



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



Зміни: §4, §6;
Видалення: -

Аналіз ЛІЕЙСОН Борелія IgM II (REF 310010) LIAISON® Borrelia IgM II (REF 310010)

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Аналіз ЛІЕЙСОН Борелія IgM II використовує технологію хемілюмінесцентного імуноаналізу (CLIA) для якісного визначення специфічних антитіл класу IgM до *Borrelia burgdorferi sensu lato* (включаючи штами *Borrelia burgdorferi sensu strictu*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*) у зразках сироватки або плазми крові.

Тест слід проводити на аналізаторах сімейства LIAISON®.

2. РЕЗЮМЕ ТА ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ

Бактерія *Borrelia burgdorferi*, відкрита в 1982 році, є етіологічним агентом Лайм-бореліозу, захворювання, яке передається різними видами кліщів роду *Ixodes*. Лайм-бореліоз є мультисистемним захворюванням, яке може вражати кілька органів, зокрема шкіру, нервову систему, великі суглоби та серцево-судинну систему. Незважаючи на те, що спірохети хвороби Лайма викликають потужну імунну відповідь, бактерії *Borrelia* виживають і персистують в організмі інфікованих пацієнтів. Подібно до сифілісу, бореліоз Лайма зазвичай прогресує, проходячи через різні клінічні стадії, від ранньої до пізньої інфекції:

- Стадія 1: ураження шкіри в місці укусу кліща; рання інфекція з локалізованою екзантемою (хронічна мігруюча еритема) може супроводжуватися дисемінованою інфекцією, якщо її не лікувати.
- Стадія 2: неврологічні розлади (нейробореліоз).
- Стадія 3: артрит, який може спостерігатися навіть через роки після інфікування.

Подібність клінічних симптомів при бореліозі Лайма та не пов'язаних з ним захворюваннях створює діагностичні проблеми через різноманітність дуже варіабельних проявів. Діагностика бореліозу на основі клінічних даних може бути складною, особливо за відсутності в анамнезі укусів кліщів або хронічної мігруючої еритеми. Крім того, хвороба може протікати безсимптомно до пізніх стадій. За відсутності хронічної мігруючої еритеми клінічні прояви гранулоцитарного ерліхіозу людини, що виникає в тих самих заражених кліщами районах, де реєструються випадки бореліозу, можуть бути сплутані з клінічними проявами бореліозу Лайма.

Внаслідок цього для визначення причини захворювання клініцисти покладаються на виявлення антитіл. Задокументовано, що використання оброблених ультразвуком цільних клітин *Borrelia burgdorferi* може давати хибнопозитивні результати через перехресну реактивність специфічних антитіл з білками, що мають високу гомологію з різними бактеріальними патогенами, особливо з *Treponema pallidum*, етіологічним збудником сифілісу. Діагностичні тести з використанням бактеріального лізату, наприклад, антигену, навіть з різних штамів *Borrelia burgdorferi*, часто не дають переконливих результатів на ранній стадії інфекції.

Для підвищення точності діагностики Лайм-бореліозу в наборах для тестування ЛІЕЙСОН Борелія використовуються специфічні рекомбінантні антигени, отримані в *E. coli*. Набори ЛІЕЙСОН Борелія IgM містять тверду фазу, покриту білком зовнішньої поверхні OspC, який є імунодомінантним для відповіді IgM на ранній стадії інфекції, а також нещодавно ідентифікованим антигеном борелій VlsE (варіабельна основна білковоподібна послідовність, що експресується). ЛІЕЙСОН Борелія IgG використовує тільки антиген борелій VlsE. VlsE - це ліпопротеїн зовнішньої поверхні, який, як вважають, відіграє важливу роль в імунній відповіді на хворобу Лайма. Він містить консервативні ділянки (які служать трансмембранними доменами *in vivo*), варіабельні та неваріабельні ділянки (знаходяться ззовні бактеріальної мембрани). Варіабельні ділянки постійно зазнають змін послідовності шляхом рекомбінації під час інфекції. Антигенні варіації поверхневих білків були ідентифіковані як важливий механізм ухилення від імунітету. Шість неваріабельних ділянок (IR 1-6) чергуються в межах варіабельного домену, що зберігається серед штамів і генотипів комплексу *Borrelia burgdorferi sensu lato*. У живих борелій неваріабельні ділянки маскуються варіабельними ділянками, і, таким чином, є захищеними від прямої атаки імунної системи господаря. Бактерії борелій розпізнаються антигенпрезентуючими клітинами, які презентують білок імунній системі. Цікаво, що неваріабельні ділянки є імунодомінантними при Лайм-бореліозі. Пацієнти з хворобою Лайма постійно демонструють сильну реакцію антитіл проти VlsE на всіх стадіях захворювання, включаючи ранні стадії. Ця реактивність, виявлена методом вестерн-блотингу з використанням рекомбінантного VlsE, відсутня або низькоінтенсивна, коли в якості антигену використовується лізат цілих клітин з вирощеної *in vitro* культури *Borrelia burgdorferi* з невеликою кількістю пасажів. Рекомбінантний VlsE, демонструючи високу діагностичну чутливість і специфічність, є найбільш оптимальним маркером для лабораторної діагностики як ранньої, так і пізньої імунної відповіді при Лайм-бореліозі.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Методом якісного визначення специфічних IgM до *Borrelia burgdorferi* є непрямий хемілюмінесцентний імуноаналіз (CLIA). Рекомбінантні антигени використовуються для покриття магнітних частинок (тверда фаза), а мишаче моноклональне антитіло зв'язується з похідним ізолюмінолу (кон'югат ізолюмінол-антитіло). Під час першої інкубації антитіла до *Borrelia burgdorferi*, присутні в калібраторах, зразках або контролях, зв'язуються з твердою фазою. Під час другої інкубації кон'югат ізолюмінол-антитіло реагує з IgM до *Borrelia burgdorferi*, вже зв'язаними з твердою фазою. Після кожної інкубації незв'язаний матеріал видаляється під час циклу промивання.

