



DiaSorin Italia S.p.A.
Via Crescentino snc – 13040 Saluggia (VC) – Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871



Зміни: Оновлення назви юридичного виробника;
Видалення: -

Аналіз ЛІЕЙСОН ядерний антиген ВЕБ IgG (REF 310520) LIAISON® EBNA IgG

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Аналіз ЛІЕЙСОН ядерний антиген ВЕБ IgG використовує технологію хемілюмінесцентного імуноаналізу (CLIA) для кількісного визначення специфічних антитіл класу IgG до ядерного антигену вірусу Епштейна-Барр (EBNA) у зразках сироватки або плазми крові людини.

Тест необхідно виконувати на аналізаторах сімейства LIAISON® Analyzer (LIAISON®, LIAISON® XL та LIAISON® XS).

2. РЕЗЮМЕ ТА ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ

Вірус Епштейна-Барр (ВЕБ) є етіологічним агентом інфекційного мононуклеозу (ІМ) і причетний до лімфоми Беркітта (ЛБ), назофарингеальної карциноми і Х-зчепленого лімфопроліферативного синдрому. ВЕБ є одним з герпесвірусів, патогенних для людини. Оскільки вірус поширений всюди, майже 95% людей у всьому світі інфіковані ним до досягнення дорослого віку. ДНК ВЕБ складається з дволанцюгової молекули довжиною приблизно 172 кб.

Основним шляхом передачі ВЕБ є оральний контакт. Реплікація ВЕБ відбувається в епітелії ротоглотки і призводить до вивільнення віріонів з інфікованих В-лімфоцитів з подальшим потраплянням інфекційних частинок у слину. У дитячому віці первинне інфікування ВЕБ часто протікає безсимптомно. Набуття вірусу в підлітковому та дорослому віці у більшості людей призводить до розвитку інфекційного мононуклеозу. Після первинного інфікування ВЕБ залишається в латентному стані на все життя.

Діагноз інфекційного мононуклеозу ґрунтується на клінічних проявах (які зазвичай включають біль у горлі, лихоманку, лімфаденопатію та нездужання) у поєднанні з гематологічними ознаками лімфоцитозу та серологічними ознаками наявності гетерофільних антитіл та/або антитіл до специфічних білків ВЕБ.

Клінічні прояви, подібні до інфекційного мононуклеозу, також можуть бути викликані низкою інших патогенних інфекційних агентів, включаючи цитомегаловірус, *Toxoplasma gondii*, віруси гепатитів, вірус імунодефіциту людини (ВІЛ) та інші. До встановлення конкретного етіологічного агента часто застосовується термін «синдром мононуклеозу». Підтвердженням діагнозу гострого інфекційного мононуклеозу ВЕБ зазвичай є позитивний тест на гетерофільні антитіла (аглоутинація сироватки пацієнта з еритроцитами коня або вівці). Однак при негативному гетерофільному тесті або при нетипових клінічних проявах виникають труднощі в діагностиці.

Гетерофільно-негативний інфекційний мононуклеоз спостерігається у 10-20% дорослих, і ще більший відсоток виявляється у дітей з гострими інфекціями інфекційного мононуклеозу. У цих осіб діагноз інфекційного мононуклеозу може бути підтверджений шляхом виявлення антитіл до специфічних білкових антигенів ВЕБ, які включають вірусний капсидний антиген (VCA) та ранній антиген [EA(D)]. Наявність антитіл класу IgM до VCA є важливою для діагностики гострого інфекційного мононуклеозу. Однак, для підтвердження діагнозу слід провести аналіз на інші підтверджуючі антитіла, такі як EA(D) IgG, або переважання антитіл до EBNA-1 IgG або EBNA-1 IgM, а також за допомогою додаткової клінічної інформації. Серологічні гетерофільно-негативні зразки, що демонструють EBV VCA IgM і транзиторні рівні антитіл EA(D) IgG, вважаються діагностичними індикаторами гострого інфекційного мононуклеозу.

Серологічне тестування на інфекцію ВЕБ можливе, оскільки виникають характерні залежні від часу реакції антитіл. Поточна первинна інфекція ВЕБ серологічно визначається за ранньою появою циркулюючих VCA IgM та їх подальшим зниженням до невизначуваних рівнів. Майже одночасно з цим з'являється підвищення рівня VCA IgG. У більшості (> 80%) пацієнтів з симптоматичним інфекційним мононуклеозом при першому обстеженні виявляються близькі до пікових рівні антитіл VCA IgG та IgM. Антитіла VCA IgM зазвичай зникають через два-три місяці від початку захворювання, тоді як антитіла IgG у здорових людей зберігаються протягом невизначеного часу. У більшості пацієнтів антитіла до EA(D) з'являються на короткий проміжок часу, а антитіла IgG до ядерного антигену Епштейна-Барр (EBNA-1) з'являються в крові через кілька тижнів або місяців після початку захворювання і зберігаються протягом багатьох років або навіть усього життя. У пацієнтів із симптоматичним інфекційним мононуклеозом виявлення антитіл класу IgG до EBNA-1 у поєднанні з антитілами VCA IgM та IgG допомагає відрізнити ранню стадію одужання від гострої стадії інфекційного мононуклеозу. Підвищення рівня EBNA-1 IgG у пацієнтів з інфекційним мононуклеозом може свідчити про перехід від ранньої до пізньої стадії одужання. Підвищення рівня VCA IgG вказує на гостру стадію інфекції, тоді як підвищення рівня VCA IgM може свідчити про перехід від ранньої до гострої стадії інфекції. Аналогічно, зниження рівня VCA IgM може свідчити про перехід від гострої до затухаючої стадії інфекції. Наявність антитіл EBNA IgG у здорових осіб вказує на минулий імунологічний контакт з ВЕБ; наявність антитіл VCA IgG вказує на імунологічний контакт з ВЕБ або у вигляді прихованої первинної інфекції, або у вигляді перенесеної інфекції.

