



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



Зміни: §4, §6;
Видалення: -

ЛІЕЙСОН Борелія IgG (REF 310880) LIAISON® Borrelia IgG

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Аналіз ЛІЕЙСОН Борелія IgG використовує технологію хемілюмінесцентного імуноаналізу (CLIA) для кількісного визначення специфічних антитіл класу IgG до *Borrelia burgdorferi sensu lato* (включаючи штами *Borrelia burgdorferi sensu strictu*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*) у зразках сироватки, плазми або спинномозкової рідини людини.

Тест слід проводити на аналізаторах сімейства LIAISON® (LIAISON®, LIAISON® XL та LIAISON® XS).

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, таких як шкіра, нервова система, великі суглоби та серцево-судинна система. 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 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.

Як наслідок, для визначення причини захворювання клініцисти покладаються на виявлення антитіл. Задokumentовано, що використання оброблених ультразвуком 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 зовнішнім поверхневим білком 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 VlsE борелій. 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 інфікування. Антигенні варіації поверхневих білків були визначені 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 захищені від прямої атаки імунної системи хазяїна. 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 виражену 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 невеликою кількістю пасажів у культурі *Borrelia burgdorferi*, вирощеної *in vitro*. 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.

Виявлення специфічних антитіл до *Borrelia burgdorferi* у спинномозковій рідині є більш показовим, ніж у сироватці або плазмі крові, і в поєднанні з іншими лабораторними даними вважається доказом наявності інтратекально синтезованих антитіл (тобто нейробореліозу).

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Методом кількісного визначення специфічних IgG до *Borrelia burgdorferi* є непрямий хемілюмінесцентний імуноаналіз (CLIA). Рекомбінантні антигени, специфічні до *Borrelia burgdorferi*, 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 IgG до *Borrelia burgdorferi*, вже зв'язаними з твердою фазою. Після кожної інкубації незв'язаний матеріал видаляється під час циклу промивки.

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 IgG до *Borrelia burgdorferi*, присутню в калібраторах, зразках або контролях.

4. СКЛАД НАБОРУ

Інтеграл реагентів

Магнітні частинки (2,3 мл)	SORB	Магнітні частинки, покриті рекомбінантним антигеном <i>Borrelia burgdorferi</i> VlsE (<i>Borrelia garinii</i> штам pBi) (отриманим в <i>E. coli</i>), BSA, буфер PBS, < 0,1% азиду натрію.
Калібратор 1 (3,8 мл)	CAL1	Сироватка/плазма крові людини, що містить низький рівень IgG до <i>Borrelia burgdorferi</i> , BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin™ 300, інертний жовтий барвник. Концентрації калібатора (AU/ml) відносяться до препарату антитіл власного виробництва.
Калібратор 2 (3,8 мл)	CAL2	Сироватка/плазма крові людини, що містить високий рівень IgG до <i>Borrelia burgdorferi</i> , BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin™ 300, інертний синій барвник. Концентрації калібатора (AU/ml) 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 IgG людини, кон'юговані з похідним ізолюмінолу, BSA, буфер PBS, 0,2% ProClin™ 300, консерванти.
Кількість тестів		100

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

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

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016).	LIAISON® 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).

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

Додаткові матеріали, що не постачаються з набором

Контролі LIAISON® *Borrelia* IgG controls (негативний та позитивний) (**REF** 310881).

Контролі LIAISON® *Borrelia* IgG Liquor controls (негативний та позитивний) (**REF** 310882).

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 піпуйте 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 необхідно поводитися обережно і утилізувати їх відповідно до лабораторних інструкцій та законодавчих положень, що діють у кожній країні. Будь-які матеріали для повторного використання повинні бути належним чином стерилізовані відповідно до місцевих законів та інструкцій. Перевірте ефективність циклу стерилізації/дезінфекції.
- Не використовуйте набори або компоненти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.

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

Реагенти:	CAL1, CAL2, CONJ, DILSPE
Класифікація	Skin sens. 1A H317 Aquatic chronic 3 H412
Сигнальне слово:	Увага
Піктограма:	 GHS07 Знак оклику
Повідомлення про небезпеку:	H317 Може викликати алергічну шкірну реакцію. H412 Довгострокові шкідливі наслідки для водних організмів.
Інформація про заходи безпеки:	P261 Уникайте вдихання пилу/диму/газу/випарів/бризок. P280 Носіть захисні рукавички/захисний одяг/захисні окуляри/захист для обличчя. P273 Уникайте потрапляння в навколишнє середовище. P362 Зніміть забруднений одяг і виперіть перед повторним використанням.
Містить: (тільки речовини, прописані відповідно до статті 18 Регламенту ЄС 1272/2008).	реакційна маса 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он [EC № 247-500-7] та 2-метил-2Н-ізотіазолін-3-он [EC № 220-239-6] (3:1) (ProClin™ 300).

