



## Иммуноферментный набор для определения ПРОТЕИНАЗЫ-3

Каталог. № :1445Z  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 08-08-2008

**Внимание:** основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на английском языке.

### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA/ИФА) протеиназы-3 компании «Диагностик Аутомейшн Инк.» (ДАИ) предназначен для обнаружения и полуколичественного определения антител к протеиназе-3 в человеческих сыворотках. Анализ предназначен для обнаружения антител в отдельном образце сыворотки. Результаты анализа применяются как средство диагностики гранулематоза Вегенера. **Только для диагностического использования in vitro. Анализ высокой сложности.**

### ВВЕДЕНИЕ

Протеиназа-3 – лизосомный фермент, который может быть обнаружен в человеческих нейтрофилах. Имеется две субпопуляции аутоантител к человеческим нейтрофилам: с-ANCA (антинейтрофильные цитоплазматические антитела) и р-ANCA. Первый подтип, с-ANCA, демонстрирует эндоплазматическое окрашивание методом иммунофлуоресцентного анализа (ИФА) и является диагностическим для гранулематоза Вегенера. Основным антигеном, ответственным за окрашивание с-ANCA - протеиназа-3. Второй подтип, р-ANCA, демонстрирует околядерное окрашивание методом иммунофлуоресцентного анализа. Основным антигеном, ответственным за реактивность р-ANCA оказалась миелопероксидаза. Модели окрашивания ANCA получены использованием зафиксированных этиловый спиртом человеческих нейтрофилов. Анти-PR-3 аутоантитела связаны с гранулематозом Вегенера, но менее часто с микроскопическим поливаскулитом. Специфичность второго антигена (CAP 57) может отвечать за модель с-ANCA. Эти антигены в общем не являются диагностическими для PR-3, ассоциируемой с болезнями лимфоидных воспалительных клеток.

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

#### ПРИНЦИП ТЕСТА

Анализ ДАИ PR-3 - твердофазный иммуноферментный анализ для определения антител класса IgG, IgA, и IgM к антигенам PR-3. Очищенные антигены PR-3 закреплены в твердой фазе микролунок. Разбавленные сыворотки для анализа добавляются в каждую лунку. При наличии антител, связывающихся с антигеном образуются комплексы антиген-антитело. В каждую лунку добавляются меченные ферментом анти-человеческие IgG, A, M. При наличии антитела конъюгат связывается с комплексами антиген-антитело. После инкубации, для удаления несвязанного конъюгата промываются лунки. В каждую лунку добавляется раствор субстрата. При наличии фермента субстрат изменяет свой цвет. После периода инкубации реакция останавливается и интенсивность цвета измеряется фотометрически, производя не прямое измерение специфического антитела в образце пациента.

### 2. ПРЕДСТАВЛЕНИЕ НАБОРА

#### Поставляемые материалы:

Каждый набор содержит в достаточных количествах следующие компоненты для проведения числа анализов, указанного на этикетке упаковки.

1. Микропланшет, покрытый очищенным антигеном протеиназы-3: 96 лунок, расположенных в двенадцати 1x8-луночных полосках, хранятся в пакете из фольги с осушителем (96Т: один планшет).
2. Разбавитель образца тип 3: Готовый к использованию. Содержит буфер, BSA, Твин-20 и проклин (0,1%) в качестве консерванта. (96Т: одна бутылка, 30 мл).
3. Высоко положительный контроль: человеческая сыворотка или дефибринированная плазма). Азид натрия (< 0.1 %) и pen/strep (пенициллина стрептомицин) (0.01 %) добавлены как консерванты, с указанием установленного диапазона,

1445Z, PR3 (с-ANCA)

напечатанного на этикетке флакона. Высоко положительный контроль используется, чтобы контролировать высокий динамический диапазон анализа. (96Т: один флакон 0,4 мл).\*