Зважаючи на складний взаємозв'язок, який існує між реакцією організму на ВЕБ та клінічними проявами, відстеження патернів антитіл до ВЕБ може допомогти в діагностиці ВЕБ-інфекції. Індивідуальні рівні специфічних антитіл не обов'язково вказують на стан захворювання, але можуть мати діагностичне значення, якщо їх відстежувати як профіль відповіді антитіл. Профілі відповіді антитіл на різні антигени ВЕБ демонструють характерну картину для безсимптомної первинної або персистуючої латентної інфекції ВЕБ, а також для кожного з асоційованих з ВЕБ захворювань.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Метод кількісного визначення специфічних IgG до ядерного антигену вірусу Епштейна-Барр (синтетичний пептид EBNA-1) – це

непрямий хемілюмінесцентний імуноаналіз (CLIA). Синтетичний пептид EBNA-1 використовується для покриття магнітних частинок (тверда фаза), а моноклональне антитіло миші зв'язане з похідним ізолюмінолу (кон'югат ізолюмінол-антитіло). Під час першої інкубації антитіла до EBNA, присутні в калібраторах, зразках або контролях, зв'язуються з твердою фазою. Під час другої інкубації кон'югат антитіла реагує з IgG до EBNA, вже зв'язаними з твердою фазою. Після кожної інкубації незв'язаний матеріал видаляється під час циклу промивання.

Після цього додаються стартові реагенти, і таким чином запускається реакція спалаху хемілюмінесценції. Світловий сигнал, а отже, кількість кон'югату ізолюмінол-антитіла, вимірюється фотопомножувачем у відносних світлових одиницях (RLU) і вказує на концентрацію EBNA IgG, присутню в калібраторах, зразках або контролях.

4. СКЛАД НАБОРУ

Інтеграл реагентів

Магнітні частинки (2,3 мл)	SORB	Магнітні частинки, покриті синтетичним пептидом EBNA-1, BSA, фосфатний буфер, < 0,1% азиду натрію.
Калібратор 1 (3,2 мл)	CAL1	Сироватка/плазма крові людини з низьким рівнем EBNA IgG, BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin® 300, інертний жовтий барвник. Концентрації калібратора (Од/мл) відносяться до препарату антитіл власного виробництва.
Калібратор 2 (3,2 мл)	CAL2	Сироватка/плазма крові людини з високим рівнем EBNA IgG, BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin® 300, інертний синій барвник. Концентрації калібратора (Од/мл) відносяться до препарату антитіл власного виробництва.
Розчинник для зразків (2 x 28 мл)	DILSPE	BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin® 300, інертний жовтий барвник.
Кон'югат (23 мл)	CONJ	Мишачі моноклональні антитіла до IgG людини, кон'юговані з похідним ізолюмінолу, BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin® 300, консерванти.
Кількість тестів		100

Всі реагенти постачаються готовими до використання. Порядок реагентів відображає розташування контейнерів в інтегралі реагентів.

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором (пов'язані з системою)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016). LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015) або LIAISON® Disposable Tips (REF X0055). LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200) або LIAISON® EASY Starter Kit (REF 319300). – LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025). –	LIAISON® Module (REF 319130). – LIAISON® Starter Kit (REF 319102) або LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200) або LIAISON® EASY Starter Kit (REF 319300). LIAISON® Light Check 12 (REF 319150). LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). LIAISON® Waste Bags (REF 450003). LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990).

LIAISON® XS Analyzer
LIAISON® Cuvettes on Tray (REF X0053). LIAISON® Disposable Tips (REF X0055). LIAISON® EASY Starter Kit (REF 319300). LIAISON® EASY Wash Buffer (REF 319301). LIAISON® EASY System Liquid (REF 319302). LIAISON® EASY Waste (REF X0054). LIAISON® EASY Cleaning Tool (REF 310996)

Додатково необхідні матеріали (не постачаються з набором)

LIAISON® EBNA IgG controls (негативний та позитивний контролю) (REF 310521).

5. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Для діагностики *in vitro*.

Всі зразки сироватки та плазми крові, що використовуються для виробництва компонентів цього набору, були протестовані на наявність HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1, anti-HIV-2 і визнані нереактивними. Однак, оскільки жоден метод тестування не може дати стовідсоткової гарантії відсутності патогенних мікроорганізмів, всі зразки людського походження слід розглядати як потенційно інфекційні і поводитися з ними з обережністю.

6. ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

- Не їжте, не пийте, не курить і не використовуйте косметику в лабораторії.
- Не піпетуйте розчини ротом.
- Уникайте прямого контакту з усіма потенційно інфекційними матеріалами, надягаючи лабораторний халат, захист для очей/обличчя та одноразові рукавички. Після закінчення кожного аналізу ретельно мийте руки.
- Уникайте розбризкування або утворення аерозолів. Усі краплі біологічного реагенту необхідно видалити розчином гіпохлориту натрію з 0,5% активного хлору, а використані засоби утилізувати як потенційно інфекційні.
- Усі зразки та реагенти, що використовуються для аналізу та містять біологічні матеріали, слід розглядати як потенційно інфекційні агенти. З відходами необхідно поводитися обережно і утилізувати їх відповідно до лабораторних інструкцій та законодавчих положень, що діють у кожній країні. Будь-які матеріали для повторного використання повинні бути належним чином стерилізовані відповідно до місцевих законів та інструкцій. Перевірте ефективність циклу стерилізації/дезінфекції.
- Не використовуйте набори або компоненти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.

