

LIAISON® *Borrelia* IgM II (310010) IgM к боррелии

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Качественное определение специфических IgM к возбудителю боррелиоза *Borrelia burgdorferi sensu lato* (включая штаммы *Borrelia burgdorferi sensu strictu*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*) в человеческой сыворотке или плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов серии LIAISON®.

Использовать только для “in vitro” диагностики.

2. ВВЕДЕНИЕ

Обнаруженная в 1982 году бактерия *Borrelia burgdorferi* является этиологическим возбудителем боррелиоза Лайма, болезни, передающейся посредством различных видов клещей рода Иксодовых. Боррелиоз Лайма представляет собой мультисистемное нарушение, способное затронуть ряд органов, таких как кожа, нервная система, суставы и сердечно-сосудистая система. Даже несмотря на то, что спирохета – возбудитель болезни Лайма – вызывает мощный иммунный ответ, *Borrelia* выживает и остается в кровотоке инфицированных пациентов. Подобно сифилису, течение болезни Лайма можно разделить на несколько клинических стадий, от ранней до поздней инфекции:

- Стадия 1: поражение кожи в месте укуса клеща; ранняя инфекция с локализованной экзантемой (хроническая мигрирующая эритема), которая при отсутствии лечения может перейти в рассеянную инфекцию.
- Стадия 2: неврологические нарушения (нейроборрелиоз).
- Стадия 3: артрит, который может наблюдаться и через несколько лет после инфицирования.

Схожесть клинических симптомов боррелиоза Лайма и прочих не связанных с ним болезней вызывает значительный клинический интерес. Диагностика боррелиоза на основании клинических признаков может быть затруднена, особенно в отсутствии в анамнезе сведений о клещевом укусе или хронической мигрирующей эритеме. Помимо этого, болезнь может протекать бессимптомно вплоть до последней стадии. Когда хроническая мигрирующая эритема отсутствует, клинические проявления боррелиоза схожи с симптомами гранулоцитарного эрлихиоза человека, что может стать причиной ошибочного диагноза, особенно в случае совпадения географических зон распространения заболеваний.

Вследствие всего выше сказанного клиницисты для постановки диагноза используют определение антител. С использованием обработанных ультразвуком клеток *Borrelia burgdorferi* была продемонстрирована возможность получения ложноположительных результатов из-за перекрестной реактивности специфических антител с белками, имеющими большую степень гомологии с различными бактериальными патогенами, особенно *Treponema pallidum*, возбудителя сифилиса. Диагностические тесты, использующие в качестве антигена лизаты бактериальных клеток, даже полученные при разрушении клеток различных штаммов *Borrelia burgdorferi*, часто не позволяют получить определенные результаты на ранней стадии инфицирования.

