

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕГО АНТИТЕЛА (IgG/IgA/IgM) К ЛЕГИОНЕЛЛЕЗНОЙ ПНЕВМОНИИ

1651-2, Legionella IgG/IgA/IgM

Каталог. № : 1651-2
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 02-11-2013



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	Legionella IgG/IgA/IgM ИФА
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Непрямой ИФА: планшет, покрытый антителами
Диапазон обнаружения	Качественный: Положительный, Отрицательный Контроль и Cut-off
Образец	10 мкл
Специфичность	93.1 %
Чувствительность	92.3 %
Общее время	~ 70 минут
Срок хранения	12-18 месяцев

**Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание.*

НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Тестовая система DAI Legionella ELISA является иммуноферментным тестом для качественного определения общего антитела (IgG/IgM/IgA) к *Легионеллезной пневмонии* серогрупп 1-6 в сыворотке крови человека. Это устройство предназначено для диагностики в лабораторных условиях.

ПРИНЦИП ИФА

Настоящая система анализа разработана для определения антител к *Legionella pneumophila* в образцах человеческой сыворотки. Лунки в пластмассовых микролуночных полосках сенсibilизируются пассивной абсорбцией с антигеном *Legionella pneumophila*. Процедура анализа включает три инкубационных этапа:

1. Анализируемые сыворотки (соответственно разбавленные) инкубируются в лунках, покрытых антигеном. Любое антиген специфическое антитело в образце связывается с иммобилизованным антигеном. Для удаления несвязанного антитела и других компонентов сыворотки промывается планшет.
2. В лунки добавляется пероксидаза, конъюгированная козлиным анти-человеческим IgG/IgA/IgM, и планшет инкубируется. Конъюгат вступает в реакцию с IgM и/или IgG антителом, зафиксированным в твердой фазе на этапе 1. Для удаления не вступившего в реакцию конъюгата промываются лунки.
3. Микролуночки, содержащие зафиксированный конъюгат пероксидазы, инкубируются с раствором субстрата пероксидазы. Гидролиз субстрата пероксидазой производит изменение цвета. После некоторого времени реакция останавливается, и интенсивность цвета раствора измеряется фотометрическим методом. Интенсивность цвета раствора зависит от концентрации антител в анализируемом первичном образце.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Каждый набор содержит в достаточных количествах следующие компоненты для проведения числа анализов, указанного на этикетке упаковки. Примечание: Все активные реагенты содержат азид натрия в качестве консерванта в концентрации 0.1 % (w/v).

1. **Планшет.** 96 лунок, расположенных в двенадцати, 1x8-луночных полосках, покрытых инактивированным антигеном *Legionella pneumophila* групп 1-6. Полоски в рамке упакованы в пакете с осушителем.

2. **Конъюгат.** Пероксидаза хрена, конъюгированная козлиным анти-человеческим IgG/IgA/IgM антителом. Готовый к использованию. Один 15 мл флакон с белой крышкой.
3. **Положительный контроль** (сыворотка обезьяны). Один 0,35 мл флакон с красной крышкой.
4. **Калибратор** (сыворотка обезьяны). Один 0,5 мл флакон с синей крышкой.
5. **Отрицательный контроль** (человеческая сыворотка). Один 0,35 мл флакон с зеленой крышкой.
6. **Разбавитель образца.** Одна 30 мл бутылка (зеленая крышка), содержащая 1M Твин-20, альбумин бычьей сыворотки и фосфатный буферизированный солевой раствор (pH 7.2 +/- 0.2). Готовый к использованию. ПРИМЕЧАНИЕ: перед использованием хорошо смешать.
7. **ТМБ:** Одна 15 мл янтарная бутылка, содержащая 3,3', 5,5' – тетраметилбензидин (ТМБ). Готовый к использованию. Содержит OMSO < 15 % (w).
8. **Стоп раствор:** Одна 15 мл бутылка (красная крышка), содержащая 1M H₂SO₄, 0.7M HCl. Готовый к использованию.
9. **Концентрат промывочного буфера (10X):** разбавьте 1 часть концентрата + 9 частей деионизированной или дистиллированной воды. Одна 100 мл бутылка (прозрачная крышка) содержит 10X концентрированный фосфат-буферизированный солевой раствор и Твин-20 (синий раствор). ПРИМЕЧАНИЕ: 1X раствор имеет pH 7.2 +/- 0.2.