Відповідно до Регламенту ЄС 1272/2008 (CLP) небезпечні реагенти класифікуються та маркуються наступним чином:

Реагенти:	CAL1, CAL2, CONJ, DILSPE,
Класифікація	Skin sens. 1 H317
Сигнальне слово:	Увага
Символи / Піктограми:	 GHS07 Знак оклику
Повідомлення про небезпеку:	H317 Може викликати алергічну шкірну реакцію.
Інформація про заходи безпеки:	P261 Уникайте вдихання пилу/диму/газу/випарів/бризок. P280 Носіть захисні рукавички/захисний одяг/захисні окуляри/захист для обличчя. P363 Виперіть забруднений одяг перед повторним використанням.
Містить:	реакційна маса 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он [EC № 247-500-7] та 2-метил-2Н-ізотіазолін-3-он [EC № 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

Відповідно до Регламенту ЄС 1272/2008 (CLP), **SORB** маркується як EUH210. Паспорти безпеки надаються за запитом. Для отримання додаткової інформації див. Паспорти безпеки, доступні на сайті www.diasorin.com.

7. ПІДГОТОВКА ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

Зверніть увагу на наступні важливі запобіжні заходи при поводженні з реагентами:

Ресуспендування магнітних частинок

Магнітні частинки повинні бути повністю ресуспендовані перед тим, як помістити інтеграл в аналізатор. Щоб забезпечити повну ресуспензію, виконайте наведені нижче дії:

Перед тим, як зняти пломбу, обертайте маленьке коліщатко на відсіку для магнітних частинок, поки колір суспензії не зміниться на коричневий. Обережне та ретельне перемішування з боку в бік може сприяти ресуспендуванню магнітних частинок (уникайте утворення піни). Візуально перевірте дно флакона з магнітними частинками, щоб переконатися, що всі осілі магнітні частинки знову опинилися в суспензії. Ретельно протріть поверхню кожної мембрани, щоб видалити залишки рідини. Повторюйте за необхідності, поки магнітні частинки не будуть повністю ресуспендовані.

Спінювання реагентів

Для забезпечення оптимальної роботи інтегралу, слід уникати спінювання реагентів. Щоб запобігти цьому, дотримуйтеся наведених нижче рекомендацій:

Перед використанням інтегралу візуально перевірте реагенти, зокрема калібратори (положення два та три після флакона з магнітними частинками), щоб переконатися у відсутності піни. Якщо після повторного ресуспендування магнітних частинок є піна, помістіть інтеграл в аналізатор і дайте піні розчинитися. Інтеграл готовий до використання, коли піна розчиниться, а інтеграл залишається в аналізаторі та перемішується.

Завантаження інтегралу в зону реагентів

Аналізатор ЛІЕЙСОН

- Помістіть інтеграл у відсік для реагентів аналізатора етикеткою зі штрих-кодом вліво і дайте йому постояти 30 хвилин перед використанням. Аналізатор автоматично перемішає і повністю ресуспендує магнітні частинки.
- Дотримуйтеся вказівок посібника оператора аналізатора, щоб завантажити зразки та розпочати цикл.

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та аналізатор ЛІЕЙСОН XS

- Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та аналізатор ЛІЕЙСОН XS оснащені вбудованим твердотільним магнітним пристроєм, за допомогою якого відбувається перемішування мікрочастинок перед розміщенням інтегралу реагентів у відсік для реагентів аналізатора. Для отримання додаткової інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.

- а. Вставте інтеграл реагентів у спеціальний слот.
- б. Залиште інтеграл реагентів у твердотільному магнітному пристрої принаймні на 30 секунд (до кількох хвилин). За потреби повторіть.
- Помістіть інтеграл у відсік реагентів аналізатора етикеткою вліво та дайте йому постояти 15 хвилин перед використанням. Аналізатор автоматично перемішує та повністю ресуспендує магнітні частинки.
- Дотримуйтеся вказівок посібника оператора аналізатора, щоб завантажити зразки та розпочати цикл.

8. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

Після отримання інтеграл реагентів необхідно зберігати у вертикальному положенні для полегшення ресуспендування магнітних частинок. Якщо реагенти зберігати закритими і у вертикальному положенні, вони залишаються стабільними при температурі 2-8°C до закінчення терміну придатності. Не заморожувати. Реагент не можна використовувати після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетках набору та інтегралу реагентів. Після відкриття реагент стабільний протягом восьми тижнів при зберіганні в холодильнику за температури 2-8°C або на борту приладу.

9. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Можна використовувати зразки сироватки або плазми крові людини. Було проведено тестування антикоагулянтів – цитрат, ЕДТК та гепарин, їх можна використовувати в цьому аналізі. Кров слід збирати асептично шляхом венепункції, дати їй згорнутися, а сироватку відокремити від згустку якнайшвидше. Зразки з твердими частинками, каламутністю, ліпемією або фрагментами еритроцитів можуть додатково потребувати фільтрації або центрифугування перед тестуванням. Зразки з вираженим гемолізом або ліпемією, а також зразки, що містять тверді частинки або мають явні ознаки бактеріальної контамінації, не повинні досліджуватись. Перед тестуванням необхідно перевірити зразок на наявність бульбашок і видалити їх. Якщо аналіз виконується протягом семи днів після забору зразків, зразки можна зберігати при температурі 2-8°C; в іншому випадку їх слід аліквотувати і зберігати замороженими (-20°C або нижче). Якщо зразки зберігаються в замороженому стані, розморожені зразки слід добре перемішати перед тестуванням. Чотири зразки з різною реакційною здатністю зберігалися протягом семи днів при 2-8°C і пройшли шість циклів заморожування-розморожування. Результати не показали суттєвих відмінностей. Мінімальний об'єм, необхідний для одного дослідження, становить 170 мкл (20 мкл зразок + 150 мкл мертвий об'єм).