В наборах реактивов LIAISON® *Borrelia* используются специфические рекомбинантные антигены *Borrelia burgdorferi*, полученные в *E.coli*, для увеличения точности диагностики болезни Лайма. Среди отличительных черт набора реактивов LIAISON® *Borrelia* IgM Quant следует отметить то, что поверхность твердой фазы покрыта белком внешней стороны оболочки бактерии OspC, иммунодоминантным антигеном для синтеза IgM во время ранней фазы инфекции, а также недавно выявленным антигеном боррелии VlsE (variable major protein-like sequence, expressed; варибельная большая белок-подобная последовательность, экспрессированная). Магнитные частицы набора LIAISON® *Borrelia* IgG покрыты только антигеном VlsE. VlsE представляет собой липопротеин внешней стороны оболочки клетки, которая, как считается, играет основную роль в формировании иммунного ответа в ходе болезни Лайма. Молекула антигена состоит из консервативных (образующих трансмембранные домены *in vivo*), варибельных и постоянных участков (экспонированных на внешнюю сторону бактериальной мембраны). Варибельные участки постоянно претерпевают изменения в аминокислотной последовательности за счет рекомбинации во время инфицирования. Было показано, что антигенные вариации поверхностных белков являются важным механизмом уклонения от иммунного ответа. Шесть постоянных участков (IR 1-6) располагаются внутри варибельного домена и сохраняются неизменными среди всех штаммов и генотипов *Borrelia burgdorferi (sensu lato)*. У живой спирохеты рода *Borrelia* постоянные участки маскированы варибельными, и, тем самым, защищены от атак иммунной системы хозяина. Бактериальная клетка обрабатывается с помощью антиген-презентирующих клеток. Что интересно, постоянные участки являются иммунодоминантными антигенами в развитии иммунного ответа в ходе боррелиоза Лайма. Иммунная система больных боррелиозом Лайма постоянно и в большом количестве продуцирует антитела против VlsE, даже на ранней стадии заболевания. Рекомбинантный VlsE является наиболее подходящим маркером для лабораторной диагностики раннего и позднего иммунного ответа на боррелиоз Лайма и отличается высокой диагностической специфичностью и чувствительностью. Определение специфических антител к *Borrelia burgdorferi* в СМЖ имеет большую диагностическую значимость по сравнению с определением в сыворотке и плазме и в совокупности с другими лабораторными показателями считается маркером интраэкально-синтезируемых антител (т.е. нейроборрелиоза).

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод качественного определения специфических IgM к *Borrelia burgdorferi* представляет собой непрямой хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Рекомбинантные антигены, специфичные для *Borrelia burgdorferi*, связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза), мышинные моноклональные антитела к человеческим IgM мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время первой инкубации IgM к *Borrelia burgdorferi*, присутствующие в калибраторах, образцах и контролях связываются с твердой фазой. Во время второй инкубации молекулы конъюгата антител взаимодействуют со специфическими IgM, иммобилизованными на твердой фазе. После каждой инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются запускающие реактивы, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции,

измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию IgM к *Borrelia burgdorferi* в калибраторах, контролях и пробах.

4. СОСТАВ НАБОРА

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые рекомбинантными антигенами <i>Borrelia burgdorferi</i> OspC и VlsE (полученными в <i>E.coli</i>); БСА; фосфатно-солевой буфер; <0,1% азид натрия.
Калибратор 1 (0,9 мл)	Человеческая сыворотка/плазма; содержащая низкую концентрацию IgM к антигенам <i>Borrelia burgdorferi</i> ; БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; инертный краситель (желтый). Концентрация подтверждена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Калибратор 2 (0,9 мл)	Человеческая сыворотка/плазма; содержащая высокую концентрацию IgM к антигенам <i>Borrelia burgdorferi</i> ; БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; инертный краситель (синий). Концентрация подтверждена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin.
Раствор для разведения образцов (28 мл)	БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; инертный краситель (желтый).
Конъюгат (23 мл)	Мышинные моноклональные антитела к человеческим IgM, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолуминолом); БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; консерванты.
Количество тестов	100

Все реактивы готовы к использованию. Расположение реагентов в таблице отражает расположение контейнеров в картридже с реактивами.

Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
Кюветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL(каталожный номер 319200). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025) Набор растворов для обслуживания игл дозаторов и мощней станции (каталожный номер 310995).	Реакционные модули (каталожный номер 319130). Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 310990).

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

Контроль IgM к боррелии колич./ IgM к боррелии II (положительный и отрицательный) (каталожный номер 310011)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Только для *In vitro* диагностики.

Все образцы человеческой сыворотки/плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, а также HBs-антигена и были признаны отрицательно реагирующими в вышеуказанных тестах. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с набором, как с потенциально инфекционным.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику в лаборатории, где проводятся анализы.

Не переливайте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая защитную одежду, такую как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. В конце каждого анализа тщательно мойте руки.


Избегайте всплесков или образования аэрозолей. Любую утечку биологического реагента следует смыть с помощью раствора гипохлорита натрия с 0,5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.


Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в анализе, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты. С отходами следует обращаться с осторожностью и утилизировать их в соответствии с лабораторными нормами и нормами законов, действующими в стране. Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и нормами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

В соответствии с Положением ЕС 1272/2008 (CLP - классификация, маркировка и упаковка), опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом:

РЕАГЕНТЫ:	[CAL1], [CAL2], [DIL/SPE], [CONJ]
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Сенсибилизация кожи 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Внимание

ОБОЗНАЧЕНИЕ / ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 – Восклицательный знак
ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ:	H317 Может вызывать аллергическую реакцию на коже.
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:	P261 Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/испарений/аэрозоля. P280 Надевать защитные перчатки /защитную одежду/средства защиты глаз/ средства защиты лица. P363 Стирать загрязненную одежду перед повторным использованием.
СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные согласно Статье 18 Постановления ЕС 1272/2008).	реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [EC № 247-500-7] и 2-метил-2Н -изотиазол-3-он [EC № 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

В соответствии с Положением ЕС 1272/2008 (CLP - классификация, маркировка и упаковка)  маркируется как EUN210; по запросу доступны паспорта безопасности.

Дополнительную информацию смотрите в паспортах безопасности, доступных на сайте: www.diasorin.com.

7. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц. После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов. Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

Установка интеграла в область загрузки реактивов

Анализатор LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.

б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно не менее **4 недель** при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора. По окончании данного срока возможно использование интеграла в случае, если результаты измерения концентрации IgM к антигенам боррелии в контрольных сыворотках лежат внутри

допустимого диапазона.

9. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Сыворотка или плазма. Цитрат, ЭДТА и гепарин могут быть использованы в качестве антикоагулянтов. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузырьки с ее поверхности.

Стабильность: 7 дней при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. 10 проб с различной реактивностью хранились 7 дней при температуре 2-8°C, после чего были 4 раза заморожены-разморожены. Полученные результаты существенно не отличались друг от друга.

Минимально необходимый объем 180 µл (30 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

10. КАЛИБРОВКА

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла.

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 1 недели с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Анализатор LIAISON®: значения концентраций калибраторов содержатся в штрих-коде интеграла.

Анализатор LIAISON® XL: значения концентраций калибраторов содержатся в радиочастотной метке.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

Анализатор LIAISON®. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации с штрих-кода не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Анализатор LIAISON® XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Процедура анализа пробы сыворотки/плазмы, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Разведение проб дилуентом.
2. Раскапывание калибраторов, контролей или разведенных проб в кюветы реакционного модуля.
3. Добавление раствора для разведения образцов.
4. Добавление магнитных частиц.
5. Инкубация.
6. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
7. Добавление конъюгата.
8. Инкубация.
9. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
10. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно, хорошей лабораторной практикой является их ежедневное измерение вместе с пробами пациентов и после проведения калибровки.

Для проведения внутреннего контроля качества можно использовать контрольные сыворотки LIAISON® Borrelia IgM control (каталожный номер 310011):

(a) минимум один раз в день использования интеграла,

(b) в начале использования нового интеграла реагентов

(c) после калибровки интеграла

(d) в начале использования нового лота запускающих реактивов

(e) для оценки рабочих характеристик интеграла через 4 недели после вскрытия или в соответствии с требованиями местных регулирующих органов.

Если результаты измерения контрольных сывороток выходят за допустимые пределы, необходимо повторно провести калибровку методики и измерение контрольных материалов. Если после успешной повторной калибровки результаты измерения контрольных сывороток по-прежнему выходят за допустимые пределы, необходимо провести контроль качества с использованием новых флаконов контрольных материалов. Если и в этом случае результаты контрольных измерений выходят за допустимые пределы, то результаты анализа проб пациентов недостоверны и их нельзя сообщать пациентам.