4. Калибратор: человеческая сыворотка или дефибринированная плазма. Азид натрия (< 0.1 %) и pen/strep (0.01 %) добавлены как консерванты, с указанием специфического коэффициента набора, напечатанного на этикетке флакона. Калибратор используется, чтобы калибровать анализ, ссылаясь на ежедневные перепады температуры и другие условия анализа. (96Т: один флакон 0,4 мл).\*
5. Отрицательный контроль: человеческая сыворотка или дефибринированная плазма). Азид натрия (< 0.1 %) и pen/strep (0.01 %) добавлены как консерванты, с указанием установленного диапазона, напечатанного на этикетке флакона. Отрицательный контроль используется, чтобы контролировать отрицательный диапазон анализа. (96Т: один флакон 0,4 мл).\*
6. Низко положительный контроль: человеческая сыворотка или дефибринированная плазма). Азид натрия (< 0.1 %) и pen/strep (0.01 %) добавлены как консерванты, с указанием установленного диапазона, напечатанного на этикетке флакона. Низко положительный контроль используется, чтобы контролировать диапазон, близкий к пороговому значению анализа. (96Т: один флакон 0,4 мл).\*
7. Конъюгат пероксидазы хрена: Готовый к использованию. Козлиный анти-человеческий IgG, IgA и IgM, содержащий проклин (0,1%) и гентамицин в качестве консервантов. (96Т: одна бутылка 15 мл).
8. Промывочный буфер тип II (20X концентрат): разбавить 1 часть концентрата + 19 частей деионизированной или дистиллированной воды. Содержит TBS, Твин-20 и проклин (0,1%) в качестве консерванта. (96Т: одна бутылка, 50 мл).
9. Раствор хромогена/субстрата тип II: тетраметилбензидин (TMB), готовый к использованию. Реагент должен оставаться закрытым, если не используется. При испарении образуется осадок в лунках с реагентом. (96Т: одна бутылка, 15 мл).
10. Стоп раствор: Готовый к использованию, содержит раствор 1N H2SO4. (96Т: одна бутылка, 15 мл).

\* **Замечание:** флаконы с сывороткой могут содержать ее избыточный объем.

**Следующие компоненты - не привязаны к определенному номеру партии набора и могут использоваться взаимозаменяемо в наборах ИФА компании ДАИ: Разбавитель сыворотки тип III, промывочный буфер тип II и стоп раствор. Хромоген/субстрат этого набора не взаимозаменяемый с любым другим набором ДАИ, кроме МРО. Просьба проверять использование в анализе соответствующего типа реагента ДАИ (типа I, типа II и т.д.).**

#### Дополнительные требования:

1. Промывочная бутылка, автоматизированная или полуавтоматическая система промывки микролуночного планшета.
2. Микропипетки, включая многоканальные, способные к точному распределению объемов 10-200 мкл (КВ меньше чем 3 %).
3. Мерная колба на 1 литр.
4. Бумажные полотенца.
5. Пробирка для разбавления сыворотки.
6. Резервуары реагентов для многоканальных пипеток.
7. Наконечники для пипеток.
8. Дистиллированная или деионизированная вода (dH2O), Тип 1 или эквивалент.
9. Таймер, способный измерять с точностью +/- 1 сек. (0 - 60 мин).
10. Канистры для отходов и гипохлорита натрия 0.5% (50 мл отбеливателя в 950 мл dH2O).
11. Микропланшетный считыватель с одиночной или двойной длиной волны с фильтром 450 нм. При использовании двойной длины волны настройте референтный фильтр на 600-650 нм. Ознакомьтесь с Руководством пользователя или свяжитесь с изготовителем аппарата, чтобы установить особенности линейности работы считывателя.

**Замечание:** Использовать только чистую, сухую стеклянную посуду.

#### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить невскрытый набор при 2-8°C. Набор для анализа может быть использован на протяжении срока годности набора. См. срок годности на этикетке упаковки.
2. Неоткрытые микропланшеты следует хранить при 2-8°C. Неиспользованные полоски должны быть немедленно герметично

закрываются в мешочке с высушивающим средством и возвращены для соответствующего хранения при 2-8°C.

3. Хранить раствор конъюгата пероксидазы хрена при 2-8°C.
4. Калибратор, высоко и низко положительный и отрицательный контроли хранить при 2-8°C.
5. Разбавитель образца тип III и 20x промывочный буфер тип II хранить при 2-8°C.
6. Раствор хромогена/субстрата тип II хранить при 2-8°C. Реагент должен оставаться закрытым если не используется. При испарении образуется осадок в лунках с реагентом.
7. Промывочный буфер тип II (разбавленный 1x) хранить при 21-25°C до 5 дней, или до 1 недели при 2-8°C.

**Замечание:** При поддержке стабильной температуры хранения реагенты и субстраты будут оставаться стабильными в течении срока годности набора. См. срок годности на этикетке упаковки. При изготовлении данного изделия были приняты меры предосторожности, чтобы защитить реагенты от загрязнения и бактериостатических носителей. Необходимо соблюдать осторожность. Чтобы защитить реагенты данного набора от загрязнения. Не используйте если наблюдается микробиологическое загрязнение или осадок.

#### ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для продажи за пределами США.
2. Компоненты человеческой сыворотки данного набора использованные в подготовке контролей и калибратора были проверены методом, одобренным FDA на наличие антител к человеческому вирусу иммунодефицита 1 и 2 (ВИЧ 1&2), гепатиту С (HCV) также к поверхностному антигену гепатита В, при этом был получен отрицательный результат. Поскольку никакой метод проверки не может обеспечить полной уверенности в отсутствии ВИЧ, вируса гепатита С, В или других возбудителей инфекций, с образцами и реагентами человеческого происхождения необходимо обращаться как со способными передавать возбудители инфекций.
3. Центры контроля болезни и их предотвращения, также Национальные институты здоровья рекомендуют обращаться с потенциальными возбудителями инфекций при соблюдении 2 уровня биоопасности.
4. Компоненты этого набора были проверены на контроль качества как контрольная единица партии набора. Не смешивать компоненты из различных номеров партий раствора хромогена/субстрата тип I, стоп раствора и промывочного буфера тип II. Не смешивать компонентами от других изготовителей.
5. Не использовать реагенты по истечении срока годности, отмеченного на этикетке упаковки.
6. Все реагенты должны быть при комнатной температуре (21 - 25°C) перед выполнением анализа. Извлечь только объем реагентов, который необходим. **Не переливать реагенты назад во флаконы, поскольку может произойти загрязнение реагента.**
7. Перед открытием флаконов с контролем и калибратором, резко ударить планшетом по твердой поверхности, чтобы убедиться, что вся жидкость находится на дне флакона.
8. Использовать только дистиллированную или деионизированную воду и чистую стеклянную посуду.
9. Не позволять высушивать лунки во время анализа; добавлять реагенты немедленно после завершения этапов промывки.
10. Избегать перекрестного загрязнения реагентов. Мыть руки до и после работы с реагентами. **Перекрестное загрязнение реагентов и/или образцов может вызвать ошибочные результаты.**
11. При выполнении этапов промывки вручную, лунки должны быть промыты 3 раза. Может потребоваться до 5 циклов промывки, если используется автоматизированное промывочное оборудование.
12. **Азид натрия подавляет активность конъюгата. Для добавления конъюгата необходимо использовать чистые наконечники для пипеток, чтобы избежать переноса азид натрия из других реагентов.**
13. Было установлено, что азид натрия может взаимодействовать со свинцом и медью в трубопроводах, образуя взрывчатые компоненты. При утилизации промыть канализацию водой, чтобы минимизировать нагромождение компоненты металлов азидов.
14. Никогда не пипетировать ртом и не позволять реагентам или образцам пациентов вступать в контакт с кожей. Реагенты, содержащие Проклин, азид натрия, и ТМВ могут быть раздражающими. Избегать контакта с кожей и глазами. В случае контакта, промыть большим количеством воды.
15. При использовании раствора гипохлорита (отбеливающего вещества) как дезинфицирующего средства, не использовать его во время фактического проведения анализа из-за потенциального влияния на ферментативную активность.
16. Избегать контакта стоп раствора (1N серной кислотой) с кожей или глазами. При контакте немедленно промыть область водой.
17. **Предостережение:** Жидкие отходы при кислотном pH должны быть нейтрализованы до добавления гипохлорита натрия (отбеливающего вещества), чтобы избежать образования ядовитого

газа. Рекомендуется утилизировать отработанные планшеты в биобезопасные пакеты. См. Предосторожность 3.

18. Не использовать раствор хромогена/субстрата если он начал превращаться в синий.
19. Концентрации анти-протеиназы-3 в определенном образце, определяемые наборами анализов от разных производителей могут варьировать исходя из различий методах анализа и специфичности реагентов.

#### СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Следует обращаться с кровью и сывороткой как со способными передавать носители инфекций.
2. Оптимальная эффективность набора ДАИ зависит от использования свежих образцов сыворотки (чистых, негемолизированных, нелипемических, неиктерических). При необходимости проведения повторного анализа, минимально рекомендуемый объем – 50 мкл. Образцы должны быть собраны асептически венопункцией. Предварительное отделение от сгустка предотвращает гемолиз сыворотки.
3. Хранить сыворотку при 2-8°C, если анализ будет проводиться в течении 2 дней. При более длительном хранении образцов, хранить их -20°C или ниже. Избегать использования ненаморозивающего холодильника, поскольку он может привести к деградации антител из-за циклов замораживания-размораживания. Неправильно хранящиеся образцы или поддавшиеся множественным циклам замораживания-размораживания могут выдать ошибочные результаты.
4. Образцы, содержащие видимые частицы вещества могут быть выведены в осадок, применяя центрифугирование на низкой скорости.
5. Не использовать сыворотки, инактивированные теплом.
6. Рекомендуется хранить образцы в соответствии с рекомендациями NCCLS (Утвержденными стандартными процедурами по обращению и обработке образцов крови, H18-A. 1990).

#### МЕТОДЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

##### Подготовка к анализу

1. Извлеките все реагенты из места хранения и перед использованием позвольте им нагреться до комнатной температуры (21-25°C). Немедленно возвратите все реагенты в холодильник после использования.
2. Перед использованием все образцы и контроли необходимо встряхнуть и перемешать.
3. Разбавить 50 мл промывочного буфера (20x) тип II до 1 л дистиллированной и/или деионизированной водой. Хорошо перемешать

##### Процедура анализа

1. Поместите желаемое количество полосок в рамку для микролунок. Проведите 6 определений контроля/калибратора (одного отрицательного контроля, трех калибраторов, одного высоко и одного низко положительного контроля) на процедуру. Бланк реагент (БР) должен применяться в каждом анализе. Проверьте требования к программному обеспечению и считывающему устройству для правильных конфигураций контролей/ cut-off-калибраторов. Возвратите неиспользованные полоски в запечатывающийся мешочек с осушителем, герметично закройте и возвратите на хранение при 2-8°C.

| Располож. планшета | Описание образца       | Располож. планшета | Описание образца |
|--------------------|------------------------|--------------------|------------------|
| 1A                 | БР                     | 2A                 | Пациент 2        |
| 1B                 | Отриц. контроль        | 2B                 | Пациент 3        |
| 1C                 | Калибратор             | 2C                 | Пациент 4        |
| 1D                 | Калибратор             | 2D                 | Пациент 5        |
| 1E                 | Калибратор             | 2E                 | Пациент 6        |
| 1F                 | Высоко полож. контроль | 2F                 | Пациент 7        |
| 1G                 | Низко полож. контроль  | 2G                 | Пациент 8        |
| 1H                 | Пациент 1              | 2H                 | Пациент 9        |

2. Разбавьте сыворотки для анализа, калибратор и контрольные сыворотки 1:21 (наприм.: 10 мкл сыворотки + 200 мкл разбавителя сыворотки. Хорошо перемешать (при ручном разбавлении рекомендуется внести сначала разбавитель сыворотки в пробирку для анализа, а затем добавить сыворотку пациента. Хорошо перемешать).
3. В отдельные лунки добавьте 100 мкл соответствующим образом разбавленных сывороток пациентов, калибратора и контролей. Добавьте 100 мкл разбавителя сыворотки плюс в лунку бланк реагента. Проверьте требования к программному обеспечению и считывающему устройству для правильных конфигураций лунки бланка реагента.

4. Инкубируйте каждую лунку при комнатной температуре (21-25°C) в течении **30 +/- 2 минут**.
5. Аспирировать или вытряхнуть жидкость из всех лунок. При использовании полу-автоматизированной или автоматизированной промывочной установки, внесите 250-300 мкл разбавленного промывочного буфера в каждую лунку. Извлеките микротитровальный планшет из промывателя, переверните планшет на бумажное полотенце и жестко постучите, чтобы удалить из лунок любой остаток промывочного раствора. Повторите процедуру промывки 2 раза (в общем количестве 3 промывки) для полу-автоматизированного оборудования или 4 раза (в общем количестве 5 промывок) для автоматизированного оборудования. После конечной промывки вытряхните планшет на бумажное полотенце. Чтобы удалить всю жидкость из лунок.

**\*\* ВАЖНОЕ ЗАМЕЧАНИЕ:** Относительно этапов 5 и 8 - недостаточная или чрезмерная промывка приводит к вариациям анализа и воздействует на достоверность результатов. Поэтому, для лучших результатов рекомендуется использование полуавтоматического или автоматизированного набора оборудования для распределения объема, чтобы полностью заполнить лунку (250-300 мкл). В общем количестве может потребоваться 5 промывок при использовании автоматизированного оборудования.