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

7. ПІДГОТОВКА 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 ретельно перемішування з боку в бік може сприяти ресуспендуванню магнітних частинок (уникайте утворення піни). Візуально перевірте дно флакона з магнітними частинками, щоб переконатися, що всі осілі магнітні частинки знову опинилися в суспензії. Ретельно протріть поверхню кожної мембрани, щоб видалити залишки рідини.

Повторюйте за необхідності, поки магнітні частинки не будуть повністю ресуспендовані.

Спінювання реагентів

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

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

Завантаження інтегралу в зону реагентів

Аналізатор ЛІЕЙСОН

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

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та аналізатор ЛІЕЙСОН XS

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

- a. 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 LIAISON® Borrelia IgG та Borrelia IgG Liquor Control Set.

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 контролю знаходяться в межах очікуваних діапазонів.
- Для вже відкритого інтегралу реагентів слід використовувати завжди один і той же аналізатор.
- Для зберігання інтегралу реагентів у вертикальному положенні слід використовувати штатив, що постачається разом з аналізатором.
- Не заморожувати.
- 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 п'ять циклів заморожування-розморожування. Результати не показали суттєвих відмінностей. Мінімальний об'єм, необхідний для одного дослідження, становить 170 мкл з урахуванням мертвого об'єму. Ніяких додаткових маніпуляцій не потрібно, оскільки прилад автоматично розбавляє зразки перед тестуванням.

Зразки спинномозкової рідини. Ліквор слід збирати асептично шляхом люмбальної пункції в той же день, що і сироватку або плазму. 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. Значне забруднення зразків кров'ю може призвести до хибнопозитивних результатів. 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. Вісім зразків з різною реакційною здатністю зберігалися протягом семи днів при 2-8°C і пройшли п'ять циклів заморожування-розморожування. Результати не показали суттєвих відмінностей. Мінімальний об'єм, необхідний для одного визначення, становить 200 мкл зразка з урахуванням 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-мітка) інтегралу реагентів.

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

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Для проведення цього тесту необхідні наступні програми аналізу: **Bor-Gc, Bor-G and BoGCSF.**

Для тестування зразків використовуйте **Bor-G or BoGCSF.**

Ніколи не використовуйте **Bor-Gc.**

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

Для визначення *Borrelia burgdorferi* IgG у зразках сироватки чи плазми крові використовується протокол аналізу **Bor-G.**

Для визначення *Borrelia burgdorferi* IgG у зразках спинномозкової рідини використовується протокол аналізу **BoGCSF.**

Під час проведення аналізу виконуються наступні операції:

Зразки сироватки або плазми	Зразки спинномозкової рідини
1. Дозування покритих антитілами магнітних частинок та розчинника. 2. Дозування калібраторів, контролів або зразків в реакційний модуль. 3. Інкубація. 4. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid. 5. Дозування кон'югату у реакційний модуль. 6. Інкубація. 7. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid. 8. Дозування стартерних реагентів та вимірювання світла, що випромінюється.	1. Дозування покритих антитілами магнітних частинок та розчинника. 2. Дозування контролів або зразків в реакційний модуль. 3. Інкубація. 4. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid. 5. Дозування кон'югату у реакційний модуль. 6. Інкубація. 7. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid. 8. 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® *Borrelia* IgG та *Borrelia* IgG Liquor controls:

(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 контрольні значення, 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* IgG (зразки сироватки або плазми)

Аналізатор автоматично розраховує концентрацію антитіл *Borrelia burgdorferi* IgG, виражену в умовних одиницях (AU/ml), і класифікує результати. Для отримання більш детальної інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.

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

Діапазон вимірювання. Від 5 до 240 AU/ml *Borrelia burgdorferi* IgG.

Зразки, що містять рівні антитіл вище діапазону вимірювання, можуть бути попередньо розведені на аналізаторі за допомогою функції Dilute і повторно протестовані (рекомендований коефіцієнт розведення 1:10). Результати автоматично перемножуються на коефіцієнт розведення для отримання концентрації антитіл в нерозведених зразках. Кількість розчинника для зразків, який входить в інтеграл реагентів, дозволяє виконати до 10 попередніх розведень зразка.

Розведення зразків, що виходять за межі діапазону вимірювання, може призвести до неточності вимірювання через залежну від зразка непаралельну реакцію.