Після цього додаються стартерні реагенти, і таким чином запускається реакція спалаху хемілюмінесценції. Світловий сигнал, а отже, і кількість кон'югату ізолюмінол-антитіло, вимірюється фотопомножувачем у відносних світлових одиницях (RLU) і вказує на концентрацію IgM до *Borrelia burgdorferi*, присутню в калібраторах, зразках або контролях.

*(LIAISON®, LIAISON® XL, LIAISON® XS)

4. СКЛАД НАБОРУ

Інтеграл реагентів

Магнітні частинки (2,3 мл)	SORB	Магнітні частинки, покриті рекомбінантними антигенами OspC (<i>Borrelia afzelii</i> штам pKo) і VlsE (<i>Borrelia garinii</i> штам pBi і <i>Borrelia sensu strictu</i> штам B31) (отримані в <i>E. coli</i>), BSA, буфер PBS, < 0,1% азиду натрію.
Калібратор 1 (0,9 мл)	CAL1	Сироватка/плазма крові людини, що містить низький рівень IgM до <i>Borrelia burgdorferi</i> , BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin™ 300, інертний жовтий барвник. Концентрації калібратора відносяться до препарату антитіл власного виробництва.
Калібратор 2 (0,9 мл)	CAL2	Сироватка/плазма крові людини, що містить високий рівень IgM до <i>Borrelia burgdorferi</i> , BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin™ 300, інертний синій барвник. Концентрації калібратора відносяться до препарату антитіл власного виробництва.
Розчинник для зразків (28 мл)	DILSPE	BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin™ 300, інертний жовтий барвник.
Кон'югат (23 мл)	CONJ	Мишачі моноклональні антитіла до IgM 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)

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

Аналізатор ЛІЕЙСОН XS
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).

Додаткові матеріали, що не постачаються з набором

Контролі LIAISON® Borrelia IgM Quant controls

Контролі LIAISON® Borrelia IgM II controls (негативний та позитивний) (REF 310011).

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, антитіл до HCV, антитіл до HIV-1, антитіл до 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 куріть 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, що містить 0,5% активного хлору, а використані засоби утилізувати як інфіковані відходи.

Усі зразки та реагенти, що використовуються для аналізу та містять біологічні матеріали, слід вважати потенційно здатними

переносити інфекційні агенти. З відходами слід поводитись обережно та утилізувати їх відповідно до лабораторних інструкцій і законодавчих положень, що діють у кожній країні. Будь-які матеріали для повторного використання повинні бути належним чином стерилізовані відповідно до місцевих законів і правил. Перевіряйте ефективність циклу стерилізації/дезактивації. Не використовуйте набір або його компоненти після завершення терміну придатності, вказаного на етикетці.