**Полное удаление промывочного буфера после конечной промывки крайне важно для точности выполнения анализа. Также, визуально убедитесь, что в лунках отсутствуют пузырьки.**

6. Добавьте 100 мкл конъюгата в каждую лунку, включая лунку бланк реагента. Избегать образования пузырьков после добавления, так как они могут вызвать ошибочные результаты.
7. Инкубируйте каждую лунку при комнатной температуре (21-25°C) в течении **30 +/- 2 минут**.
8. Повторите промывку как описано в этапе 5.
9. Добавьте 100 мкл раствора хромогена/субстрата (ТМВ) в каждую лунку, включая лунку бланк реагента, придерживаясь равномерного темпа при добавлении в планшет.
10. Инкубируйте планшет при комнатной температуре (21-25°C) в течении **15 +/- 2 минут**.
11. Остановите реакцию добавлением 100 мкл стоп раствора в каждую лунку, включая лунку бланка, в том же темпе и порядке как добавлялся ТМВ. Постучите по планшету вдоль краев, чтобы перемешать содержимое лунок. Планшет может оставаться в течении 1 часа после добавления стоп раствора перед считыванием.
12. Образовавшийся окрас необходимо считать на ИФА считывателе при 450. При использовании двойной волны считывания настройте референтный фильтр длины волны на 600-650 нм. Инструмент необходимо настраивать в рабочее режиме. Бланк реагент должен быть менее чем 0,150 абсорбции при 450 нм. Если бланк реагент составляет  $\geq 0.150$ , процедуру необходимо повторить. Настройте считыватель на лунке бланк реагента и затем продолжайте считывание всего планшета. Уничтожьте использованные планшеты после получения результатов считывания.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для того, чтобы анализ считался действительным, необходимо учесть следующие условия:

1. Калибраторы и контроли должны использоваться в каждой процедуре анализа.
2. Бланк реагент (при считывании против пустого бланка) должен составлять  $< 0.150$  абсорбции (А) при 450 нм.
3. Среднее значение ОП для калибратора должен быть  $\geq 0.300$  при 450 нм (при считывании против бланк реагента).
4. Заданные значения для высоко-, низко положительного и отрицательного контролей должны быть в их соответствующих диапазонах, напечатанных на флаконах. Если значения контроля вне пределов их соответствующих диапазонов, анализ должен рассматриваться, как недействительный и должен быть повторен.
5. Дополнительные контроли могут анализироваться в соответствии с указаниями или требованиями местных, государственных и/или федеральных законов или аккредитованных учреждений.
6. За рекомендациями соответствующей практики контроля качества смотрите документ C24A NCCLS.
7. Если все вышеуказанные критерии не выполнены после повторного анализа, обратитесь в техническую службу ДАИ.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

##### Вычисления

1. Средняя ОП калибратора – вычислите среднее значение ОП для калибратора от двух определений калибратора. Если любое из трех значений калибраторов отличается более чем на 15% от среднего значения, отвергните это значение и рассчитайте среднее из двух остальных значений.
2. Поправочный коэффициент – для отчета ежедневных отклонений в работе анализа, относящихся к комнатной температуре и времени. Поправочный коэффициент определяется компанией-производителем для каждой партии наборов. Поправочный коэффициент печатается на флаконе калибратора.
3. Пороговое значение калибратора – Пороговое значение калибратора для каждого анализа определяется умножением поправочного коэффициента на среднюю ОП калибратора, определяемое в этапе 1.
4. Заданное значение – Вычислите заданное значение для каждого образца разделив значение ОП образца на пороговое значение калибратора, определенное в этапе 3.

##### Пример:

Полученная ОП калибратора = 0.38, 0.42, 0.40

Средняя ОП калибратора = 0.40

Поправочный коэффициент = 0.50

Пороговое значение калибратора =  $0.50 \times 0.40 = 0.20$

ОП сывороток пациентов = 0.60

Заданное значение =  $0.60/0.20 = 3.00$

##### Анализ

1. Заданные значения интерпретируются следующим образом:

| Заданное значение | Результаты    | Интерпретация   |
|-------------------|---------------|---|
| $\leq 0.90$       | Отрицательный | Нет обнаруживаемого антитела к PR-3 с помощью ИФА                   |
| 0.91-1.09         | Сомнительный  | Образцы необходимо проанализировать повторно. См. п. 2 ниже.        |
| $\geq 1.10$       | Положительный | Указывает на наличие обнаруживаемого антитела к PR-3 с помощью ИФА. |

2. Образцы, остающиеся сомнительными после повторного анализа необходимо проанализировать снова альтернативным методом или анализируйте новый образец.

3. Заданные значения  $> 8.44$  должны считаться как более чем 8.44.

##### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

1. Антитела к PR-3 сильно связаны с моделью c-ANCA (эндоплазматическое анти-нейтрофильные антитела).
2. Антитела к PR-3 обнаруживаются в большинстве случаев ( $> 90\%$ ) гранулематоза Вегенера. PR-3 ELISA анализ был проверен на 40 пациентах с гранулематозом Вегенера. Тридцать девять пациентов (97.5 %) оказались положительными.
3. Антитела к PR-3 обнаруживаются во многих случаях (приблизительно в половине) микроскопического поливаскулита. PR-3 ELISA анализ был проверен на 40 пациентах с микроскопическим поливаскулитом. Двадцать два пациента (55 %) оказались положительными.
4. Антитела к PR-3 редко замечены в здоровых людей. PR-3 ELISA анализ был проверен на 155 здоровых людях. 155 оказались отрицательными.

##### ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

1. Результаты анализа не должны интерпретироваться как диагностические. Результаты должны использоваться только как вспомогательное средство при диагностике. Результаты должны интерпретироваться вместе с клинической оценкой пациента.
2. Сыворотки от пациентов с другими аутоиммунными болезнями и от лиц в норме могут содержать аутоантитела.
3. Некоторые субъекты могут быть положительными к антителам PR-3 с небольшими симптомами или без относительно клинической болезни.
4. Иммунодепрессивная терапия не должна начинаться на основании положительного ANCA результата. Начало или изменения в лечении е должны основываться на изменениях в собственно ANCA, скорее всего на основании тщательного клинического изучения.
5. Заданные значения  $> 8.44$  должны пониматься как более чем 8.44.
6. Образцы с заданными значениями в сомнительном диапазоне должны анализироваться повторно. Если после этого все еще остаются сомнительными, проанализируйте альтернативным методом или проанализируйте новый образец.

##### РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Чувствительность и специфичность

ДАИ PR-3 IgG, A, M ELISA набор был оценен относительно IFA для ANCA. Было взято 40 сывороток от пациентов, диагностированных

с гранулематозом Вегенера. 40 сывороток были от пациентов, диагностированных микроскопическим поливаскулитом. 155 сывороток были от здоровых людей различного возраста, пола и географических территорий. Таблица 1 подводит итог данных. Замечание: если случайно отобраны IFA положительные сыворотки исходя из других состояний болезни, порождающих ANCA модели, не связанные с PR-3, чувствительность и специфичность относительно IFA не будут такими высокими.

**Таблица 1**  
Чувствительность и специфичность ДАИ PR-3 ELISA набора к IFA  
ДАИ PR-3 ELISA набор

|     |               | Положит.<br>≥ 1.10 | Сомнит.<br>0.90-1.09 | Отрицат.<br>≤ 0.90 | Всего |
|-----|---------------|--------------------|----------------------|--------------------|-------|
| IFA | Положительный | 53*                | 0                    | 1***               | 54    |
|     | Отрицательный | 8**                | 0                    | 173***             | 181   |
|     | <b>Всего</b>  | 61                 | 0                    | 174                | 235   |

Относительная чувствительность = 53/54 = 98.2%  
95% доверительный интервал = 94.5-100%  
Относительная специфичность = 173/181 = 95.6%  
95% доверительный интервал = 92.5-98.6%  
Относительное совпадение = 226/235 = 96.2%  
95% доверительный интервал = 93.7-98.7%

95% доверительные интервалы были вычислены с помощью обычного метода.

\*50 сывороток были от пациентов, диагностированных с гранулематозом Вегенера или микроскопическим поливаскулитом были с моделью c-ANCA. 2 сыворотки были от пациентов, диагностированных с микроскопическим поливаскулитом были с моделью p-ANCA. 1 сыворотка была от пациента, диагностированного с микроскопическим поливаскулитом с ANA, таким образом, делая невозможным считывание модели c-ANCA. \*\*8 сывороток были от пациентов, диагностированных с гранулематозом Вегенера или микроскопическим поливаскулитом, которые были отрицательными к ANCA. \*\*\* Одна сыворотка была от пациента, диагностированного с микроскопическим поливаскулитом с моделью c-ANCA. \*\*\*\*155 сывороток были от здоровых людей, которые были отрицательными к ANCA. 18 сывороток были от пациентов, диагностированных с микроскопическим поливаскулитом или с моделью p-ANCA или ANA или как отрицательные к ANCA. Одна и та же группа клинических сывороток анализировалась с помощью имеющегося в продаже ELISA набора, чтобы определить относительную чувствительность и специфичность к альтернативному ELISA набору. Таблица 2 подводит итог данных.