Перед использованием других контрольных материалов необходимо оценить возможность их использования с данным набором реактивов, после чего необходимо установить подходящие пределы допустимых значений.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

13.1 Исследование Borrelia IgM

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию IgM к антигенам боррелии в индексах. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя. Результаты измерений калибраторов и контролей анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL в относительных световых единицах (RLU) или концентрационных единицах могут различаться, но результаты анализов проб пациентов будут одинаковыми

Измеряемый диапазон. 0,1-6 значения индекса.

Пороговое значение для дифференцировки отрицательных и положительных проб составляет 1,0 индекс. Пробы с концентрацией IgM к антигенам боррелии **ниже 0,9 индекса** должны расцениваться, как **отрицательные**.

Пробы с концентрацией IgM к антигенам боррелии **от 0,9 до 1,1 индекса** должны расцениваться, как **сомнительные** («серая зона»). *Сомнительные пробы должны быть исследованы повторно. Пробы, результат повторного измерения которых положителен, должны расцениваться, как положительные. Пробы, результат повторного измерения которых отрицателен, должны расцениваться, как отрицательные. Если результат повторного измерения сомнительный, то необходимо провести повторный забор крови не позднее 1 недели после получения первого результата.*

Пробы с концентрацией IgM к антигенам боррелии **выше или равной 1,1 индекса** должны расцениваться, как **положительные**.

13.2 Интерпретация результатов

Отрицательный результат на IgM и/или IgG к антигенам *Borrelia burgdorferi* обычно указывает на отсутствие инфицирования, но не всегда исключает возможность недавнего заражения, так как на ранних стадиях инфицирования синтез IgM может не наблюдаться или количество синтезируемых IgM не определяемо. Специфические IgM легче всего определить на ранней стадии инфекции; на более поздних стадиях их количество постепенно снижается. Стоит подчеркнуть, что на протяжении нескольких недель после инфицирования результат измерения IgM будет отрицательным. Если, несмотря на отрицательный результат, остается подозрение о возможности инфицирования, необходимо провести повторное исследование пробы через 1-2 недели.

Положительный результат на IgM и/или IgG к антигенам боррелии обычно свидетельствует о контакте с патогеном (острая или прошедшая инфекция). Однако единичная проба может только помочь оценить серологический статус

пациента. Изолированный положительный результат на IgM относительно часто наблюдается на ранних стадиях заболевания и редко на более поздних. Изолированный положительный результат на IgG может свидетельствовать как о болезни Лайма в активном состоянии, так и о прошедшей инфекции с персистирующими антителами (см. таблицу ниже).

Результат IgM к антигенам <i>Borrelia burgdorferi</i>	Результат IgG к антигенам <i>Borrelia burgdorferi</i>	Интерпретация
отрицательный	отрицательный	Нет признаков инфекции. В случае клинической неопределенности (наличие укуса клеща или неврологических симптомов), пациент должен находиться под наблюдением в течение некоторого времени
положительный	отрицательный	Возможная инфекция, ранняя стадия
отрицательный	положительный	Возможная инфекция, любая стадия
положительный	положительный	Возможная острая инфекция

14. ОГРАНИЧЕНИЯ

Характеристики набора реактивов не были определены при использовании с наборами других производителей для определения специфических серологических маркеров *Borrelia burgdorferi*. В этом случае пользователи должны сами определить характеристики метода.

Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов.

Бактериальная контаминация или нагревание пробы могут повлиять на результат исследования.

Не рекомендуется использовать результат одного теста для постановки диагноза на наличие инфекции. При постановке диагноза результаты всегда следует рассматривать вместе с другими диагностическими и клиническими исследованиями.

Прием антибиотиков на ранних стадиях заболевания обычно препятствует выработке антител в ответ на инфекцию.