Следующие компоненты не зависят от номера партии набора и могут взаимозаменяться в ИФА: ТМБ, стоп раствор и промывочный буфер.

Примечание: Набор также содержит:

1. Перечень компонентов с детальной информацией о их партии внутри упаковки набора.
2. Вкладыш с инструкциями по использованию.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

1. Для диагностического использования *in vitro*.
2. При обращении с лабораторными реагентами необходимо соблюдать стандартные предосторожности. В случае контакта с глазами, промойте немедленно большим количеством воды и обратитесь за медпомощью. Носите соответствующую защитную одежду, перчатки, и защитное средство для глаз/лица. Не вдыхайте пар. Уничтожайте отходы, соблюдая все местные, и государственные законы.
3. Лунки планшета ИФА не содержат жизнеспособных организмов. Однако, полоски должны рассматриваться как **ПОТЕНЦИАЛЬНО БИООПАСНЫЕ МАТЕРИАЛЫ** и требуют соответствующего обращения.
4. Контроли человеческой сыворотки - **ПОТЕНЦИАЛЬНО БИООПАСНЫЕ МАТЕРИАЛЫ**. Исходные материалы, из которых эти продукты были получены, были подтверждены одобренным методом анализа. Поскольку никакой метод анализа не может полностью гарантировать отсутствие возбудителей инфекций, эти продукты требуют обращения с соблюдением 2 уровня биологической опасности как рекомендуется при любой потенциально инфекционной человеческой сыворотке или образце крови.
5. Разбавитель образца, контроли, промывочный буфер, абсорбент и конъюгат содержат азид натрия в концентрации 0.1 % (w/v). Азид натрия считается таким, который образует азиды свинца и меди во внутренней канализации лаборатории. Что может вызвать взрыв при ударе. Во избежание этого, тщательно промойте раковину водой после утилизации раствора с азидом натрия.
6. Четкое следование определенному времени и температуре инкубаций важно для точных результатов. **Все реагенты перед началом анализа должны быть приведены к комнатной температуре (20-25°C)**. Непосредственно после использования неиспользованные реагенты верните в температуру охлаждения.
7. Неправильное промывание приводит к ошибочно положительным или ошибочно отрицательным результатам. Убедитесь, что в планшетах не осталось любого остатка промывочного раствора перед добавлением конъюгата или раствора субстрата. Не позволяйте лункам высыхать между инкубациями.
8. Стоп раствор **ТОКСИЧЕН**. Причиняет ожоги. Токсичен при вдыхании, при контакте с кожей и при заглатывании. При несчастном случае или при плохом самочувствии немедленно обратитесь за медпомощью.
9. ТМБ раствор **ВРЕДЕН**. Раздражителен для глаз, дыхательной системы и кожи.
10. Концентрат промывочного буфера является **РАЗДРАЖИТЕЛЕМ**.

Раздражителен для глаз, дыхательной системы и кожи.