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

Реагенти:	CAL1, CAL2, CONJ, DILSPE
Класифікація	Skin sens. 1A H317 Aquatic chronic 3 H412
Сигнальне слово:	Увага
Піктограма:	 GHS07 Знак оклику
Повідомлення про небезпеку:	H317 Може викликати алергічну реакцію шкіри H412 Шкідливий для водних організмів з довготривалими наслідками.
Інформація про заходи безпеки:	P261 Уникайте вдихання пилу/диму/газу/туману/парів/бризок. P280 Носіть захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя. P273 Уникайте потрапляння в навколишнє середовище. P363 Випрати забруднений одяг перед повторним використанням.
Містить: (тільки речовини, прописані відповідно до статті 18 Регламенту ЄС 1272/2008).	реакційна суміш: 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он [EC № 247-500-7] та 2-метил-2Н-ізотіазол-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 РЕАГЕНТІВ

ІНТЕГРАЛ РЕАГЕНТІВ

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

Ресуспендування магнітних частинок

Магнітні частинки повинні бути повністю ресуспендовані перед тим, як інтеграл буде встановлений 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. Обережно та ретельне перемішування похитуванням 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 піноутворення. Якщо після повторного суспендування 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

Попередження - Перед зняттям пломб з флаконів і перед кожним калібруванням обережно струсіть інтеграл реагентів, уникаючи утворення піни.

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.
 - Вставте інтеграл реагентів у спеціальний слот.

- b. 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.

КОНТРОЛІ

Інформація щодо належної підготовки та поводження наведена у відповідних розділах інструкцій з використання наборів контролів LIAISON® Control Borrelia IgM Quant/ Borrelia IgM II.

8. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

- **Нерозпечатаним:** Стабільний при 2-8°C до закінчення терміну придатності.
- **Відкритим і завантаженим в аналізатор або при 2-8°C:** Стабільний протягом принаймні чотирьох тижнів.
Після закінчення цього терміну можна продовжувати використовувати інтеграл реагентів за умови, що контролі знаходяться в межах очікуваних діапазонів.
- Для вже відкритого інтегралу реагентів слід використовувати завжди один і той же аналізатор ЛІЕЙСОН.
- Для зберігання інтегралу реагентів у вертикальному положенні слід використовувати штатив, що постачається разом з аналізатором ЛІЕЙСОН.
- Не заморозувати.
- Зберігати у вертикальному положенні, щоб полегшити подальше правильне ресуспендування магнітних частинок.
- Тримати подалі від прямого світла.

9. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зразки сироватки або плазми. Можна використовувати сироватку або плазму крові людини. Тестування підтвердило можливість використання в цьому аналізі антикоагулянтів – цитрату, ЕДТК та гепарину. 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. Не слід досліджувати зразки з вираженим гемолізом або ліпемією, а також зразки, що містять тверді частинки або мають явні ознаки бактеріального забруднення. 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. Десять зразків з різною реакційною здатністю зберігалися протягом семи днів при 2-8°C і пройшли чотири цикли заморожування-розморожування. Результати не показали суттєвих відмінностей. Мінімальний об'єм, необхідний для одного дослідження, становить 180 мкл зразка (30 мкл зразка + 150 мкл мертвого об'єму). Ніяких додаткових маніпуляцій не потрібно, оскільки прилад автоматично розбавляє зразки перед тестуванням.

10. КАЛІБРУВАННЯ

Тестування специфічних калібраторів інтегралів реагентів дозволяє за вимірними значеннями відносних світлових одиниць (RLU) коригувати еталонну криву. Кожен калібрувальний розчин дозволяє виконати вісім калібрувань.

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

- Використовується нова партія набору стартерів.
- Попереднє калібрування було виконано більше, ніж один тиждень тому.
- Кожного разу при використанні нової партії інтегралу реагентів.
- 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 калібраторів зберігаються в штрих-кодах на інтегралі реагентів.

Аналізатор **ЛІЕЙСОН XL**: Значення калібраторів зберігаються у транспондері радіочастотної ідентифікації (RFID-Tag) інтегралу реагентів.

Аналізатор **ЛІЕЙСОН XS**: Значення калібраторів зберігаються у транспондері радіочастотної ідентифікації (RFID-Tag) інтегралу реагентів.

Попередження - Перед зняттям пломб з флаконів і перед кожним калібруванням обережно струсіть інтеграл реагентів, уникаючи утворення піни.

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 використовувати не можна. 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-Tag). Якщо RFID-Tag не зчитується аналізатором, інтеграл використовувати не можна. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Під час проведення аналізу виконуються наступні операції:

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

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Контролі LIAISON® слід використовувати в одному вимірюванні для моніторингу збоїв у роботі реагентів. Контроль якості повинен здійснюватися шляхом використання контролів LIAISON® Control Borrelia IgM Quant/ Borrelia IgM II:

- (а) принаймні один раз на день використання,
- (б) щоразу, коли використовується новий інтеграл реагентів,
- (с) щоразу, коли набір калібрується,
- (д) щоразу, коли використовується нова партія стартерних реагентів,
- (е) для оцінки робочих характеристик відкритого інтегралу реагентів після закінчення чотирьох тижнів, або відповідно до інструкцій чи вимог місцевих нормативних документів або акредитованих організацій.