Результати дослідження слід інтерпретувати наступним чином:

Зразки з концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG нижче 10 AU/ml слід оцінювати як *негативні*.

Зразки з концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG в діапазоні від 10 до 15 AU/ml слід оцінювати як **сумнівні**. Сумнівні зразки потрібно 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 з концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG, що дорівнює або перевищує 15 AU/ml, вважаються **позитивними**.

13.2. Інтерпретація результатів для зразків сироватки або плазми крові

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
не виявлено	не виявлено	Відсутність ознак інфекції. У разі клінічної невизначеності (наявності укусу кліща або неврологічних симптомів) за пацієнтом слід спостерігати протягом певного часу.
виявлено	не виявлено	Ймовірне інфікування на ранній стадії.
не виявлено	виявлено	Ймовірна інфекція на будь-якій стадії.
виявлено	виявлено	Ймовірна гостра інфекція.

14. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ СПИННОМОЗКОВОЇ РІДИНИ

14.1. Тест на *Borrelia* IgG (зразки спинномозкової рідини)

Аналізатор автоматично розраховує концентрацію антитіл *Borrelia burgdorferi* IgG, виражену в умовних одиницях (AU/ml), і класифікує результати. Для отримання більш детальної інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.

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

Діапазон вимірювання. Від 0,2 до 240 AU/ml *Borrelia burgdorferi* IgG.

Зразки, що містять рівні антитіл вище діапазону вимірювання, можуть бути попередньо розведені на аналізаторі за допомогою функції Dilute і повторно протестовані (рекомендований коефіцієнт розведення 1:10); якщо результати в розведених зразках все ще перевищують діапазон вимірювання, тестування слід повторити після попереднього розведення зразків у співвідношенні 1:100. Результати автоматично перемножуються на коефіцієнт розведення для отримання концентрації антитіл в нерозведених зразках. Кількість розчинника зразків, який входить в інтеграл реагентів, дозволяє виконати до 10 попередніх розведень зразка.

14.2. Інтерпретація результатів дослідження зразків спинномозкової рідини

Результати досліджень слід інтерпретувати наступним чином (специфічна оцінка матриці цереброспінальної рідини):

Зразки з концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG нижче 4,5 AU/ml слід оцінювати як **негативні**.

Зразки з концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG в діапазоні від 4,5 до 5,5 AU/ml слід оцінювати як **сумнівні**. Сумнівні зразки потрібно 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 з концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG, що дорівнює або перевищує 5,5 AU/ml, вважаються **позитивними**.

Негативний результат на антитіла IgG до *Borrelia burgdorferi* вказує на малу ймовірність інтратекального синтезу антитіл до *Borrelia burgdorferi*. Якщо, незважаючи на негативний результат, існує серйозна підозра на нейробореліоз, рекомендується подальше діагностичне дослідження. Позитивний результат на антитіла IgG до *Borrelia burgdorferi* свідчить про можливий інтратекальний синтез антитіл до *Borrelia burgdorferi*, і, отже, підозру на нейробореліоз.

Позитивні результати можуть спостерігатися у пацієнтів з надзвичайно високим рівнем циркулюючих антитіл до *Borrelia burgdorferi*, а також у пацієнтів, у яких виявлені сироваткові антитіла до *Borrelia burgdorferi*, асоційовані з високою концентрацією альбуміну в спинномозковій рідині. Останнє свідчить про можливе пошкодження гематоенцефалічного бар'єру.

Для більш точної кількісної оцінки синтезу інтратекального імуноглобуліну результати дослідження слід інтерпретувати з урахуванням специфічного співвідношення антитіл у спинномозковій рідині та сироватці крові (CSF/serum Antibody Index). Специфічне виявлення антитіл до *Borrelia burgdorferi* у спинномозковій рідині разом з неврологічними симптомами бореліозу тісно пов'язані з діагнозом нейробореліозу. Інтратекальна присутність специфічних антитіл до *Borrelia burgdorferi* може бути визначена як співвідношення антитіл (Antibody Index, AI, індекс антитіл) у зразках спинномозкової рідини/сироватки крові, одночасно взятих у одного і того ж пацієнта. Цей індекс використовується для диференціації між активним інтратекальним синтезом і пасивною дифузією

специфічних IgG до *Borrelia burgdorferi* із сироватки крові в спинномозкову рідину. Індекс оцінюється з урахуванням концентрації загального IgG в сироватці крові пацієнта (метод Рейбера) та у спинномозковій рідині, в тих самих двох зразках сироватки та CSF, взятих одночасно для визначення IgG до борелії.