11. Не оставляйте на дне планшета остатков жидкости и/или следов пальцев, которые могут изменять считываний оптической плотности (ОП).
12. Разбавление или примешивание этих реагентов может дать ошибочные результаты.
13. Реагенты от других источников или изготовителей не должны использоваться.
14. ТМВ раствор должен быть бесцветным, очень светло желтым, очень светло зеленым или очень светло синим во время использования. Загрязнение ТМВ с конъюгатом или другими окислителями преждевременно вызывает изменение цвета. Не используйте ТМВ, если это отчетливо синего цвета.
15. Никогда не пейте ртом. Избегайте контакта реагентов и образцов пациентов с кожей или слизистыми оболочками.
16. Избегайте микробиологического загрязнения реагентов. Могут быть получены неправильные результаты.
17. Перекрестное загрязнение реагентов и/или образцов может вызвать ошибочные результаты.
18. Многоцветная стеклянная посуда должна быть вымыта и полностью ополоскана, чтобы освободиться от всех детергентов.
19. Избегайте разбрызгивания или образования аэрозолей.
20. Не подвергайте реагенты сильному свету в течение хранения или инкубации.
21. Приводя микролуночные полоски и держатель к комнатной температуре перед вскрытием, защитит защитный мешочек лунки от конденсации.
22. Промывочный раствор необходимо собрать в емкость для отходов. Обработайте раствор для отходов 10% хозяйственным отбеливателем (0,5% гипохлоридом натрия). Избегайте воздействия испарений отбеливателя на реагенты.
23. Предостережение: Жидкие отходы в кислоте pH должны быть нейтрализованы перед добавлением к отбеливающему веществу.
24. Не использовать планшет ИФА, если полоска индикатора на мешочке высушивающего средства превратилась из синего цвета в розовый.
25. Не позволяйте конъюгату вступать в контакт с емкостями, которые, возможно, прежде содержали растворы, имеющие в своем составе азид натрия как консервант. Остаточные количества азиды натрия могут уничтожить ферментную деятельность конъюгата.
26. Не подвергайте никакой из реагентов воздействию растворов, содержащих отбеливающее вещество. Остаточное количество отбеливающего вещества (гипохлорида натрия) может уничтожить биологическую активность многих реагентов из этого набора.

ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Микропланшетный считыватель с длиной волны измерения 450 нм;
- Микропипетки для точного дозирования 10 и 200 мкл;
- Многоканальная пипетка для точного дозирования (50-200 мкл).
- Резервуары реагентов для многоканальных пипеток.
- Промывочная бутылка или система промывки планшета.
- Дистиллированная или деионизированная вода.
- Мерный цилиндр на 1 л.
- Серологические пипетки.
- Одноразовые наконечники для пипеток.
- Бумажные полотенца.
- Лабораторный таймер для соблюдения этапов инкубации.
- Контейнер для отходов и дезинфицирующее средство (Например: 10% хозяйственный отбеливатель, 0,5% гипохлорит натрия).

ТРЕБОВАНИЯ К ХРАНЕНИЮ

1. Хранить невскрытый набор при 2-8°C.
2. Предварительно покрытые микролуночные полоски: хранить при 2-8°C. Лишние полоски должны быть немедленно повторно запечатаны с высушивающим средством и возвращены для соответствующего хранения. Полоски устойчивы в течение 60 дней после того, как мешочек был открыт и должным образом вторично закрыт, и индикатор остается синим.
3. Конъюгат. Хранить при 2-8°C. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.
4. Калибратор, положительный и отрицательный контроль: Хранить при 2-8°C.
5. ТМВ: Хранить при 2-8°C.
6. Концентрат промывочного буфера (10X). Хранить при 2-25°C. Разбавленный промывочный буфер (1x) стабилен в течение 7 дней если хранить при комнатной температуре или 30 дней при 2-8°C.
7. Разбавитель образца. Хранить при 2-8°C.
8. Стоп раствор. Хранить при 2-25°C.

СБОР ОБРАЗЦОВ

1. Рекомендуется проводить забор образцов в соответствии с NCCLS документом M29: Защита сотрудников лабораторий от инфекционных болезней.
2. Ни один из известных методов не может обеспечить полную уверенность в том, что образцы человеческой крови не способны передавать инфекцию. Поэтому, все производные крови должны считаться потенциально инфекционными.
3. В этом анализе должны использоваться только недавно собранные и должным образом сохраненные сыворотки крови, полученные одобренными асептическими процедурами венепункции. Никакие антикоагулянты или консерванты не должны добавляться. Избегайте использования гемолизированных, липемических или бактериологически загрязненных сывороток.
4. Храните образец при комнатной температуре не более чем 8 часов. Если анализ не выполняется в пределах 8 часов, сыворотки могут храниться при 2-8°C не более чем 48 часов. Если ожидается задержка в анализе, храните сыворотки для анализа при -20°C или ниже. Избегайте циклов многократного замораживания / размораживания, которые могут вызывать потерю активности антител и давать ошибочные результаты.