В случае изолированного положительного результата на IgM к боррелии необходимо исключить наличие в крови пациента ревматоидного фактора и признаков инфекционного мононуклеоза. Поликлональная стимуляция В-лимфоцитов во время инфекционного мононуклеоза, в действительности, может привести к неспецифической индукции синтеза антител к *Borrelia burgdorferi*, особенно класса IgM.

Запрещается переставлять интегралы между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца.

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

15.1 Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность можно определить, как способность теста безошибочно выявлять специфический аналит в присутствии потенциально мешающих факторов в матриксе пробы (например, антикоагулянтов, гемолиза, результата обработки пробы) или перекрестно-реагирующих антител.

Интерференция. Контролируемые исследования потенциально мешающих факторов или условий в пробах сыворотки и плазмы продемонстрировали, что характеристики теста не менялись в присутствии антикоагулянтов (цитрат натрия, ЭДТА, гепарин), гемолиза (вплоть до концентрации гемоглобина 10 мг/мл), липемии (вплоть до концентрации триглицеридов 30 мг/мл), билирубинемии (вплоть до концентрации билирубина 0,2 мг/мл), а также под воздействием циклов замораживания и оттаивания.

Перекрестная реактивность. Как правило, присутствие потенциальной перекрестной реактивности антител в плазме

или сыворотке не мешает проведению исследования. Были исследованы следующие антитела: (а) иммуноглобулины к различным инфекционным возбудителям, таким как вирус Эпштейна-Барр, *Treponema pallidum* или *Toxoplasma gondii* - (b) антиядерные (ANA) антитела и антитела к ревматоидному фактору (иммуноглобулин anti-Fc). Суммарные результаты исследований представлены в таблице ниже.

Клиническое состояние	Кол-во случаев	Положительные/сомнительные результаты по IgM
Острое первичное инфицирование вирусом Эпштейна-Барра	10	0
Сифилис	5	0
Острое первичное инфицирование токсоплазмозом	14	0
Антиядерные антитела	16	0
Ревматоидный фактор	10	0
Общее кол-во исследованных проб	55	0

15.2 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON®

Различные пробы, содержащие различные концентрации специфического анализатора, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариативности внутри серии и между сериями). Вариативность, приведенная в таблицах ниже, не привела к ошибочной классификации проб. Эти данные отражают результаты внутренних исследований и не могут приниматься за референсные, так как возможны различия между лабораториями и местностями.

Повторяемость. Для оценки воспроизводимости было выполнено 20 одновременных повторов.

Повторяемость	A	B	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20
Среднее (индекс)	0,571	1,45	0,145	2,27
Стандартное отклонение	0,026	0,081	0,010	0,16
Коэффициент вариации (%)	4,7	5,6	7,3	7,1
Минимальное значение	0,519	1,20	0,127	2,00
Максимальное значение	0,610	1,56	0,163	2,55

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости было выполнено 20 повторов в различные дни (1-2 повтора в день).

Воспроизводимость	A	B	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20
Среднее (индекс)	0,654	1,53	0,163	2,59
Стандартное отклонение	0,065	0,087	0,017	0,21
Коэффициент вариации (%)	9,9	5,7	10,3	8,0
Минимальное значение	0,531	1,35	0,113	2,21
Максимальное значение	0,818	1,69	0,193	2,94

15.3 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL

Различные пробы, содержащие различные концентрации специфического анализатора, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариативности внутри серии и между сериями). Эти данные отражают результаты внутренних исследований и не могут приниматься за референсные, так как возможны различия между лабораториями и местностями.

Повторяемость и воспроизводимость. Для оценки повторяемости было выполнено 20 повторов в одной серии; для оценки воспроизводимости было выполнено 20 повторов в разные дни (1-2 в день) на одном приборе.