Значення контролів повинні знаходитися в межах очікуваних діапазонів: якщо одне або обидва значення контролів виходять за межі очікуваних діапазонів, необхідно провести повторне калібрування, після чого повторно протестувати контрольні матеріали. Якщо значення контролів, отримані після успішного калібрування, неодноразово виходять за межі очікуваних діапазонів, тестування слід повторити, використовуючи нерозкритий флакон контролю. Якщо значення контролів 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

13.1. Тест на Borrelia IgM

Аналізатор автоматично розраховує рівні антитіл IgM до *Borrelia burgdorferi*, виражені як значення індексу, і оцінку результатів.

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. Значення індексу *Borrelia burgdorferi* IgM від 0,1 до 6.

Порогове значення, що розрізняє наявність і відсутність *Borrelia burgdorferi* IgM, має значення індексу 1,0.

Результати зразків слід інтерпретувати таким чином:

Зразки зі значенням *Borrelia burgdorferi* IgM нижче значення індексу 0,9 слід оцінювати як *негативні*.

Зразки зі значенням *Borrelia burgdorferi* IgM між значенням індексу 0,9 та 1,0 слід оцінювати як *сумнівні*.

Сумнівні зразки слід дослідити повторно, щоб підтвердити початковий результат. Зразки, які є позитивними при повторному тестуванні, слід вважати позитивними. Зразки, які є негативними при повторному тестуванні, слід вважати негативними. У разі отримання сумнівного результату при повторному тестуванні слід провести повторний забір біологічного матеріалу і тестування зразка, але не раніше ніж через тиждень.

Зразки зі значенням *Borrelia burgdorferi* IgM, що дорівнює або перевищує значення індексу 1,1, вважаються *позитивними*.

13.2. Інтерпретація результатів

Негативний результат на антитіла IgM та/або IgG до *Borrelia burgdorferi*, як правило, вказує на те, що пацієнт не був інфікований, але не завжди виключає гострий бореліоз, оскільки інфекція може бути на дуже ранній стадії, коли пацієнт ще не здатний синтезувати специфічні антитіла до *Borrelia burgdorferi*, або антитіла можуть бути присутніми в кількостях нижчих вимірювального діапазону. Специфічні антитіла класу IgM легше виявити на ранніх стадіях інфекції; на пізніх стадіях їх концентрація поступово знижується. Слід підкреслити, що протягом перших тижнів після зараження результати тесту є негативними. Якщо є підозра на наявність клінічного контакту з *Borrelia burgdorferi*, незважаючи на негативний або сумнівний результат, пізніше в ході розвитку інфекції слід відібрати другий зразок і протестувати його на IgM та IgG.

Позитивний результат на антитіла IgM та/або IgG до *Borrelia burgdorferi*, як правило, вказує на контакт із збудником (гостре або перенесене інфікування). Однак на основі тестування одиничного зразка можна лише оцінити серологічний статус людини. Позитивний результат на IgM при негативному результаті IgG спостерігається відносно часто на ранніх стадіях захворювання, але рідко на пізніх стадіях. Позитивний результат IgG при негативному результаті IgM може вказувати або на активну хворобу Лайма, або на перенесену інфекцію з персистуючими антитілами. У наступній таблиці наведені різні імунологічні картини. Результати були отримані із використанням тест-систем ЛІЕЙСОН Борелія.

Результат <i>Borrelia burgdorferi</i> IgM	Результат <i>Borrelia burgdorferi</i> IgG	Інтерпретація
негативний	негативний	Відсутність ознак інфекції. У разі клінічної невизначеності (наявність укусу кліща або неврологічних симптомів) за пацієнтом слід спостерігати протягом певного часу.
позитивний	негативний	Ймовірна інфекція на ранній стадії.
негативний	позитивний	Ймовірна інфекція на будь-якій стадії.
позитивний	позитивний	Ймовірна гостра інфекція.

14. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Характеристики аналізу не були встановлені для випадку, коли тест ЛІЕЙСОН Борелія використовується разом з тестами інших виробників для виявлення специфічних серологічних маркерів *Borrelia burgdorferi*. За таких умов користувачі несуть відповідальність за встановлення власних характеристик аналізу.

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

Бактеріальне забруднення або термічна обробка зразків може вплинути на результати дослідження.

Результати тесту відображаються кількісно як позитивні або негативні в залежності від наявності *Borrelia burgdorferi* IgM. 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.

Антибіотикотерапія на ранніх стадіях захворювання часто перешкоджає розвитку імунної відповіді.

У пацієнтів з одиничним позитивним результатом на *Borrelia burgdorferi* IgM необхідно виключити наявність ревматоїдного фактора та інфекційного мононуклеозу. Поліклональна стимуляція В-лімфоцитів під час інфекційного мононуклеозу може призвести до неспецифічної стимуляції синтезу антитіл до *Borrelia burgdorferi*, особливо класу IgM.