**Таблица 2**  
Чувствительность и специфичность ДАИ PR-3 ELISA набора  
относительно альтернативного ELISA набора  
ДАИ PR-3 ELISA набор

| Альтер-<br>нативный<br>ELISA<br>набор |              | Положит.<br>≥ 1.10 | Сомнит.<br>0.91-1.09 | Отрицат.<br>≤ 0.90 | Всего |
|---------------------------------------|--------------|--------------------|----------------------|--------------------|-------|
|                                       | Положит.     | 58                 | 0                    | 5**                | 63    |
|                                       | Сомнит.      | 1                  | 0                    | 11                 | 12    |
|                                       | Отрицат.     | 2*                 | 0                    | 158                | 160   |
|                                       | <b>Всего</b> | 61                 | 0                    | 174                | 235   |

Относительная Чувствительность = от 58/63 = 92.1 %  
Доверительный интервал 95 % = 85.3 - 98.9 % относительная специфичность = от 158/160 = 98.8 %  
Доверительный интервал 95 % = 97.0 - 100 % относительное совпадение = 216/223 = 98.9 %  
Доверительный интервал 95 % = 94.5 - 99.2 %  
Доверительные интервалы 95 % были рассчитаны, используя обычный метод.

\* Обе сыворотки были от пациентов, диагностированных с микроскопическим поливаскулитом.

\*\* Все пять сывороток были от здоровых людей.

Клинические сыворотки и потенциально перекрестно реагирующие сыворотки были сгруппированы и была вычислена клиническая чувствительность и специфичность PR-3 ELISA анализа. Таблица 3 подводит итог данных.

Гранулематоз Вегенера  
Клиническая чувствительность = 39/40 = 97.5 %  
Доверительный интервал 95 % = 92.6 - 100 %  
Микроскопический поливаскулит  
Клиническая чувствительность = 22/40 = 55.0 %

**Таблица 3**  
Клиническая чувствительность и специфичность PR-3 ELISA набора  
ДАИ PR-3 IgG, A, M ELISA набор

| Кoeffициент                   | Положит.<br>≥ 1.10 | Сомнит.<br>0.91-1.09 | Отрицат.<br>≤ 0.90 | Всего |
|-------------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|-------|
| Гранулематоза Вегенера        | 39                 | 0                    | 1                  | 40    |
| Микроскопический поливаскулит | 22                 | 0                    | 18                 | 40    |
| Др. аутоиммунные сыворотки    | 0                  | 0                    | 21                 | 21    |
| Здоровые образцы              | 0                  | 0                    | 155                | 155   |
| <b>Всего</b>                  | 61                 | 0                    | 195                | 256   |

Доверительный интервал 95 % = 39.3 - 70.7 %

Другой аутоиммунные сыворотки

Клиническая специфичность = 21/21 = 100 %

Доверительный интервал 95 % = 85.9 - 100 %

Здоровые образцы

Клиническая специфичность = 155/155 = 100 %

Доверительный интервал 95 % = 98.1-100 %

Доверительные интервалы 95 % были рассчитаны, используя обычный метод. Доверительные интервалы 95 % для клинических особенностей были рассчитаны, допуская один ошибочно положительный образец.

Точность ДАИ PR-3 IgG, A, M набора была определена анализом 9 различных сывороток 10 раз в 3 различных анализах. Данные получены в итоге в Таблице 4. При правильной методике пользователь должен получить КВ менее чем 15 %.

### ЛИНЕЙНОСТЬ

Заданные значения ДАИ PR-3 были определены при последовательных двукратных разбавлениях 5 положительных сывороток. Заданные значения были сравнены с log2 разбавления путем стандартной линейной регрессии. Данные в Таблице 5 (см. в конце этой инструкции) указывают, что анализ полуколичественный.

### ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Сыворотки, содержащие высокий уровень антител к потенциально перекрестно-реактивным антигенам анализировались PR-3 ELISA набором. Данные в Таблице 6 указывают, что антитела, чередующиеся с аутоантигенами, перекрестно не реагируют с клиническим набором ДАИ PR-3 ELISA.