10. КАЛІБРУВАННЯ

Тестування специфічних калібраторів дозволяє за виміряними значеннями відносних світлових одиниць (RLU) коригувати еталонну криву.

Калібрування в трьох повтореннях є обов'язковим, якщо виникає хоча б одна з наведених нижче умов:

- Використовується нова партія реагенту або стартового набору.
 - Попереднє калібрування було виконано більше, ніж чотири тижні тому.
 - Контрольні значення виходять за межі очікуваних діапазонів.
 - Аналізатори ЛІЕЙСОН і ЛІЕЙСОН XL: Аналізатор пройшов технічне обслуговування.
 - Аналізатор ЛІЕЙСОН XS: після технічного втручання, якщо цього вимагає процедура обслуговування, про що було повідомлено місцевою службою технічної підтримки або представником компанії DiaSorin.
- Аналізатор ЛІЕЙСОН: Значення калібратора зберігаються в штрих-кодах на інтегралі реагентів.
 Аналізатор ЛІЕЙСОН XL: Значення калібратора зберігаються у транспондері радіочастотної ідентифікації (RFID-мітка) інтегралу реагентів.
 Аналізатор ЛІЕЙСОН XS: Значення калібратора зберігаються у транспондері радіочастотної ідентифікації (RFID-мітка) інтегралу реагентів.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Для забезпечення належного проведення аналізу необхідно суворо дотримуватися інструкцій, описаних в посібнику користувача.

Аналізатор ЛІЕЙСОН. Кожен параметр тесту ідентифікується за допомогою штрих-коду на етикетці інтегралу реагентів. Якщо штрих-код етикетки не зчитується аналізатором, інтеграл не може бути використаний. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS: Кожен параметр тесту ідентифікується за допомогою інформації, закодованої в транспондері радіочастотної ідентифікації інтегралу реагентів (RFID-мітка). Якщо RFID-мітка не зчитується аналізатором, інтеграл не може бути використаний. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Під час проведення аналізу виконуються наступні операції:

1. Дозування розчинника та покритих антитілами магнітних частинок.
2. Дозування калібраторів, контролів або зразків в реакційний Одуль.
3. Інкубація.
4. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid.
5. Дозування кон'югату у реакційний Одуль.
6. Інкубація.
7. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid.
8. Дозування стартерних реагентів та вимірювання світла, що випромінюється.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Контролі ЛІЕЙСОН слід використовувати в одному вимірюванні для моніторингу правильності роботи системи. Контроль якості повинен здійснюватися шляхом використання контролів LIAISON® EBNA IgG controls:

- (а) принаймні один раз на день використання,
- (б) щоразу, коли використовується новий інтеграл реагентів,
- (с) після кожного калібрування набору,

(d) щоразу, коли використовується нова партія стартерних реагентів,
(e) для оцінки робочих характеристик відкритого інтегралу відповідно до інструкцій або вимог місцевих нормативних документів або акредитованих організацій.

Контрольні значення повинні знаходитися в межах очікуваних діапазонів: якщо одне або обидва контрольних значення виходять за межі очікуваних діапазонів, необхідно провести повторне калібрування, після чого повторно протестувати контрольні матеріали. Якщо контрольні значення, отримані після успішного калібрування, неодноразово виходять за межі очікуваних діапазонів, тестування слід повторити, використовуючи нерозкритий флакон контролю. Якщо контрольні значення виходять за межі очікуваних діапазонів, результати пацієнта не є дійсними і не повинні бути доведені до пацієнта.

Перед використанням інших контролів слід оцінити їх на сумісність із цим тестом та встановити відповідні діапазони значень.

13. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ У СИРОВАТЦІ АБО ПЛАЗМІ КРОВІ

Аналізатор автоматично розраховує концентрацію антитіл EBNA IgG, виражену в Од/мл, і класифікує результати. Для отримання більш детальної інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.

Калібратори та контролі можуть давати різні значення RLU або дози на аналізаторах ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS, але результати пацієнтів є еквівалентними.

Діапазон вимірювання. Від 3 до 600 Од/мл EBNA IgG.

Зразки, що містять рівні антитіл вище діапазону вимірювання, можна попередньо розвести за допомогою функції аналізатора Dilute і повторно дослідити (рекомендований коефіцієнт розведення - 1:20). Отримані результати будуть автоматично помножені на коефіцієнт розведення для отримання рівнів антитіл в нерозведених зразках. Кількість розчинника зразків, який входить в інтеграл реагентів, дозволяє виконати до 100 попередніх розведень зразка.

Результати зразків слід інтерпретувати наступним чином:

Зразки з концентрацією EBNA IgG нижче 5 Од/мл слід оцінювати як *негативні*.

Зразки з концентрацією EBNA IgG в діапазоні від 5 до 20 Од/мл слід оцінювати як *невизначені*. Виявлення додаткових маркерів ВЕБ може надати корисну інформацію для клінічної інтерпретації результатів.

Зразки з концентрацією EBNA IgG, що дорівнює або перевищує 20 Од/мл, вважаються *позитивними*.

Негативний результат не виключає нещодавньої або перенесеної інфекції ВЕБ, якщо тести на IgM та IgG до ВЕБ також не є негативними. IgG до EBNA з'являються в крові через кілька місяців після початку захворювання і зберігаються протягом усього життя. У пацієнтів з гострою формою інфекції підвищення рівня антитіл IgG до EBNA свідчить про перехід до ранньої фази одужання. Якщо, незважаючи на негативний результат, є підозра на нещодавній контакт з вірусом Епштейна-Барр, не раніше ніж через один-два тижні слід зібрати другий зразок і провести повторне тестування на IgG до EBNA. Позитивний результат свідчить про перенесену інфекцію. Невизначений результат, як правило, вказує на наявність контакту з вірусом Епштейна-Барр у минулому, якщо IgM до ВЕБ відсутній, або на гостру інфекцію, якщо IgM до ВЕБ все ще присутній. Серологічні дані, отримані при виявленні додаткових маркерів ВЕБ, можуть надати корисну інформацію для клінічної інтерпретації результатів.