Повторяемость	1	2	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20
Среднее (индекс)	0,537	1,50	0,107	2,05
Стандартное отклонение	0,012	0,038	0,0031	0,090
Коэффициент вариации (%)	2,2	2,6	2,9	4,4
Минимальное значение	0,510	1,44	0,0999	1,89
Максимальное значение	0,555	1,58	0,112	2,24

Воспроизводимость	1	2	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20
Среднее (индекс)	0,608	1,51,0,	0,125	2,10
Стандартное отклонение	0,046	11	0,0062	0,15
Коэффициент вариации (%)	7,6	7,6	5,0	7,1
Минимальное значение	0,496	1,24	0,113	1,77
Максимальное значение	0,723	1,69	0,132	2,32

15.4 Эффект высокой дозы

При исследовании проб с крайне высокой концентрацией антител может наблюдаться эффект насыщения, при котором реальная концентрация в значительной мере превышает измеренную. Однако оптимизированный двухстадийный метод позволяет исключить существенное занижение результатов, так как аналитический сигнал остается пропорционально высоким (кривая насыщения).

Оценка эффекта насыщения была проведена путем исследования четырех положительных по тесту на IgM к антигенам боррелии II проб. Результат анализа, как и ожидалось, превышал верхнюю границу измеряемого диапазона и, значит, не привел к ошибочной классификации пробы.

16. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

16.1 Диагностическая специфичность и чувствительность

Диагностическая специфичность и чувствительность были определены путем исследования 229 проб из различных отобранных популяций, поступивших из центров забора образцов, расположенных в эндемичных районах Германии. Пробы были исследованы несколькими методами и эти результаты наряду с доступными клиническими и серологическими данными были использованы для классификации исследованных проб.

Диагностическая специфичность. 88 проб сыворотки крови пациентов живущих в зоне эндемичной для боррелиоза были определены референсными тестами как отрицательные (ферментативное иммуноисследование, иммуноблот). В этой же группе тестом LIAISON®Borrelia IgM II было определено как отрицательные 88 проб из 88, с диагностической чувствительностью 100% (95% доверительный интервал 95,9-100%).

Диагностическая чувствительность. 141 проба сыворотки крови пациентов с клинически установленной болезнью Лайма было проанализировано в параллели с помощью тестов LIAISON® Borrelia IgM II и IgG. Были получены следующие ниже результаты.

Клиническое состояние	Кол-во	Результаты по IgM		Результаты по IgG		Результаты по IgM + IgG	
		Положительные, %	95% доверительный интервал	Положительные, %	95% доверительный интервал	Положительные, %	95% доверительный интервал
Хроническая мигрирующая эритема	45	46,7	31,6-62,2	80,0	65,4-90,4	88,9	75,9-96,3
Нейроборрелиоз	57	43,9	30,7-57,7	93,0	83,0-98,1	96,5	87,9-99,6
Артриты	39	25,6	13,0-42,1	97,4	86,5-99,9	97,3	86,5-99,9
Всего	141	39,7	31,6-48,3	90,1	83,9-94,5	94,3	89,1-97,5

16.2 Пропроспективные исследования (пробы сыворотки и плазмы)

Клинически было исследовано 207 проб с помощью тестов LIAISON®Borrelia IgM Quant и ферментативного иммуноисследования IgM. Пробы собраны у пациентов из Германии с подозрением на инфицирование *Borrelia burgdorferi* и проживающих в зоне эндемичной для боррелиоза. Были исследованы следующие клинические образцы. Распределение ожидаемой популяции представлено на графике ниже.

Образцы с результатами на антитела IgM к <i>Borrelia burgdorferi</i>		Кол-во проб (серая зона: 0,9-1,1 индекса)	Иммуноблот, кол-во результатов		
LIAISON®	ELISA		Отрицательные	Сомнительные	Положительные
-	-	155	-	-	-
+	+	11	1	2	8
±	±	1	0	1	0
-	+	11	6	5	0
±	+	0	-	-	-
±	-	3	3	0	0
+	-	5	2	2	1
+	±	0	-	-	0
-	±	11	9	0	2
Общее количество исследованных образцов		207	30	11	11