Специфічне співвідношення (індекс) антитіл у спинномозковій рідині та сироватці крові розраховується за формулою:

$$\text{Індекс антитіл} = \frac{\text{LIAISON Borrelia IgG в лікворі} / \text{LIAISON Borrelia IgG в сироватці}}{(\text{титр загального IgG в лікворі} / \text{титр загального IgG в сироватці}) * 10^a}$$

Згідно з літературним джерелом (Lange P et al, презентація, представлена на ECCMID Барселона, Іспанія, 2008) нормальний діапазон індексу антитіл становить від 0,7 до 1,3, за умови, що специфічні антитіла до борелій присутні в сироватці крові та відсутні їх інтратекальний синтез. Значення вище 1,5, як правило, вказують на синтез специфічних антитіл до *Borrelia* в ЦНС. Значення нижче 0,7 або між 1,3 і 1,5 є невизначеними, і тест слід повторити з наступною парою зразків.

Результати, отримані за формулою, слід інтерпретувати з обережністю, якщо дози ЛІЕЙСОН Борелія за специфічною оцінкою матриці класифікуються як негативні. Значення індексу антитіл нижче 0,7 може бути пов'язано з розведенням зразків під час тестування. Для встановлення діагнозу при таких невизначених результатах рекомендується провести специфічну оцінку матриці цереброспинальної рідини.

Метод визначення загального IgG та отримані результати повинні бути валідовані лабораторією. Для визначення титру загального IgG як у крові, так і в спинномозковій рідині слід використовувати один і той самий метод. Якщо титр загального IgG близький до нуля, формулу не слід застосовувати через ненадійність розрахунків.

Перед тим, як використовувати наведену вище формулу розрахунку для встановлення діагнозу нейробореліозу, її слід валідувати для використання в лабораторії.

^aНезмінне співвідношення об'єму спинномозкової рідини до об'єму сироватки, що використовується в тесті LIAISON® Borrelia IgG, становить 10.

15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Характеристики аналізу не були встановлені для випадку, коли 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* IgG. 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.

Попереднє розведення зразків спинномозкової рідини може призвести до отримання недостовірних результатів через технічні обмеження, пов'язані з розведенням зразка.

Антибіотикотерапія на ранніх стадіях захворювання часто перешкоджає розвитку імунної відповіді.

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).

16. СПЕЦИФІЧНІ ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

16.1. 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 білірубину) або цикли заморожування-розморожування зразків.

Контрольовані дослідження потенційно інтерферуючих речовин або умов показали, що на результати аналізу зразків спинномозкової рідини не впливають гемоліз (до 1000 мг/дл гемоглобіну) 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. У таблиці нижче наведено результати проведених досліджень.

Клінічний стан	Кількість випадків	Позитивний результат IgG
Перенесена EBV-інфекція	17	1
Сифіліс	48	3
Перенесений токсоплазмоз	14	0
Антинуклеарні антитіла	20	0
Загальна кількість досліджених зразків	99	4

16.2. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН (зразки сироватки та плазми крові)

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

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

Повторюваність	H	I	J	K
Кількість вимірювань	20	20	20	20
Середнє (AU/mL)	1,6	36,4	63,0	135,1
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,18	2,54	2,28	8,64
Коефіцієнт варіації (%)	10,9	7,0	3,6	6,4
Мінімальне значення (AU/mL)	1,4	32,5	59,7	120,3
Максимальне значення (AU/mL)	2,1	41,4	69,0	158,9

Відтворюваність. Для оцінки відтворюваності на одному і тому ж аналізаторі було проведено двадцять вимірювань у різні дні (дві або три постановки на день).

Відтворюваність	H	L	M	N
Кількість вимірювань	20	20	20	20
Середнє (AU/mL)	1,7	16,8	52,9	87,1
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,29	1,67	5,10	8,64
Коефіцієнт варіації (%)	16,9	10,0	9,7	9,9
Мінімальне значення (AU/mL)	1,3	13,9	43,6	71,0
Максимальне значення (AU/mL)	2,5	20,4	64,1	104,9

16.3. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН (зразки спинномозкової рідини)

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

Повторюваність. Для оцінки внутрішньої повторюваності було виконано десять вимірювань в одному циклі.