ПОЭТАПНАЯ ПРОЦЕДУРА

1. Извлеките отдельные компоненты набора из места хранения и позвольте им нагреться до комнатной температуры (20-25°C).
2. Определите требуемое количество микролунок. Проведите шесть определений контролей/калибраторов (одного бланка, одного отрицательного контроля, трех калибраторов и одного положительного контроля) в одной процедуре. Бланк реагент должен использоваться в каждом анализе. Проверьте требования к программному обеспечению и считывающему устройству для правильных конфигураций контролей/калибраторов. Возвратите неиспользованные полоски в запечатывающийся мешочек с осушителем, герметично закройте и возвратите на хранение при 2-8°C.

ПРИМЕР СХЕМЫ ПЛАНШЕТА		
	1	2
A	Бланк	Пациент 3
B	Отриц. контроль	Пациент 4
C	Калибратор	и т. д.
D	Калибратор	
E	Калибратор	
F	Положительный контроль	
G	Пациент 1	
H	Пациент 2	

3. Проведите разбавление 1:21 (например: 10 мкл сыворотки + 200 мкл разбавителя образца. ПРИМЕЧАНИЕ: перед использованием хорошо встряхните) отрицательного контроля, калибратора. Положительного контроля и каждой сыворотки пациента.
4. В отдельные лунки добавьте 100 мкл каждого разбавленного контроля, калибратора и образца из планшета абсорбента в планшет для анализа. Убедитесь, что образцы должным образом перемешаны. Для каждого образца используйте разные наконечники пипеток.
5. В лунку A1 в качестве бланка реагента внесите 100 мкл разбавителя образца. Проверьте требования к программному обеспечению и считывающему устройству для правильных конфигураций лунки бланка реагента.
6. Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течение 25 +/- 5 минут.
7. Промойте микролуночные полоски 5X.

A. Ручная процедура промывки:

- a. Энергично встряхните жидкость из лунок.
- b. Заполните каждую лунку промывочным буфером. Удостоверитесь в отсутствии в лунках воздушных пузырьков.
- c. Повторите этапы a. и b. чтобы в общем количестве провести 5 промываний.
- d. Встряхните промывочный раствор из всех лунок. Переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучите, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора. Осмотрите планшет, убедившись в отсутствии остатка промывочного раствора. В конце каждого рабочего дня собирайте промывочный раствор в емкость для отходов, и обрабатывайте гипохлоритом натрия 0.5% (отбеливателем).

B. Автоматизированная процедура промывки:

При использовании автоматизированной промывочной установки, отрегулируйте объем распределения на 300-350 мкл/лунку.

Настройте цикл промывки на 5 промывок без задержки между промывками. Извлеките микротитровальный планшет из промывателя, переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучит, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора.

8. Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую лунку, включая лунку бланка, в том же темпе и порядке как добавлялись образцы.
9. Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течении 25 +/- 5 минут.
10. Промойте микролунок, следуя процедуре в этапе 7.
11. Добавьте 100 мкл раствора субстрата ТМВ в каждую лунку, включая лунку бланк реагента, в том же темпе и порядке как добавлялись образцы.
12. Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20-25°C) в течении 10-15 минут.
13. Остановите реакцию добавлением 50 мкл стоп раствора в каждую лунку, включая лунку бланк реагента, в том же темпе и порядке как добавлялся ТМВ. Положительные образцы из синего цвета станут желтыми. После добавления стоп раствора постучите по планшету несколько раз убедившись, что образцы полностью смешаны.
14. Настройте считывающее устройство для считывания при длине волны 450 нм и измерьте оптическую плотность (ОП) каждой лунки против бланка реагента. Планшет необходимо считать в пределах 30 минут после добавления стоп раствора.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Во время каждой процедуры анализа калибратор должен анализироваться в трех экземплярах. Бланк реагент, отрицательный и положительный контроль должны также быть включены в каждом анализе.
2. Вычислите среднее значение трех лунок калибраторов. Если любое из трех значений отличается больше чем на 15% от среднего, отбросьте это значение, и вычислите среднее остальных двух значений.
3. Среднее значение ОП калибратора и значений ОП положительного и отрицательного контролей должно находиться в пределах следующих диапазонов:

Диапазон ОП

Отрицательный контроль	≤ 0.250
Калибратор	≥ 0.300
Положительный контроль	≥ 0.500

- a. ОП отрицательного контроля, разделенная на среднюю ОП низко положительного стандарта должна составлять ≤ 0.9.
- b. ОП положительного контроля, разделенная на среднюю ОП низко положительного стандарта должна составлять ≥ 1.25.
- c. Если значения контролей не находятся в пределах вышеупомянутых диапазонов, анализ следует считать недействительным, и его необходимо повторить.
4. Положительный и отрицательный контроли предназначены для контроля существенного несоответствия реагента и не гарантирует точности в пороговом диапазоне анализа.
5. В соответствии с рекомендациями или требованиями местных, государственных и/или федеральных правил или аккредитованных организаций, могут анализироваться дополнительные контроли.
6. За рекомендациями соответствующей практики контроля качества смотрите документ C24 NCCLS: Статистический контроль качества при количественных измерениях.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

А. Вычисления:

1. Коэффициент коррекции

Значение предела обнаружения ОП для положительных образцов было определено производителем и скорректировано по отношению к калибратору. Коэффициент коррекции (КК) дает возможность определить значение предела обнаружения для положительных образцов и исправить незначительные ежедневные отклонения в результатах анализа. КК определяется для каждой партии компонентов набора в перечне компонентов в упаковке набора.

2. Значение предела обнаружения ОП

Для получения значения предела обнаружения ОП умножьте КК на среднее значение калибратора, определенное выше.
(КК x среднее ОП калибратора = значение предела обнаружения ОП).

3. Значения коэффициента или коэффициенты ОП

Вычислите значение коэффициента или коэффициент ОП для каждого образца путем разделения значения его ОП на предел обнаружения ОП из этапа 2.

Пример:

Среднее ОП калибратора	= 0.793
Коэффициент коррекции (КК)	= 0.25
Предел обнаружения ОП = 0.793 x 0.25	= 0.198
ОП неизвестного образца	= 0.432
Коэффициент значения образца или коэффициент ОП	= 0.432 / 0.198 = 2.18

В. Интерпретации:

Значения коэффициента или коэффициенты ОП интерпретируются следующим образом:

Значение коэффициента или коэффициент ОП

Отрицательные образцы	≤ 0.90
Сомнительные образцы	0.91 до 1.09
Положительные образцы	≥ 1.10

1. Соотношение OD <0.90 указывает на то, что IgG/A/M антитела к *L. Pneumophila* серогрупп 1-6 не обнаружены. Нерактивный результат может быть эквивалентным IFA титру <1:256. Отрицательный результат не исключает инфекции *Legionella*.
2. Соотношение OD >1.10 указывает на то, что антитела к *Legionella* обнаружены, и это свидетельствует об инфекции *Legionella* в какой-то момент, и может быть эквивалентно IFA титру >1:256. Другие лабораторные процедуры или дополнительная клиническая информация могут быть необходимыми для установки диагноза.
3. Образцы с соотношением значений OD значений в сомнительном диапазоне (0.91–1.09) должны быть повторно протестированы. Образцы, которые остаются сомнительными после повторного тестирования, должны быть проверены с помощью альтернативной серологической процедуры, такой как тест-система DAI Legionella IFA. Двусмысленный результат не исключает инфекции.