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 ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛІЗУ

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 зразків сироватки або плазми крові не впливають антикоагулянти (цитрат натрію, ЕДТК, гепарин), гемоліз (до 1000 мг/дл гемоглобіну), ліпемія (до 3000 мг/дл тригліцеридів), білірубінемія (до 20 мг/дл білірубіну) або цикли заморожування-розморожування зразків.

Перехресні реакції. Як правило, наявність потенційних перехресно реагуючих антитіл у зразках сироватки або плазми не впливає на проведення аналізу. Антитіла, що досліджувалися: (а) імуноглобуліни до різних інфекційних агентів - таких як EBV, *Treponema pallidum* або *Toxoplasma gondii*; (б) антинуклеарні (ANA) антитіла та ревматоїдний фактор (анти-Fc імуноглобулін). У таблиці нижче наведено результати проведених досліджень.

Клінічний стан	Кількість випадків	Позитивний/сумнівний результат IgM
Гостра первинна EBV-інфекція	10	0
Сифіліс	5	0
Гострий первинний токсоплазмоз	14	0
Антинуклеарні антитіла	16	0
Ревматоїдний фактор	10	0
Загальна кількість досліджених зразків	55	0

15.2. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН

Для оцінки повторюваності та відтворюваності аналізу (тобто варіабельності в межах аналізу та між аналізами) було проаналізовано зразки з різними концентраціями досліджуваного аналіту. Результати відносяться до груп зразків, що досліджувалися, і не є гарантованими, оскільки можливі міжлабораторні та географічні відмінності.

Повторюваність. Для оцінки внутрішньої повторюваності було виконано двадцять паралельних визначень в одному циклі.

Повторюваність	A	B	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20
Середнє (значення індексу)	0,571	1,45	0,145	2,27
Стандартне відхилення	0,026	0,081	0,010	0,16
Коефіцієнт варіації (%)	4,7	5,6	7,3	7,1
Мінімальне значення	0,519	1,20	0,127	2,00
Максимальне значення	0,610	1,56	0,163	2,55

Відтворюваність. Для оцінки відтворюваності було проведено двадцять паралельних визначень у різні дні (одна або дві постановки на день).

Відтворюваність	A	B	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20
Середнє (значення індексу)	0,654	1,53	0,163	2,59
Стандартне відхилення	0,065	0,087	0,017	0,21
Коефіцієнт варіації (%)	9,9	5,7	10,3	8,0
Мінімальне значення	0,531	1,35	0,113	2,21
Максимальне значення	0,818	1,69	0,193	2,94

15.3. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН XL

Для оцінки повторюваності та відтворюваності аналізу (тобто варіабельності в межах аналізу та між аналізами) 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 паралельних визначень в одному циклі.

Повторюваність	1	2	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20
Середнє (значення індексу)	0,537	1,50	0,107	2,05
Стандартне відхилення	0,012	0,038	0,0031	0,090
Коефіцієнт варіації (%)	2,2	2,6	2,9	4,4
Мінімальне значення	0,510	1,44	0,0999	1,89
Максимальне значення	0,555	1,58	0,112	2,94

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

Відтворюваність	1	2	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20
Середнє (значення індексу)	0,608	1,51	0,125	2,10
Стандартне відхилення	0,046	0,011	0,0062	0,15
Коефіцієнт варіації (%)	7,6	7,6	5,0	7,1
Мінімальне значення	0,496	1,24	0,113	1,77
Максимальне значення	0,723	1,96	0,132	2,32

15.4. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН XS

П'ятиденне дослідження прецизійності було проведено на трьох аналізаторах LIAISON® XS для перевірки прецизійності тесту ЛІЕЙСОН Борелія. При підготовці протоколу тестування використовувався документ CLSI EP15-A3.

Для дослідження використовували кодовану панель, що містила 7 заморожених зразків. Зразки могли бути підготовлені шляхом об'єднання зразків для представлення негативних, граничних і позитивних рівнів.

До п'ятиденного дослідження також був включений набір контролів LIAISON® Control Borrelia.

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

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

Повторюваність. Для оцінки повторюваності було виконано 90 паралельних визначень для кожного зразка. 7 зразків з різною концентрацією аналіту і зразки з набору контролів аналізували в 6 повтореннях на день, протягом 5 робочих днів, на 3 аналізаторах і одній партії реагентів.

