентов EBV IgG, одной серии калибраторов EBV IgG и одной серии EBV IgG (2 анализа x 2 постановки 10 дней = 40 постановок). Результаты были проанализированы как в рамках одного эксперимента, так и для независимых экспериментов. Расчет проводился на основании руководства Института Клинических и Лабораторных стандартов EP5-A2, исправленное в ноябре 2004, и ISO/TR 22971:2005. Посчитаны стандартное отклонение и коэффициент вариации в процентах.

Результат теста EBV NA-1 IgG	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Между базами*		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%
Сильно положительный 1	36	4,2	0,1	3,2	0	0	0,1	2,9	0,3	7,4	0,4	8,5
Сильно положительный 2	36	4,3	0,1	3,4	0,1	2,5	0,1	2,8	0,3	7,5	0,4	9
Слабоположительный 1	36	1,5	0,1	4,8	0	0	0,1	5,7	0,2	11,6	0,2	13,8
Слабоположительный 2	36	2,1	0,1	3,2	0	1,1	0,1	3,7	0,2	9,4	0,2	10,7
Положительный контроль	36	2,9	0,1	1,9	0	1,1	0,1	2,4	0,5	17,2	0,5	17,5

Результат теста EBV VCA IgG	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Между базами*		Общие	
			CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%	CO	KB%
Сильно положительный 1	36	3,3	0,1	3,5	0	0	0,1	3,3	0,4	12,7	0,4	13,5
Сильно положительный 2	36	3,2	0,1	3,4	0	0	0,1	3,7	0,2	7,3	0,3	8,9

Слабоположительный 1	36	1,5	0,1	5	0	0	0,1	5,5	0,2	16,2	0,3	17,8
Слабоположительный 2	36	1,3	0,1	5,8	0	0	0,1	5	0,1	7,6	0,1	10,8
Положительный контроль	36	2,3	0,1	2,8	0	0	0,1	2,7	0,1	5,6	0,2	6,9

Результат теста EBV EA-D IgG	Количество образцов	Значение ИА	В пределах одного теста		Между днями		Между тестами		Между базами*		Общие	
			СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%	СО	КВ%
Сильно положительный 1	36	4,1	0,2	4,4	0	0,8	0	0	0,4	8,7	0,4	9,8
Сильно положительный 2	36	4	0,1	3,7	0	0,7	0,1	3,5	0,2	6,2	0,3	8,1
Слабоположительный 1	36	2,3	0,2	8,8	0	2,8	0	0	0,1	5,7	0,2	10,9
Слабоположительный 2	36	2,2	0,1	4,6	0	0	0,1	3,5	0,1	4,2	0,2	7,2
Положительный контроль	36	3	0,1	3,1	0	0	0,1	2,5	0,6	18,8	0,6	19,2

Перекрестная реактивность.

Изучение перекрестной реактивности проводилось с целью определения возможного влияния образцов сывороток с различными заболеваниями и другими потенциально интерферирующими агентами на результаты тестов BioPlex 2200 EBV IgG. Панель с десятью положительными образцами по каждому потенциально перекрестно-реагирующему агенту была протестирована набором BioPlex 2200 EBV IgG по всем трем анализам. Из-за широкой распространенности EBV IgG в популяции, образцы были также протестированы с помощью серийно выпускаемого микропланшета ИФА. Большинство образцов были высоко положительными по каждому исследуемому заболеванию. Большинство заявленных положительных результатов были подтверждены тестированием на серийно выпускаемом микропланшете ИФА, что вероятнее показывает реактивность EBV IgG нежели перекрестную реактивность с интерферирующими факторами.

Потенциально	Количество	Метод	BioPlex 2200 EBV
--------------	------------	-------	------------------

перекрестно-реагирующие агенты			IgG		
			EBV NA-1 IgG	EBV VCA IgG	EBV EA-D IgG
Антинуклеарные антитела	10	BioPlex 2200	9	10	7
		ИФА	9	10	7
		Несоответствия	0	0	0
Ревматоидный фактор	10	BioPlex 2200	10	10	1
		ИФА	10	10	1
		Несоответствия	0	0	0
Токсоплазмоз IgG	10	BioPlex 2200	9	9	2
		ИФА	9	9	2
		Несоответствия	0	0	0
Краснуха IgG	10	BioPlex 2200	10	10	2
		ИФА	10	10	1
		Несоответствия	0	0	1
ЦМВ IgG	10	BioPlex 2200	10	10	2
		ИФА	10	10	2
		Несоответствия	0	0	1
Ветряная оспа IgG	10	BioPlex 2200	8	8	1
		ИФА	9	8	1
		Несоответствия	1	0	0
Герпес-вирус типа 1 IgG	10	BioPlex 2200	10	10	2
		ИФА	10	10	3
		Несоответствия	0	0	1
Герпес-вирус типа 2 IgG	10	BioPlex 2200	10	10	3
		ИФА	10	10	4
		Несоответствия	0	0	1
ВИЧ	10	BioPlex 2200	10	9	1
		ИФА	10	10	2
		Несоответствия	0	0	1
E.coli	10	BioPlex 2200	4	4	0