ПРИМЕЧАНИЕ: Величина измеренного результата выше значения Cut-off не определяет общую сумму присутствующих антител, и не может быть соотнесена с IFA титрами.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

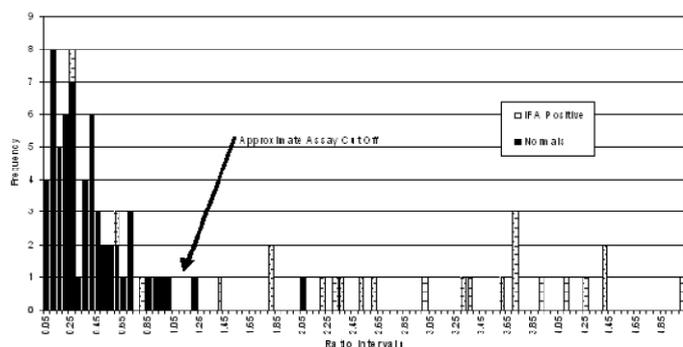
1. Диагноз не должен быть установлен только на основании результатов анти-Legionella. Результаты тестирования следует толковать в сочетании с клинической оценкой и результатами других диагностических процедур.
2. Положительный результат предполагает инфекцию с одним или более видами Групп 1-6; однако, данный анализ не может установить конкретный вид.
3. Избегайте использования гемолитических, липемических, бактериально загрязненных или инактивированных теплом образцов. Это может привести к ошибочным результатам.
4. Перекрестная реактивность может происходить в сыворотке с инфекциями, вызванными другими видами *Legionella*.
5. Отрицательный результат не исключает возможности инфицирования Легионеллой. Образцы сыворотки, взятые слишком рано в процессе инфекции, могут еще не иметь значительных титров антител. В некоторых положительных случаях антитела к *Legionella* не развиваются (12).
6. Положительные результаты могут быть обусловлены перекрестной реактивностью с антителами, генерируемыми в результате не-Легиональной инфекции. Серологические перекрестные реакции были зарегистрированы с *P. aeruginosa*, несколькими видами *Rickettsia*, *Coxiella burnetii*, кишечными грамтрицательными палочками, видами *Bacteroides*, видами *Haemophilus*, *Citrobacter freundii* и *Campylobacter Jejuni* (10). Таким образом, только положительный результат не означает наличие инфекции с *Legionella*. Кроме того, некоторые отчеты (11) показывают, что ряд практически здоровых лиц могут нести антитела к Легионелле; тем не менее, положительный результат наряду с клиническими признаками и симптомами может указывать на возможное инфицирование *Legionella*. Дополнительное серологическое тестирование, такое как парный анализ сыворотки методом IFA или другого клинического испытания, такого как прямой FA и культивирование, могут быть необходимыми для установки диагноза.
7. Эксплуатационные характеристики анализа не были установлены для матриц, отличных от сыворотки.
8. Родственность и/или авидность конъюгата анти-IgG/IgM/IgA не были определены.
9. Хотя конъюгат предназначен для обнаружения человеческих IgG, IgM и/или IgA, при помощи данного анализа нельзя определить, какие антитела присутствуют.
10. Раннее лечение антибиотиками может подавить реакцию антител и у некоторых людей могут не развиваться антитела

выше обнаруживаемых пределов.

- Одиночный положительный результат указывает только на предыдущее иммунологическое воздействие; уровень реакции антител не может быть использован для определения активной инфекции.
- Использование серогрупп 1-6 для оценки антител к разным видам Legionella не было установлено. Некоторые инфицированные пациенты могут не иметь заметных уровней антител с этим анализом. От четырех до восьми недель могут быть необходимы для обнаружения реакции антител и уровни антител могут упасть до неопределяемого уровня в течение месяца инфицирования.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Некоторые исследователи сообщают фоновые частоты повышенных уровней антител в нормальной популяции от 1 до 3% в фиксированных формалиновых приготовлениях антигена (11). При оценке шестидесяти нормальных донорских сывороток, один образец был сомнительный (1.7%), два образца были положительными (3.3%), а остальные (57/60 или 95%) были отрицательными. Ниже приведен график Частоты распространения результатов группы из 60 нормальных образцов доноров, и 24 положительных результатов, подтвержденных IFA.



РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сравнительные исследования:

Сравнительное исследование было проведено с целью продемонстрировать эквивалентность тестовой системы DAI Legionella ELISA другой коммерчески доступной тест-системе IFA, и тест-системе Legionella IFA.

Производительность тестовой системы DAI Legionella ELISA оценивалась тремя сайтами клинического исследования. Один клинический сайт сравнивал производительность продукта DAI с другой коммерчески доступной тест-системой IFA. Второй клинический сайт сравнивал DAI ELISA с DAI Legionella IFA. Третий клинический сайт сравнивал тестовую систему ELISA с тестовой системой Legionella IFA. Вкратце, было в общей сложности 240 тестируемых образцов: 109 на первом сайте, 87 на втором сайте, и 44 на третьем сайте. Клинические образцы, испытанные на сайтах один и два, состояли в основном из обычных образцов, которые были направлены в референс-лабораторию на северо-востоке США для нормального серологического анализа Legionella. Некоторые хранившиеся образцы, которые анализировались ранее, были включены, и были признаны положительными на наличие антител к Legionella. Образцы, испытанные на третьем клиническом сайте, состояли из 22 парных образцов (острой и выздоравливающей форм) с подтвержденными случаями инфекции Legionella. В таблицах 1, 2 и 3 приведены данные этих сравнительных исследований. Сомнительные образцы были исключены из любого дальнейшего анализа. Было проведено сравнение данного теста с коммерчески доступным для определения антител в двух клинических исследованиях.

Таблица 1: Относительная Чувствительность, Специфичность и Согласованность; Сайт 1

		Результат DAI Legionella			
		+	-	±	Всего
Коммерчески доступный IFA	+	12	1	2	15
	-	5	67	10	82
	±	11	0	1	12
	Всего	28	68	13	109
Относительная чувствительность = 12/13 = 92,3% (95% доверительный интервал* = 77,8 до 100%)					
Относительная специфичность = 67/72 = 93,1% (95% доверительный интервал* = 87,2 до 98,9%)					
Относительная Согласованность = 79/85 = 92,9% (95% доверительный интервал* = 85,7 до 98,4%)					

* 95% доверительные интервалы рассчитаны с использованием конкретного метода.

Таблица 2: Относительная Чувствительность, Специфичность и Согласованность; Сайт 2

		Результат DAI Legionella			
		+	-	±	Всего
DAI Научный Legionella IFA	< 1:128	56	2	7	65
	1:128	0	1	4	5
	≥ 1:256	1	0	16	17
	Всего	57	3	27	87
Относительная чувствительность = 16/17 = 94,1% (95% доверительный интервал* = 82.9 до 100%)					
Относительная специфичность = 56/63 = 88.9% (95% доверительный интервал* = 81.1 до 96.6%)					
Относительная Согласованность = 72/80 = 90.0% (95% доверительный интервал* = 83.4 до 96.6%)					
* 95% доверительные интервалы рассчитаны с использованием конкретного метода.					

Таблица 3: Относительная Чувствительность, Специфичность и Согласованность; Сайт 3 (Индивидуальные результаты для тестирования острых и выздоравливающих образцов)

		Результат DAI Legionella			
		+	-	±	Всего
Legionella IFA	< 1:128	16	0	1	17
	1:128	3	1	1	5
	≥ 1:256	3	0	19	22
	Всего	22	1	21	44
Относительная чувствительность = 19/22 = 86.4% (95% доверительный интервал* = 72 до 100%)					
Относительная специфичность = 16/17 = 94.1% (95% доверительный интервал* = 89.2 до 100%)					
Относительная Согласованность = 35/39 = 89.7% (95% доверительный интервал* = 80.2 до 99.2%)					
* 95% доверительные интервалы рассчитаны с использованием конкретного метода.					