Результати тесту кількісно відображаються як позитивні або негативні щодо наявності IgG до EBNA. Однак діагноз інфекційного захворювання не слід ставити на основі одного результату тесту, його слід встановлювати, враховуючи клінічні дані та результати інших діагностичних процедур, на основі медичного висновку.

14. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Характеристики аналізу не були встановлені для випадку, коли аналіз ЛІЕЙСОН ВЕБ використовується разом з тестами інших виробників для виявлення специфічних серологічних маркерів ВЕБ. За таких умов користувачі несуть відповідальність за встановлення своїх власних експлуатаційних характеристик.

Для отримання надійних результатів необхідне вміле застосування методики і суворе дотримання інструкцій.

Бактеріальна контамінація або термічна обробка зразків може вплинути на результати дослідження.

Інтеграли не можна обмінювати між аналізаторами різних типів (ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL і ЛІЕЙСОН XS). Після того, як інтеграл був встановлений в аналізатор певного типу, його потрібно використовувати на цьому аналізаторі до тих пір, поки він не буде вичерпаний. Через питання з простежуваністю, що виникають внаслідок вищевказаного, порівняння результатів пацієнта не можна робити, базуючись на результатах, отриманих на аналізаторах різного типу. Аналізи необхідно виконувати на аналізаторах одного конкретного типу (ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL і ЛІЕЙСОН XS).

15. СПЕЦИФІЧНІ ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1. Аналітична специфічність

Аналітична специфічність - це здатність тесту точно визначати специфічний аналіт у присутності потенційно інтерферуючих факторів (наприклад, антикоагулянти, гемоліз, вплив підготовки зразка) або перехресно реагуючих антитіл.

Інтерференція. Контрольовані дослідження потенційно інтерферуючих речовин або умов показали, що на результати аналізу не впливають антикоагулянти (цитрат натрію, ЕДТК, гепарин), гемоліз (до 1000 мг/дл гемоглобіну), ліпемія (до 3000 мг/дл тригліцеридів), білірубінемія (до 20 мг/дл білірубину) або цикли заморожування-розморожування зразків.

Перехресні реакції. Як правило, наявність потенційних перехресно реагуючих антитіл не впливає на проведення аналізу. Антитіла, що досліджувалися: (а) імуноглобуліни до різних інфекційних агентів - таких як hCMV, HSV, hHV 6, VZV, парвовірус B19, HAV, *Toxoplasma gondii*, *Mycoplasma pneumoniae* - (б) антинуклеарні (ANA) антитіла та антитіла до ревматоїдного фактора (анти-Fc імуноглобулін).

15.2. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН

Для оцінки повторюваності та відтворюваності аналізу (тобто варіабельності в межах груп та між групами) було проаналізовано зразки з різними концентраціями досліджуваного аналіту. Варіабельність, показана в таблицях нижче, не призвела до неправильної класифікації зразків.

Повторюваність	E	F	C	D
Кількість вимірювань	18	18	18	18
Середнє (Од/мл)	6,4	56,0	148,0	284,0
Стандартне відхилення	0,2	1,6	16,7	15,5
Коефіцієнт варіації (%)	2,5	2,9	11,3	5,5

Відтворюваність	A	B	C	D
Кількість вимірювань	18	18	18	18
Середнє (Од/мл)	42,0	71,0	176,0	320,0
Стандартне відхилення	1,0	4,0	21,0	11,0
Коефіцієнт варіації (%)	3,4	5,4	11,8	3,5

15.3. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН XL

Для оцінки повторюваності та відтворюваності аналізу (тобто варіабельності в межах груп та між групами) було проаналізовано зразки з різними концентраціями досліджуваного аналіту. Варіабельність, наведена в таблицях нижче, не призвела до неправильної класифікації зразків.

Повторюваність. Для оцінки повторюваності було виконано двадцять вимірювань в одному циклі.

Повторюваність	1	2	3	4	5	6	7	Негатив. контроль	Позитив. контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Середнє (Од/мл)	9,38	24,1	35,4	50,6	95,1	253	366	1,85	73,4
Стандартне відхилення	0,39	1,09	1,84	3,24	6,49	6,88	10,54	0,20	1,49
Коефіцієнт варіації (%)	4,1	4,5	5,2	6,4	6,8	2,7	2,9	10,7	2,0
Мінімальне значення	8,62	21,0	32,2	43,6	78,7	243	348	1,41	70,4
Максимальне значення	10,1	25,8	38,4	56,8	105	269	386	2,15	75,6

Відтворюваність. Для оцінки відтворюваності було виконано двадцять вимірювань у різні дні (одна або дві постановки на день).

Відтворюваність	1	2	3	5	8	6	9	Негатив. контроль	Позитив. контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Середнє (Од/мл)	6,93	18,0	27,9	82,1	126	247	357	1,35	74,5
Стандартне відхилення	0,47	1,00	1,78	3,41	7,84	11,25	18,48	0,15	5,89
Коефіцієнт варіації (%)	6,7	5,6	6,4	4,2	6,2	4,6	5,2	11	7,9
Мінімальне значення	5,93	15,8	23,6	74,9	118	227	314	1,13	52,5
Максимальне значення	7,78	19,3	30,5	87,8	155	264	380	1,67	79,8

15.4. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН XS

П'ятиденне дослідження прецизійності було проведено на трьох аналізаторах ЛІЕЙСОН XS для перевірки прецизійності тесту ЛІЕЙСОН ядерний антиген ВЕБ IgG. При підготовці протоколу тестування використовувався документ CLSI EP15-A3.