Повторюваність	3	4	5	6	7	8	9	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	90	90	90	90	90	90	90	90	90
Середнє (значення індексу)	0,326	0,660	0,842	1,43	1,19	1,12	2,13	0,130	1,65
Стандартне відхилення	0,007	0,013	0,020	0,034	0,039	0,030	0,064	0,003	0,056
Коефіцієнт варіації (%)	2,1	2,0	2,4	2,4	3,3	2,7	3,0	2,7	3,4
Мінімальне значення	0,298	0,611	0,762	1,31	1,03	1,00	1,81	0,113	1,42
Максимальне значення	0,346	0,697	0,925	1,55	1,28	1,20	2,32	0,144	1,75

Відтворюваність. Для оцінки відтворюваності в різні дні було виконано загалом 90 вимірювань для кожного зразка (одна постановка в день). 7 зразків з різною концентрацією аналіту і зразки з набору контролів аналізували в 6 повтореннях на день, протягом 5 робочих днів, на 3 аналізаторах і одній партії реагентів.

Відтворюваність	3	4	5	6	7	8	9	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	90	90	90	90	90	90	90	90	90
Середнє (значення індексу)	0,326	0,660	0,842	1,43	1,19	1,12	2,13	0,130	1,65
Стандартне відхилення	0,011	0,017	0,028	0,046	0,045	0,036	0,072	0,007	0,059
Коефіцієнт варіації (%)	3,4	2,6	3,3	3,2	3,8	3,2	3,4	5,3	3,6
Мінімальне значення	0,298	0,611	0,762	1,31	1,03	1,00	1,81	0,113	1,42
Максимальне значення	0,346	0,697	0,925	1,55	1,28	1,20	2,32	0,144	1,75

15.5. Ефект високодозового насичення

При дослідженні зразків, що містять надзвичайно високі концентрації антитіл, 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 для тесту ЛІЕЙСОН Борелія IgM II оцінювався на основі тестування зразків з високою концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgM. Всі зразки показали значення концентрації, що перевищують діапазон вимірювання, що є очікуваним при високих концентраціях антитіл. Це свідчить про відсутність помилкової класифікації зразків.

16. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

16.1. Діагностична специфічність та чутливість

Діагностичну специфічність та чутливість оцінювали шляхом тестування 229 зразків з різних популяцій, отриманих з центрів забору, розташованих в ендемічних районах (Німеччина). Зразки були протестовані за допомогою декількох методів порівняння, а наявні клінічні та серологічні дані були враховані при визначенні очікуваних результатів.

Діагностична специфічність. 88 рутинних зразків сироватки крові осіб, які проживають в ендемічних щодо бореліозу районах, були визначені як негативні за допомогою референтних тестів (імуоферментний аналіз, імуоблот). У тій самій групі осіб тест ЛІЕЙСОН Борелія IgM II показав негативний результат у 88 з 88 зразків з діагностичною специфічністю 100% (95% довірчий інтервал: 95,9-100%).

Діагностична чутливість. 141 зразок сироватки крові пацієнтів з клінічно вираженим бореліозом Лайма був протестований паралельно на IgM та на IgG. Були отримані наступні дані діагностичної чутливості.

Клінічний стан	Кількість	Результат IgM		Результат IgG		Результати IgM + IgG	
		% позитив.	95% ДІ	% позитив.	95% ДІ	% позитив.	95% ДІ
Хронічна мігруюча еритема	45	46,7	31,6-62,2	80,0	65,4-90,4	88,9	75,9-96,3
Нейробореліоз	57	43,9	30,7-57,7	93,0	83,0-98,1	96,5	87,9-99,6
Артрит	39	25,6	13,0-42,1	97,4	86,5-99,9	97,4	86,5-99,9
Всього	141	39,7	31,6-48,3	90,1	83,9-94,5	94,3	89,1-97,5

Сумнівні результати не були враховані при розрахунку діагностичної чутливості.

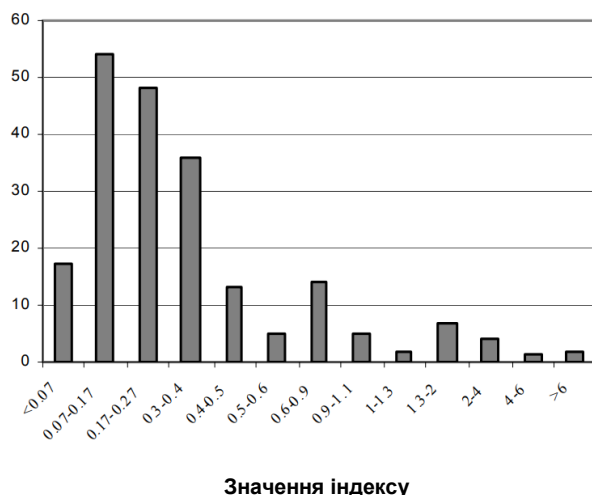
% позитивних = відсоток позитивних зразків; 95% ДІ = 95% довірчий інтервал.