Что касается таблицы 3 выше; из 22 пар острых и выздоравливающих образцов, 17/22 были IFA отрицательными для острых образцов и положительными для выздоравливающих образцов. Из оставшихся пяти пар 3/22 были отрицательными для острой и выздоравливающей форм, и 2/22 были положительными как для острой так и выздоравливающей формы.

ПРИМЕЧАНИЕ: Имейте в виду, что "относительная" относится к сравнению результатов этого анализа с подобным анализом. Не было попытки соотнести результаты анализа с наличием заболевания или его отсутствием. Выводы не могут быть сделаны на основании результатов точности анализа, чтобы установить диагноз.

Воспроизводимость:

Чтобы продемонстрировать межлабораторную воспроизводимость результатов анализа оценивались 6 образцов; Два с IFA титром < 1:128, 2 с IFA титром 1:512, и 2 с IFA титром > 1:1024. По пять пробирок каждого образца были подготовлены в общей сложности 30 штук. 30 флаконов были перемешаны и просто пронумерованы от 1 до 30. Панель была протестирована в лаборатории и на двух клинических сайтах. Исследование показало отличную межлабораторную воспроизводимость со 100% согласованности между всеми тремя сайтами.

Точность:

Точность была оценена как указано в документе номер EP5-T2: Оценка Точности работы клинических химических устройств - второе издание, опубликованные Национальным комитетом по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS), Вилланова, Пенсильвания. Воспроизводимость исследования проводилась на обоих клинических сайтах, использующих одни и те же образцы. Вкратце, шесть образцов были испытаны, два относительно сильно положительных образца, два образца со значениями, близкими к граничному, и два, которые были явно отрицательными. Кроме того, отрицательный контроль и положительный контроль были включены в качестве дополнительных членов в группах на сайте номер один, в общей сложности восемь образцов. В каждый день тестирования каждый из восьми образцов тестировали в дубликатах. Также в каждый день тестирования анализ проводили дважды: один раз утром и один раз вечером, в общей сложности четыре повтора для каждого образца ежедневно. Клинические сайты провели это исследование воспроизводимости в течение двадцати дней, в

общей сложности 80 наблюдений для каждого из восьми образцов. Резюме этого исследования приводится в таблице 4 ниже:

Specimen	Site	Mean Ratio	Result	SWR*	ST**	Days	Total Observations	Overall % CV
L-1	1	2.264	Positive	0.204	0.249	19	76	10.99
	2	2.517		0.138	0.438	19	76	17.42
L-2	1	2.277	Positive	0.101	0.209	18	72	9.20
	2	2.435		0.123	0.357	20	80	14.67
L-3	1	0.479	Negative	0.024	0.040	18	72	8.45
	2	0.245		0.023	0.049	20	80	19.91
L-4	1	0.281	Negative	0.013	0.032	19	76	11.24
	2	0.077		0.020	0.027	20	80	35.33
L-5	1	1.055	Near Cut-off	0.081	0.199	19	76	11.32
	2	0.757		0.049	0.091	20	80	12.07
L-6	1	0.845	Near Cut-off	0.033	0.079	19	76	9.36
	2	0.606		0.060	0.095	20	80	15.72
Positive Control	1	6.414	Positive	0.114	0.297	20	80	4.64
Negative Control	1	0.270	Negative	0.019	0.033	20	80	12.14

* Приблизительная оценка стандартного отклонения точности в анализе.

** Приблизительная оценка стандартного отклонения общей точности.

ПРИМЕЧАНИЕ: Результаты воспроизводимости, приведенные в таблице 4, представлены только в качестве примера тех результатов, которые были получены в ходе клинического исследования, с использованием идеальных условий окружающей среды, оборудования и техники. Воспроизводимость должна быть оценена в каждой отдельной лаборатории, и может изменяться в зависимости от условий в лаборатории.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул.Черновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com