Повторюваність	1	2	3	4	5	6
Кількість вимірювань	10	10	10	10	10	10
Середнє (AU/mL)	2,77	8,64	35,04	99,54	148,94	195,38
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,05	0,23	0,75	4,30	6,06	9,04
Коефіцієнт варіації (%)	1,74	2,68	2,13	4,32	4,07	4,63
Мінімальне значення (AU/mL)	2,70	8,20	34,00	94,50	141,10	176,70
Максимальне значення (AU/mL)	2,80	9,00	36,50	106,30	157,80	210,80

Відтворюваність. Для оцінки відтворюваності на одному і тому ж аналізаторі було проведено десять вимірювань у різні дні (5 днів, дві постановки на день).

Відтворюваність	1	2	3	4	5	6
Кількість вимірювань	10	10	10	10	10	10
Середнє (AU/mL)	3,10	9,10	33,27	89,51	146,64	175,57
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,54	0,69	3,39	9,39	11,36	15,94
Коефіцієнт варіації (%)	17,34	7,56	10,18	10,49	7,75	9,08
Мінімальне значення (AU/mL)	2,10	7,60	26,90	73,40	131,30	145,20
Максимальне значення (AU/mL)	3,50	9,70	36,70	106,50	165,40	198,80

16.4. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН XL (зразки сироватки та плазми крові)

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

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

Повторюваність	1	2	3	4	5	6	7	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Середнє (AU/mL)	7,253	22,86	24,88	42,35	52,98	88,03	106,4	0,7324	31,70
Стандартне відхилення	0,37	1,51	2,34	2,98	2,58	8,69	10,90	0,056	1,12
Коефіцієнт варіації (%)	5,0	6,6	9,4	7,0	4,9	9,9	10,2	7,6	3,5
Мінімальне значення	6,280	19,76	17,79	35,74	48,55	59,36	80,08	0,5898	29,53
Максимальне значення	7,844	25,45	27,33	47,12	59,04	96,45	118,0	0,8157	33,13

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

Відтворюваність	1	3	8	4	5	6	7	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Середнє (AU/mL)	7,416	28,31	29,24	47,24	61,72	94,58	116,3	0,9386	34,66
Стандартне відхилення	0,41	2,49	1,97	3,00	5,10	11,70	15,35	0,10	2,57
Коефіцієнт варіації (%)	5,5	8,8	6,8	6,4	8,3	12,4	13,2	11,1	7,4
Мінімальне значення	6,592	23,99	25,90	41,44	53,59	69,30	77,96	0,7476	30,84
Максимальне значення	7,959	32,79	34,52	52,23	70,10	125,3	140,5	1,097	39,61

16.5. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН XL (зразки спинномозкової рідини)

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

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

Повторюваність	1	2	3	4	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20	20	20
Середнє (AU/mL)	10,82	21,70	138,1	328,9	0,01491	49,37
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,42	1,29	16,37	23,96	0,020	1,80
Коефіцієнт варіації (%)	3,9	5,9	11,8	7,0	133,4	3,6
Мінімальне значення (AU/mL)	9,822	18,19	96,61	283,1	0,0000	46,48
Максимальне значення (AU/mL)	11,34	23,14	158,2	366,9	0,08103	53,46

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

Відтворюваність	1	2	3	4	Негативний контроль	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	20	20	20	20	20	20
Середнє (AU/mL)	12,05	22,58	135,8	268,1	0,1096	56,54
Стандартне відхилення (AU/mL)	1,38	2,12	34,09	12,53	0,060	3,97
Коефіцієнт варіації (%)	11,5	9,4	25,1	4,7	55,0	7,0
Мінімальне значення (AU/mL)	10,14	18,56	64,03	246,0	0,02772	49,77
Максимальне значення (AU/mL)	15,19	25,93	193,9	295,0	0,2496	61,97

16.6. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН XS (зразки сироватки або плазми крові)

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

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

Зразки могли бути отримані шляхом об'єднання зразків з однієї класифікаційної групи, щоб протестувати негативні, пограничні та позитивні рівні.

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

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

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

Повторюваність.

Повторюваність	8	9	10	11	12	13	Негативний контроль*	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	90	90	90	90	90	90	90	90
Середнє (AU/mL)	6,913	9,812	16,70	29,40	39,94	85,14	1147	29,52
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,161	0,217	0,517	0,680	0,932	2,657	35,73	0,746
Коефіцієнт варіації (%)	2,3	2,2	3,1	2,3	2,3	3,1	3,1	2,5
Мінімальне значення (AU/mL)	6,038	8,913	12,89	26,52	36,30	74,50	1024	25,58
Максимальне значення (AU/mL)	7,668	10,80	17,64	31,02	43,34	92,79	1324	32,14

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

Відтворюваність.