16.2. Проспективне дослідження

У клінічному дослідженні 207 рутинних зразків сироватки були протестовані за допомогою тесту ЛІЕЙСОН Борелія IgM II та імуоферментного аналізу на IgM. Імуоблот-аналіз показав суперечливі результати.

Зразки були зібрані в Німеччині у осіб з підозрою на інфекцію *Borrelia burgdorferi*, які проживали в ендемічній щодо бореліозу місцевості. Виявлена наступна клінічна картина. Структура досліджуваної популяції проілюстрована на графіку нижче.

Результати дослідження на <i>Borrelia burgdorferi</i> IgM		Кількість оцінених зразків (сіра зона: 0,9-1,1 індекс)	Результати імуоблоту		
Результати ЛІЕЙСОН®	Результати ELISA		Негатив.	Сумнівний	Позитив.
негативний	негативний	165	-	-	-
позитивний	позитивний	11	1	2	8
сумнівний	сумнівний	1	0	1	0
негативний	позитивний	11	6	5	0
сумнівний	позитивний	0	-	-	-
сумнівний	негативний	3	3	0	0
позитивний	негативний	5	2	2	1
позитивний	сумнівний	0	-	-	-
негативний	сумнівний	11	9	0	2
Загальна кількість протестованих результатів		207	21	10	11



ЛІТЕРАТУРНІ ПОСИЛАННЯ

W. BURGDORFER, A. BARBOUR, S. HAYES, J. BENACH, E. GRUNWALD, J. DAVIS Lyme disease, a tick-borne spirochetosis? Science, 216: 1317-1319 (1982).

C. EIKEN, V. SHARMA, T. KLABUNDE, M. LAWRENZ, J. HARDMAN, S. NORRIS, J. SACCHETTINI Crystal structure of Lyme disease variable surface antigen VlsE of *Borrelia burgdorferi*. J. Biol. Chem., 277 (24): 21691-21696 (2002).

B.P. FUNG, G.L. McHUGH, J.M. LEONG, A.C. STEERE Humoral immune response to outer surface protein C of *Borrelia burgdorferi* in Lyme disease: role of the immunoglobulin M response in the serodiagnosis of early infection. Infection Immunity, 62 (8): 3213-3221 (1994).

H. GOOSSENS, A. VAN DEN BOGAARD, M. NOHLMANS Evaluation of fifteen commercially available serological tests for diagnosis of Lyme borreliosis. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 18: 551-560 (1999).

W. BURGDORFER, A. BARBOUR, S. HAYES, J. BENACH, E. GRUNWALD, J. DAVIS Lyme disease, a tick-borne spirochetosis? Science, 216: 1317-1319 (1982).

C. EIKEN, V. SHARMA, T. KLABUNDE, M. LAWRENZ, J. HARDMAN, S. NORRIS, J. SACCHETTINI Crystal structure of Lyme disease variable surface antigen VlsE of *Borrelia burgdorferi*. J. Biol. Chem., 277 (24): 21691-21696 (2002).

B.P. FUNG, G.L. McHUGH, J.M. LEONG, A.C. STEERE Humoral immune response to outer surface protein C of *Borrelia burgdorferi* in Lyme disease: role of the immunoglobulin M response in the serodiagnosis of early infection. Infection Immunity, 62 (8): 3213-3221 (1994).

H. GOOSSENS, A. VAN DEN BOGAARD, M. NOHLMANS Evaluation of fifteen commercially available serological tests for diagnosis of Lyme borreliosis. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 18: 551-560 (1999).

U. HAUSER, H. KRAHL, H. PETERS, V. FINGERLE, B. WILSKE Impact of strain heterogeneity on Lyme disease serology in Europe: comparison of ELISA using different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. J. Clin. Microbiol., 36 (2): 427-436 (1998).

U. HAUSER, G. LEHNERT, B. WILSKE Diagnostic value of proteins of three *Borrelia* species (*Borrelia burgdorferi* sensu lato) and implications for development and use of recombinant antigens for serodiagnosis of Lyme borreliosis in Europe. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 5 (4): 456-462 (1998).