Для дослідження використовували кодовану панель, що складалась з 6 заморожених зразків.

Зразки для тестування негативних, пограничних та позитивних рівнів могли бути отримані шляхом об'єднання зразків з однієї класифікаційної групи.

Набір LIAISON® Control EBNA IgG також був включений у п'ятиденне дослідження.

Кодовану панель тестували на трьох аналізаторах ЛІЕЙСОН XS, в шести повтореннях в одній постановці на день, протягом 5 робочих днів.

Середнє значення дози, стандартне відхилення та коефіцієнт варіації (%CV) результатів були розраховані для кожного з протестованих зразків для кожного аналізатора та між аналізаторами.

Повторюваність.

Повторюваність	10	11	12	13	14	15	Негатив. контроль*	Позитив. контроль
Кількість вимірювань	90	90	90	90	90	90	90	90
Середнє (Од/мл)	10,6	19,2	36,2	83,1	113	448	2394	61,3
Стандартне відхилення	0,29	0,48	0,63	1,36	4,29	15,1	169	0,98
Коефіцієнт варіації (%)	2,7	2,5	1,7	1,6	3,8	3,4	7,1	1,6
Мінімальне значення	9,0	17,0	33,5	78,0	101	352	1830	56,6
Максимальне значення	11,3	20,5	38,3	88,8	120	480	3096	65,6

*Негативний контроль виражений в RLU, оскільки знаходиться поза межами діапазону вимірювання.

Відтворюваність.

Відтворюваність	10	11	12	13	14	15	Негатив. контроль*	Позитив. контроль
Кількість вимірювань	90	90	90	90	90	90	90	90
Середнє (Од/мл)	10,6	19,2	36,2	83,1	113	448	2394	61,3
Стандартне відхилення	0,42	0,63	0,86	2,18	4,69	18,0	207	2,02
Коефіцієнт варіації (%)	4,0	3,3	2,4	2,6	4,2	4,0	8,7	3,3
Мінімальне значення	9,0	17,0	33,5	78,0	101	352	1830	56,6
Максимальне значення	11,3	20,5	38,3	88,8	120	480	3096	65,6

*Негативний контроль виражений в RLU, оскільки знаходиться поза межами діапазону вимірювання.

15.5. Істинність вимірювання

Істинність результатів тесту перевірена за допомогою тесту на розведення.

Тест на розведення. Чотири зразки сироватки з високою концентрацією EBNA IgG були протестовані як без розведення, так і після серійних розведень Розчинником для зразків. Виміряні концентрації EBNA IgG у порівнянні з очікуваними концентраціями були проаналізовані методом лінійної регресії. Коефіцієнти кореляції (r) варіюють від 0,998 до 0,999.

Розведення	Очікувана концентрація, Од/мл	Виміряна концентрація, Од/мл	% Відновлення	Розведення	Очікувана концентрація, Од/мл	Виміряна концентрація, Од/мл	% Відновлення
Без розв.	–	315,0	–	Без розв.	–	361,0	–
1:2	157,5	177,0	112,4	1:2	180,5	181,0	100,3
1:4	78,8	91,0	115,5	1:4	90,3	85,0	94,1
1:8	39,4	46,0	116,7	1:8	45,1	39,0	86,5
1:16	19,7	23,0	116,7	1:16	22,6	20,0	88,5
1:32	9,8	10,0	102,0	1:32	11,3	9,0	79,6
				1:64	5,6	4,0	71,4
Без розв.	–	412,0	–	Без розв.	–	558,0	–
1:2	206,0	237,0	115,0	1:2	279,0	347,0	124,4
1:4	103,0	128,0	124,3	1:4	139,5	192,0	137,6
1:8	51,5	63,0	122,3	1:8	69,8	97,0	139,0
1:16	25,8	31,0	120,2	1:16	34,9	49,0	140,4
1:32	12,9	14,0	108,5	1:32	17,4	24,0	137,9
1:64	6,4	7,0	109,4	1:64	8,7	13,0	149,4

15.6. Ефект високодозового насичення

При дослідженні зразків, що містять надзвичайно високі концентрації антитіл, внаслідок ефекту насичення може виникати ситуація, коли виміряні концентрації нижчі за реальні. Однак добре оптимізований двоетапний метод виключає отримання сильно занижених результатів, оскільки аналітичні сигнали залишаються стабільно високими (крива насичення).

Аналіз впливу високих концентрацій антитіл оцінювався на основі тестування тьох зразків з високими титрами EBNA IgG.

Всі зразки показали значення концентрації, що перевищують діапазон вимірювання, що є очікуваним при високих концентраціях антитіл. Це свідчить про відсутність помилкової класифікації зразків.

15.7. Діагностична специфічність та чутливість

Діагностичну специфічність та чутливість оцінювали шляхом тестування 2149 зразків з різних популяцій (суб'єкти, які ніколи не були інфіковані ВЕБ, клінічно здорові суб'єкти, суб'єкти, уражені аутоімунними захворюваннями, пацієнти, уражені іншими інфекційними захворюваннями з подібною симптоматикою, пацієнти, уражені первинною інфекцією ВЕБ, суб'єкти з інфекцією ВЕБ у минулому, пацієнти з підозрою на хронічну інфекцію ВЕБ, пацієнти з реактивованою інфекцією ВЕБ). Зразки були протестовані за допомогою декількох методів порівняння та оцінки узгодженості між ними; також наявні клінічні та серологічні дані були проаналізовані для визначення очікуваних результатів. 85 зразків не були класифіковані ні досліджуваним методом, ні референтними методами, і тому не були включені в аналіз даних.

10 позитивних і 409 негативних результатів було отримано в очікувано негативній досліджуваній популяції - діагностична специфічність: 97,61% (95% довірчий інтервал: 95,65-98,85%).