Відтворюваність	8	9	10	11	12	13	Негативний контроль*	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	90	90	90	90	90	90	90	90
Середнє (AU/mL)	6,913	9,812	16,70	29,40	39,94	85,14	1147	29,52
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,190	0,263	0,593	0,772	1,104	3,009	60,38	1,001
Коефіцієнт варіації (%)	2,7	2,7	3,6	2,6	2,8	3,5	5,3	3,4
Мінімальне значення (AU/mL)	6,038	8,913	12,89	26,52	36,30	74,50	1024	25,58
Максимальне значення (AU/mL)	7,668	10,80	17,64	31,02	43,34	92,79	1324	32,14

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

16.7. Прецизійність. Аналізатор ЛІЕЙСОН® XS (зразки спинномозкової рідини)

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

Для дослідження використовували кодовану панель, що складалась з 3 заморожених зразків.

Зразки могли бути отримані шляхом об'єднання зразків з однієї класифікаційної групи, щоб протестувати негативні, пограничні та позитивні рівні.

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

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

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

Повторюваність.

Повторюваність	5	6	7	Негативний контроль*	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	90	90	90	90	90
Середнє (AU/mL)	7,055	32,23	108,7	400	51,06
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,148	0,866	5,901	18,15	1,764
Коефіцієнт варіації (%)	2,1	2,7	5,4	4,5	3,5
Мінімальне значення (AU/mL)	6,403	27,33	71,37	357	42,14
Максимальне значення (AU/mL)	7,536	34,19	122,5	462	55,43

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

Відтворюваність.

Відтворюваність	5	6	7	Негативний контроль*	Позитивний контроль
Кількість вимірювань	90	90	90	90	90
Середнє (AU/mL)	7,055	32,23	108,7	400	51,06
Стандартне відхилення (AU/mL)	0,201	0,961	6,280	24,27	2,080
Коефіцієнт варіації (%)	2,9	3,0	5,8	6,1	4,1
Мінімальне значення (AU/mL)	6,403	27,33	71,37	357	42,14
Максимальне значення (AU/mL)	7,536	34,19	122,5	462	55,43

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

16.8. Істинність вимірювання (зразки сироватки або плазми крові)

Істинність результатів тесту ЛІЕЙСОН Борелія IgG перевірена за допомогою тесту на розведення.

Тест на розведення. Чотири зразки сироватки з високою концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG були протестовані як без розведення, так і після серійних розведень Розчинником для зразків. Виміряні концентрації *Borrelia burgdorferi* IgG у порівнянні з очікуваними концентраціями були проаналізовані за допомогою лінійної регресії. Коефіцієнти кореляції (r) варіюють від 0,995 до 0,999.

Розведення	Очікувана концентрація, AU/mL	Виміряна концентрація, AU/mL	% Відновлення	Розведення	Очікувана концентрація, AU/mL	Виміряна концентрація, AU/mL	% Відновлення
Без розв.	—	112,5	—	Без розв.	—	144,3	—
1:2	56,3	43,8	78,0	1:2	72,2	60,6	84,0
1:4	28,1	23,9	85,0	1:4	36,1	32,1	89,0
1:8	14,1	13,7	97,0	1:8	18,0	19,7	109,0
1:16	7,0	6,4	91,0	1:16	9,0	7,7	85,0
1:32	3,5	2,7	77,0	1:32	4,5	3,0	67,0
Без розв.	—	176,6	—	Без розв.	—	184,0	—
1:2	88,3	99,0	112,0	1:2	92,0	84,4	92,0
1:4	44,2	45,4	103,0	1:4	46,0	48,8	106,0
1:8	22,1	22,4	101,0	1:8	23,0	24,4	106,0
1:16	11,0	9,9	90,0	1:16	11,5	13,7	119,0
1:32	5,5	4,4	80,0	1:32	5,8	6,4	111,0
				1:64	2,9	2,6	90,0

16.9. Істинність вимірювання (зразки спинномозкової рідини)

Істинність результатів тесту ЛІЕЙСОН Борелія IgG перевірена за допомогою тесту на розведення.

Тест на розведення. Чотири зразки спинномозкової рідини з високою концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG були протестовані як без розведення, так і після серійних розведень Розчинником для зразків. Виміряні концентрації *Borrelia burgdorferi* IgG у порівнянні з очікуваними концентраціями були проаналізовані за допомогою лінійної регресії. Коефіцієнти кореляції (r) варіюють від 0,997 до 0,999.