**Таблица 6**  
Данные перекрестной реактивности

| Сыворотка # | Специфичность антитела | Заданное значение PR-3 | Интерпретация |
|-------------|------------------------|------------------------|---------------|
| 1           | Ro                     | 0.09                   | -             |
| 2           | Ro                     | 0.11                   | -             |
| 3           | Ro                     | 0.14                   | -             |
| 4           | La                     | 0.07                   | -             |
| 5           | La                     | 0.05                   | -             |
| 6           | La                     | 0.08                   | -             |
| 7           | Sm                     | 0.24                   | -             |
| 8           | Sm                     | 0.30                   | -             |
| 9           | Sm                     | 0.36                   | -             |
| 10          | RNP                    | 0.14                   | -             |
| 11          | RNP                    | 0.09                   | -             |
| 12          | RNP                    | 0.16                   | -             |
| 13          | Jo-                    | 0.05                   | -             |
| 14          | Jo-                    | 0.20                   | -             |
| 15          | Jo-                    | 0.12                   | -             |
| 16          | Scl-                   | 0.13                   | -             |
| 17          | Scl-                   | 0.07                   | -             |
| 18          | Scl-                   | 0.11                   | -             |
| 19          | dsDNA                  | 0.38                   | -             |
| 20          | dsDNA                  | 0.24                   | -             |
| 21          | dsDNA                  | 0.36                   | -             |

### Литература:

(См. в оригинале инструкции).

**Таблица 4**  
**Данные точности**

| Сыворотка# | Анализ 1 (к-во=8) |      |        | Анализ 2 (к-во=8) |      |        | Анализ 3 (к-во=8) |      |        | Между анализами (к-во=24) |      |        |
|------------|-------------------|------|--------|-------------------|------|--------|-------------------|------|--------|---------------------------|------|--------|
|            | X                 | CO   | KB     | X                 | CO   | KB     | X                 | CO   | KB     | X                         | CO   | KB     |
| 1          | 8.70              | .634 | 7.29%  | 8.92              | .479 | 5.37%  | 9.37              | .465 | 4.96%  | 9.00                      | .586 | 6.52%  |
| 2          | 2.99              | .345 | 11.54% | 3.03              | .211 | 6.96%  | 2.92              | .201 | 6.89%  | 2.98                      | .256 | 8.59%  |
| 3          | 2.68              | .289 | 10.81% | 2.76              | .145 | 5.25%  | 2.70              | .144 | 5.32%  | 2.71                      | .200 | 7.38%  |
| 4          | 2.52              | .177 | 7.04%  | 2.52              | .163 | 6.47%  | 2.53              | .242 | 9.54%  | 2.52                      | .190 | 7.54%  |
| 5          | 10.33             | .344 | 3.34%  | 11.95             | .293 | 2.45%  | 10.29             | .200 | 1.95%  | 10.86                     | .837 | 7.71%  |
| 6          | 0.17              | .074 | 42.79% | 0.15              | .056 | 37.79% | 0.010             | .076 | 80.36% | 0.14                      | .074 | 53.76% |
| 7          | 0.08              | .037 | 47.16% | 0.06              | .039 | 68.22% | 0.04              | .037 | 84.505 | 0.06                      | .039 | 65.51% |
| 8          | 1.28              | .079 | 6.13%  | 1.31              | .071 | 5.37%  | 1.21              | .079 | 6.53%  | 1.27                      | .086 | 6.74%  |
| 9          | 1.08              | .059 | 5.45%  | 1.18              | .105 | 8.92%  | 1.06              | .083 | 7.91%  | 1.10                      | .097 | 8.82%  |

X = среднее значение PR-3  
CO = стандартное отклонение  
KB = коэффициент вариации

**Таблица 5**  
**Линейность**

| Сыворотка # |            |      |      |      |      |      |      |       |
|-------------|------------|------|------|------|------|------|------|-------|
|             | Неразбавл. | 1:2  | 1:4  | 1:8  | 1:16 | 1:32 | 1:64 | r     |
| 1           | 7.50       | 6.04 | 4.17 | 2.61 | 1.26 | 0.63 |      | 0.991 |
| 2           | 2.96       | 2.09 | 1.47 | 0.97 | 0.37 |      |      | 0.995 |
| 3           | 8.44       | 6.98 | 5.22 | 3.66 | 2.36 | 1.37 | 0.60 | 0.992 |
| 4           | 2.24       | 1.88 | 1.23 | 0.63 |      |      |      | 0.993 |
| 5           | 3.24       | 1.94 | 0.98 | 0.41 |      |      |      | 0.984 |

**Информация для заказа:**

**ЧМП «ДИАМЕБ»**  
Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005  
а/я 742  
Тел.: (0342) 775122  
Тел/факс: (0342) 775 612  
E-mail: [info@diameb.com](mailto:info@diameb.com)