19 негативних і 1626 позитивних результатів було отримано в очікувано позитивній досліджуваній популяції - діагностична чутливість: 98,84% (95% довірчий інтервал: 98,20-99,30%).

15.8. Характер реактивності ВЕБ

Паралельне визначення рівнів специфічних антитіл IgG VCA, IgG EBNA та IgM EBV дозволяє краще розрізнити різні фази інфекції ВЕБ. При виконанні декількох тестів ЛІЕЙСОН ВЕБ може використовуватися інша точка відсікання (cut-off) для більш правильної інтерпретації результатів визначення EBNA IgG та EBV IgM. Рекомендується наступна інтерпретація результатів:

Результат EBV IgM	Результат VCA IgG	Результат EBNA IgG	Інтерпретація
< 20 Од/мл	< 20 Од/мл	< 20 Од/мл	ВЕБ негативний
≥ 20 Од/мл	< 20 Од/мл	< 20 Од/мл	Підозра на первинну ВЕБ-інфекцію (рання фаза).
≥ 20 Од/мл	≥ 20 Од/мл	< 20 Од/мл	Первинна ВЕБ-інфекція (гостра фаза).
≥ 40 Од/мл	≥ 20 Од/мл	≥ 20 Од/мл	Первинна ВЕБ-інфекція (перехідна фаза).
< 40 Од/мл	≥ 20 Од/мл	≥ 20 Од/мл	Перенесена інфекція або реактивація ВЕБ.
< 20 Од/мл	≥ 20 Од/мл	≥ 5 Од/мл	Перенесена інфекція або реактивація ВЕБ.
< 20 Од/мл	≥ 20 Од/мл	< 5 Од/мл	Не визначено (тільки позитивний результат VCA IgG).
Інші результати			Невідомий.

2343 зразки з різних популяцій були протестовані під час досліджень з оцінки характеристик: особи, які ніколи не були інфіковані ВЕБ, умовно здорові дорослі особи, особи, які страждають на аутоімунні захворювання, пацієнти, які страждають на інші інфекційні захворювання, пацієнти з первинною ВЕБ-інфекцією, особи з перенесеною ВЕБ-інфекцією, пацієнти з підозрою на хронічну ВЕБ-інфекцію, пацієнти з реактивованою ВЕБ-інфекцією.

Результати трьох тестів ЛІЕЙСОН ВЕБ були об'єднані для визначення фази ВЕБ-інфекції з серологічної точки зору та для оцінки здатності декількох тестів ЛІЕЙСОН ВЕБ правильно класифікувати зразки.

Серологічний діагноз, встановлений за допомогою декількох тестів ЛІЕЙСОН ВЕБ, порівнювали з результатами, отриманими за допомогою порівнювальних тестів, для найбільш репрезентативних категорій обстежуваних, таких як ВЕБ-негативні пацієнти, пацієнти з первинною ВЕБ-інфекцією та пацієнти з перенесеною ВЕБ-інфекцією.

З 210 очікувано негативних зразків 181 зразок показав негативний профіль ЛІЕЙСОН ВЕБ. Узгодженість з профілем порівняння становила 86,20% (95% довірчий інтервал: 80,77%-90,56%).

З 282 зразків з очікуваною первинною ВЕБ-інфекцією у 255 зразках за допомогою тестів ЛІЕЙСОН ВЕБ було визначено профіль первинної інфекції ВЕБ. Узгодженість з профілем порівняння становила 90,43% (95% довірчий інтервал: 86,37%-93,59%).

З 1616 зразків з очікуваною перенесеною в минулому інфекцією ВЕБ у 1479 зразках за допомогою тестів ЛІЕЙСОН ВЕБ було визначено профіль, характерний для перенесеної в минулому інфекції ВЕБ. Узгодженість з профілем порівняння становила 91,52% (95% довірчий інтервал: 90,05%-92,84%).

Інтерпретація результатів, отриманих за допомогою декількох тестів ЛІЕЙСОН ВЕБ, може бути здійснена за допомогою програмного забезпечення Dia-Link.

Профіль ЛІЕЙСОН ВЕБ	EBV IgM	VCA IgG	EBNA IgG	Кількість зразків	Відсоток
ВЕБ-негативний	негативний	негативний	негативний	202	8,6%
Первинна ВЕБ-інфекція					
- рання фаза	позитивний	негативний	негативний	113	4,8%
- гостра фаза	позитивний	позитивний	негативний	221	9,4%
- перехідна фаза	позитивний	позитивний	позитивний	132	5,6%
Перенесена ВЕБ-інфекція	негативний	позитивний	позитивний	1594	68,1%
Невизначений профіль ВЕБ-інфекції	негативний	позитивний	негативний	32	1,4%
Невідомий профіль ВЕБ-інфекції	негативний	негативний	позитивний	49	2,1%
ВСЬОГО				2343	100%