Розведення	Очікувана концентрація, AU/mL	Виміряна концентрація, AU/mL	% Відновлення	Розведення	Очікувана концентрація, AU/mL	Виміряна концентрація, AU/mL	% Відновлення
Без розв.	–	141,0	–	Без розв.	–	141,9	–
1:2	70,5	78,3	111,1	1:2	71,0	67,2	94,7
1:4	35,3	43,1	122,3	1:4	35,5	31,3	88,2
1:8	17,6	23,0	130,5	1:8	17,7	16,7	94,2
1:16	8,8	12,2	138,4	1:16	8,9	8,0	90,2
1:32	4,4	6,1	138,4	1:32	4,4	3,0	67,7
1:64	2,2	2,2	99,9				
Без розв.	–	184,7	–	Без розв.	–	196,4	–
1:2	92,4	85,1	92,1	1:2	98,2	101,2	103,1
1:4	46,2	40,3	87,3	1:4	49,1	56,8	115,7
1:8	23,1	20,4	88,4	1:8	24,6	26,4	107,5
1:16	11,5	10,1	87,5	1:16	12,3	14,4	117,3
1:32	5,8	4,6	79,7	1:32	6,1	7,0	114,1
				1:64	3,1	2,8	91,2

16.10. 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 IgG оцінювався на основі тестування зразків з високою концентрацією *Borrelia burgdorferi* IgG: трьох зразків сироватки крові та чотирьох зразків спинномозкової рідини.

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

17. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

17.1. Діагностична специфічність та чутливість (зразки сироватки або плазми крові)

Діагностичну специфічність та чутливість оцінювали шляхом тестування 394 зразків з різних популяцій, отриманих з центрів забору, розташованих в ендемічних районах (Німеччина та Північно-Східна Італія). Зразки були протестовані за допомогою декількох методів порівняння, а наявні клінічні та серологічні дані були враховані при визначенні очікуваних результатів.

Діагностична специфічність. 100 рутинних зразків сироватки крові осіб, які проживають в ендемічних щодо бореліозу районах, були визначені як негативні за допомогою референтних тестів (імуноферментний аналіз, Вестерн блот). У тій самій групі осіб тест ЛІЕЙСОН Борелія IgG показав негативний результат з діагностичною специфічністю 98,0% (95% довірчий інтервал: 93,0-100%).

Діагностична чутливість. 294 зразки сироватки крові пацієнтів з клінічно охарактеризованим бореліозом Лайма були протестовані з використанням тесту Борелія IgG. Були отримані наступні дані діагностичної чутливості.

Клінічний стан	Кількість випадків	Результат IgG	
		% позитивних	95% ДІ
Хронічна мігруюча еритема	98	66,3	56,1-75,5
Нейробореліоз	87	90,8	82,7-95,9
Артрит	109	93,6	87,2-97,4
Всього	294	83,7	78,9-87,7

Сумнівні результати не були враховані при розрахунку діагностичної чутливості.

17.2. Діагностична узгодженість (зразки спинномозкової рідини)

У клінічному дослідженні 209 рутинних зразків спинномозкової рідини були протестовані на наявність *Borrelia burgdorferi* IgG з використанням тесту ЛІЕЙСОН Борелія IgG та референтного імуноферментного аналізу. Індекси антитіл не були розраховані, результати зразків інтерпретовані відповідно до специфічної оцінки матриці спинномозкової рідини. Зразки не були клінічно охарактеризовані, але були відібрані у осіб, що мешкали в ендемічній щодо бореліозу місцевості (Німеччина) і обстежувались з підозрою на інфекцію *Borrelia burgdorferi*. П'ять зразків були позитивними і 194 - негативними в обох тестах, два зразки були негативними в порівняльному імуноферментному аналізі і позитивними в ЛІЕЙСОН, і п'ять зразків були позитивними в порівняльному імуноферментному аналізі і негативними в ЛІЕЙСОН. Три зразки були сумнівними в одному або обох тестах і тому не були включені в аналіз даних. Діагностична узгодженість становила 96,6% (199/206) - 95% довірчий інтервал: 93,1-98,6%.

В іншому клінічному дослідженні 27 зразків спинномозкової рідини були протестовані за допомогою тесту ЛІЕЙСОН Борелія IgG та референтного імуноферментного аналізу. Зразки були відібрані у пацієнтів з клінічно вираженим нейробореліозом. 26 зразків були позитивними в обох тестах, а один зразок був негативним при визначенні порівняльним імуноферментним методом та позитивним з використанням ЛІЕЙСОН. Діагностична узгодженість склала 96,3% (26/27) - 95% довірчий інтервал: 81,0-99,9%.