- K. INDEST, J. HOWELL, M. JACOBS, D. SCHOLL-MEEKER, S. NORRIS, M. PHILIPP
Analysis of *Borrelia burgdorferi* VlsE gene expression and recombination in the tick vector.
Infection Immunity, 69 (11): 7083-7090 (2001).
- S. JAURIS-HEIPKE, R. FUCHS, M. MOTZ, V. PREAC-MURSIC, E. SCHWAB, E. SOUTSCHEK, G. WILL, B. WILSKE
Genetic heterogeneity of the genes coding for the outer surface protein C (OspC) and the flagellin of *Borrelia burgdorferi*.
Med. Microbiol. Immunol., 182: 37-50 (1993).
- R. KAISER, S. RAUER
Analysis of the intrathecal immune response in neuroborreliosis to a sonicated antigen and three recombinant antigens of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto.
Eur. J. Microbiol. Infect. Dis., 17: 159-166 (1998).
- R. KAISER, S. RAUER
Advantage of recombinant borrelial proteins for serodiagnosis of neuroborreliosis.
J. Med. Microbiol., 48: 5-10 (1999).
- M. LAWRENZ, J. HARDMAN, R. OWENS, J. NOWAKOWSKY, A.C. STEERE, G. WORMSER, S. NORRIS
Human antibody response to VlsE antigenic variation protein of *Borrelia burgdorferi*.
J. Clin. Microbiol., 37 (12): 3997-4004 (1999).
- F. LIANG, E. ABERER, M. CINCO, L. GERN, C. HU, Y. LOBET, M. RUSCIO, P. VOET, V. WEYNANTS, M. PHILIPP
Antigenic conservation of an immunodominant invariable region of the VlsE lipoprotein among European pathogenic genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato.
J. Infect. Dis., 182: 1455-1462 (2000).
- L. MAGNARELLI, M. LAWRENZ, S. NORRIS, E. FIKRIG
Comparative reactivity of human sera to recombinant VlsE and other *Borrelia burgdorferi* antigens in class-specific enzyme-linked immunosorbent assays for Lyme borreliosis.
J. Med. Microbiol., 51: 649-655 (2002).
- J. OHNISHI, J. PIESMAN, A. DE SILVA
Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by ticks.
PNAS, 98 (2): 670-675 (2001).
- S. PADULA, A. SAMPIERI, F. DIAS, A. SZCZEPANSKY, R. RYAN
Molecular characterization and expression of p23 (OspC) from a North American strain of *Borrelia burgdorferi*. *Infection Immunity*, 61 (12): 5097-5105 (1993).
- H. REIBER
Cerebrospinal fluid - physiology, analysis and interpretation of protein patterns for diagnosis of neurological diseases.
Multiple Sclerosis, 4: 99-107 (1998).
- U. SCHULTE-SPECHTEL, G. LEHNERT, G. LIEGL, V. FINGERLE, C. HEIMERL, B. JOHNSON, B. WILSKE
Significant improvement of the recombinant *Borrelia*-specific immunoglobulin G immunoblot test by addition of VlsE and a DbpA homologue derived from *Borrelia garinii* for diagnosis of early neuroborreliosis.
J. Clin. Microbiol., 41 (3): 1299-1303 (2003).
- A.C. STEERE, R. GRODZICKY, A. KOMBLATT, J. CRAFT, A. BARBOUR, W. BURGDORFER, G. SCHMIDT, E. JOHNSON, S. MALAWISTA
The spirochetal etiology of Lyme disease.
N. Engl. J. Med., 308: 733-740 (1983).
- H. TUMANI, G. NÖLKER, H. REIBER
Relevance of cerebrospinal fluid variables for early diagnosis of neuroborreliosis.
Neurology, 45: 1663-1670 (1995).
- G. WANG, A. VAN DAM, I. SCHWARTZ, J. DANKERT
Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological and clinical implications.
Clin. Microbiol. Review, 12 (4): 633-653 (1999).

Додаткові літературні посилання

V. FINGERLE, F. BONELLI, U. SCHULTE-SPECHTEL, AND B. WILSKÉ

Detection of specific intrathecal antibody production in early neuroborreliosis by an IgG-ELISA based on a *Borrelia garinii* VlsE.
Poster presented at the Conference of Lyme Borreliosis and other Tick-borne diseases, Vienna, Sept 2005.

TORBJORN KJERSTADIUS, LOVISA IVARSSON, FREDRIK ARONSSON

Comparison of three commercially available kits for the diagnosis of neuroborreliosis.
Poster presented at 11th Lyme Borreliosis International Conference, Irvine, California, USA, October 19-22, 2008.

A. MARANGONI, V. SAMBRI, S. ACCARDO, F. CAVRINI, V. MONDARDINI, A. MORONI, E. STORNI, R. CEVENINI

A Decrease in the Immunoglobulin G Antibody Response against the VlsE Protein of *Borrelia burgdorferi* Ssensu Lato Correlates with the Resolution of Clinical Signs in Antibiotic-Treated Patients with Early Lyme Disease.
Clinical and Vaccine Immunology, 13: 525-529 (Apr. 2006)

200/007-920, 12 - 2024-07

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: 02.2025



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