ЛІТЕРАТУРНІ ПОСИЛАННЯ

1. M.M. BERGMAN, R.A. GLECKMAN
Heterophil-negative infectious mononucleosis-like syndrome.
Postgrad. Med., **81** (1) : 313-326 (1987).
2. D. BUCHWALD, A.L. KOMAROFF
Review of laboratory findings for patients with chronic fatigue syndrome.
Rev. Inf. Dis., **13** (Suppl. 1) : S12-S18 (1991).
3. F. DE ORY, J. ANTONAYA, M.V. FERNANDEZ, J.M. ECHEVARRIA
Application of low-avidity immunoglobulin G studies to diagnosis of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis.
J. Clin. Microbiol., **31** (6) : 1669-1671 (1993).
4. G. DE-THE
Epidemiology of Epstein-Barr virus and associated diseases in man.
In: The Herpesviruses, B. Roizman ed., Vol. 1, Plenum Press, New York, p. 25-103 (1982).
5. G. DÖLKEN, U. WEITZMANN, C. BOLDT et al.
Enzyme-linked immunosorbent assay for IgG antibodies to Epstein-Barr virus-associated early antigens and viral capsid antigen.
J. Immunol. Meth., **67** : 225-233 (1984).
6. I. FÄRBER, P. WUTZLER, P. WOHLRABE et al.
Serological diagnosis of infectious mononucleosis using three anti-Epstein-Barr virus recombinant ELISAs.
J. Virol. Meth., **42** : 301-308 (1993).
7. M. GORGIEVSKI-HRISOHO, W. HINDERER, H. NEBEL-SCHICKEL et al.
Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology.
J. Clin. Microbiol., **28** (10) : 2305-2311 (1990).
8. J. HALPRIN, A.L. SCOTT, L. JACOBSON et al.
Enzyme-linked immunosorbent assay of antibodies to Epstein-Barr virus nuclear and early antigens in patients with infectious mononucleosis and nasopharyngeal carcinoma.
Ann. Int. Med., **104** : 331-337 (1986).
9. C.W. HEATH Jr., A.L. BRODSKY, A.I. POTOLSKY
Infectious mononucleosis in a general population.
Am. J. Epidemiol., **95** (1) : 46-52 (1972).
10. W. HENLE, G.E. HENLE, C.A. HORWITZ
Epstein-Barr virus specific diagnostic tests in infectious mononucleosis.
Human Pathol., **5** (5) : 551-565 (1974).
11. M.E. LAMY, A.M. FAVART, C. CORNU et al.
Study of Epstein-Barr virus (EBV) antibodies: IgG and IgM anti-VCA, IgG anti-EA and Ig anti-EBNA obtained with an original microtiter technique.
Serological criterions of primary and recurrent EBV infections and follow-up of infectious mononucleosis. Seroepidemiology of EBV in Belgium based on 5178 sera from patients.
Acta Clin. Belg., **37** (5) : 281-298 (1982).
12. E.T. LENNETTE
Epstein-Barr Virus.
Manual of Clinical Microbiology, 4th ed., Washington D.C., Am. Soc. Microbiol., p. 728-732 (1985).
13. J. LUKA, R.C. CHASE, G.R. PEARSON
A sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) against the major EBV-associated antigens. I - Correlation between ELISA and immunofluorescence titers using purified antigens.
J. Immunol. Meth., **67** : 145-156 (1984).
14. G.R. PEARSON
Infectious mononucleosis: the humoral response.
In: Infectious Mononucleosis, D. Schlossberg ed., Springer-Verlag, New York, p. 89-99 (1989).
15. C. POCHEDLY
Laboratory testing for infectious mononucleosis: cautions to observe in interpreting results.
Postgrad. Med., **81** (1) : 335-342 (1987).
16. D.T. PURTILO, S. HINRICHS
Detection of Epstein-Barr virus induced diseases by laboratory techniques.
Incstar Monograph (1993).
17. M.A. RAHMAN, L.A. KINGSLEY, R.W. ATCHISON et al.
Reactivation of Epstein-Barr virus during early infection with human immunodeficiency virus.
J. Clin. Microbiol., **29** (6) : 1215-1220 (1991).
18. B.M. REEDMAN, G. KLEIN
Cellular localization of an Epstein-Barr virus-associated complement-fixing antigen in producer and non-producer

lymphoblastoid cell lines.
Int. J. Cancer, **2** : 499-520 (1973).

19. L. STERNÄS, J. LUKA, B. KALLIN et al.
Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of Epstein-Barr virus-induced antigens and antibodies.
J. Immunol. Meth., **63** : 171-185 (1983).
20. C.V. SUMAYA
Lab. Manag., **24** : 37-45 (1986).
21. W.M.J. VAN GRUNSVEN, A. NABBE, J.M. MIDDELDORP
Identification and molecular characterization of two diagnostically relevant marker proteins of the Epstein-Barr virus capsid antigen complex. J. Med. Virol., **40** : 161-169 (1993).
22. W.M.J. VAN GRUNSVEN, E.C. VAN HEERDE, H.J.W. DE HAARD et al.
Gene mapping and expression of two immunodominant Epstein-Barr virus capsid proteins.
J. Virol., **67** (7) : 3908-3916 (1993).
23. D. TAMIR, A. BENDERLY, J. LEVY et al.
Infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus in childhood.
Pediatrics, **53** (3) : 330-335 (1974).

Додаткові літературні посилання

E.T. LENNETTE
Epstein-Barr virus.
In: Manual of Clinical Microbiology, P.R. Murray et al. eds., ASM Press, Seventh edition, p. 912-918 (1999).

R.T. SCHOOLEY
Epstein-Barr virus (infectious mononucleosis).
In: Principles and Practice of Infectious Diseases, G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin, eds., Churchill Livingstone Publ., Fifth edition, p. 1599-1613 (1995).

W. HUBL
Evaluation of the LIAISON® thyroid chemiluminescence immunoassays. Clin. Lab., **46** : 181-189 (2000).

R. MOLINA et al.
External evaluation of LIAISON® tumour marker assays on the fully automated chemiluminescent LIAISON® immunoassay analyser. Clin. Lab., **46** : 169-179 (2000).

200/007-839, 09 - 2022-07

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: 10.2024



ДіаСорін Італія С.п.А.
Via Кресцентіно, снс, 13040 Салуджа (ВК), Італія
DiaSorin Italia S.p.A.
Via Crescentino, snc, 13040 Saluggia (VC), Italy



Уповноважений представник в Україні:
ТОВ «ЛАБСЕППОРТ»
01133, місто Київ, б. Лесі Українки, будинок 34, Україна
Тел: +380673234344, E-mail: info@labsupport.com.ua