17.3. Діагностична узгодженість за індексом антитіл

У клінічному дослідженні 90 пар зразків спинномозкової рідини та сироватки крові, взятих під час рутинного обстеження в німецькій лікарні, були проаналізовані за допомогою кількісних аналізів ЛІЕЙСОН Борелія IgG та IgM, а також референтного кількісного ІФА (з маркуванням SE). Зразки не були клінічно ідентифіковані, але були відібрані у осіб, що мешкали в ендемічній щодо бореліозу місцевості (Німеччина) і обстежувались з підозрою на інфекцію *Borrelia burgdorferi*. 50 пар зразків продемонстрували значення індексу антитіл вище 1,5 при тестуванні референтним методом ІФА, як для IgG, так і для IgM. З цих 50 пар для 34 пар продемонстрована збіжність результатів за індексами антитіл IgG та IgM, отриманими методом ІФА та за допомогою ЛІЕЙСОН (Таблиця 1). Для 16 пар збіжність відсутня (Таблиця 2). Для 1 пари зразків не вдалося провести повне визначення, тому пару було виключено з розрахунків. 39 пар зразків мали індекс антитіл <1,5 або

концентрації *Borrelia* IgG та IgM у спинномозковій рідині, які не можна визначити ні за допомогою референтного методу ІФА, ні за допомогою кількісного аналізу ЛІЕЙСОН Борелія.

Таблиця 1

Індекс антитіл ІФА		Результати, що збігаються між ІФА та ЛІЕЙСОН	Індекс антитіл ЛІЕЙСОН	
IgG +	IgM +	26	IgG +	IgM +
IgG +	IgM -	8	IgG +	IgM -
IgG -	IgM +	0	IgG -	IgM +
IgG -	IgM -	39	IgG -	IgM -

Таблиця 2

Індекс антитіл ІФА		Результати, що не збігаються між ІФА та ЛІЕЙСОН	Індекс антитіл ЛІЕЙСОН	
IgG +	IgM +	1	IgG +	IgM -
IgG +	IgM -	10	IgG +	IgM +
IgG +	IgM -	1	IgG -	IgM -
IgG -	IgM +	1	IgG +	IgM +
IgG -	IgM +	1	IgG +	IgM -
IgG -	IgM +	1	IgG -	IgM -
IgG -	IgM -	1	IgG -	IgM +

Виходячи з цих результатів, діагностична чутливість для визначення індексу антитіл в парах зразків сироватки крові/спинномозкової рідини для тесту ЛІЕЙСОН Борелія IgG становить 97,8% (45/46, 95% довірчий інтервал: 88,5 - 99,9%), в той час як діагностична специфічність становить 95,3% (41/43, 95% довірчий інтервал: 84,2 - 99,4%).

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).
- 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. WILSKE
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.

V. FINGERLE, S. MATHES, U. SCHULTE-SPECHTEL, G. JINLIANG, C. HIZO-TEUFEL
Evaluation of a CLIA test for detection of *Borrelia burgdorferi* specific IgM-antibody production in cerebrospinal fluid. Poster presented at the ECCMID, Barcelona-Spain, Apr 2008.

PETER LANGE, ANNETTE SPREER, ROLAND NAU
Quantification of the synthesis of antibodies against *Borrelia burgdorferi*-specific antigens in the cerebrospinal fluid by chemiluminescent (CLIA) and enzyme immunoassay (EIA).
Poster presented at the ECCMID, Barcelona-Spain, Apr 2008.

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* Sensitive to Correlates with the Resolution of Clinical Signs in Antibiotic-Treated Patients with Early Lyme Disease.
Clinical and Vaccine Immunology, 13 : 525-529 (Apr. 2006).

200/007-881, 12 - 2024-03

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: 07.2024



ДіаСорін Інк.

1951 Нортвестерн Авеню, Стілловотер, MN55082, США
DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue, Stillwater, MN 55082, USA



Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «ЛАБСЕППОРТ»

01133, місто Київ, б. Лесі Українки, будинок 34, Україна
Тел: +380673234344, E-mail: info@labsupport.com.ua

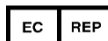
Відповідальна особа у Великобританії:

DiaSorin Italia S.p.A.

UK Branch Central Road Dartford Kent DA1 5LR UK

ДіаСорін Італія С.п.А. ЮК Бренч

Централ Род, Дартфорд, ДА1 5ЛР, Велика Британія



DiaSorin Italia S.p.A.

Via Crescentino snc, 13040 Saluggia (VC), Italy

ДіаСорін Італія С.п.А.

Віа Кресцентіно, снс, 13040 Салуджа (ВК), Італія