



LIAISON® Borrelia IgG(310880) IgG к боррелии

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение специфических IgG к возбудителю боррелиоза *Borrelia burgdorferi (sensu lato)* в человеческой сыворотке, плазме и спинномозговой жидкости (СМЖ) методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализатора LIAISON®.

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; переменная 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 *in vivo* трансмембранные домены), переменных и постоянных участков (экспонированных на внешнюю сторону бактериальной мембраны). Переменные 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 переменной домена и сохраняются неизменными среди всех штаммов и генотипов *Borrelia burgdorferi (sensu lato)*. У живой спирохеты рода *Borrelia* постоянные участки маскированы переменными, 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 интратекально-синтезируемых антител (т.е. нейроборрелиоза).

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения специфических IgG к антигенам *Borrelia burgdorferi* представляет собой непрямой 2-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Рекомбинантные антигены, специфичные для *Borrelia burgdorferi*, связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза), мышинные моноклональные антитела к человеческим IgG мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время первой инкубации IgG к *Borrelia burgdorferi*, присутствующие в калибраторах, образцах и контролях, связываются с твердой фазой. Во время второй инкубации молекулы конъюгата антител взаимодействуют со специфическими IgG, 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 IgG к *Borrelia burgdorferi* в калибраторах, контролях и пробах.

4. СОСТАВ НАБОРА

| | |
|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Магнитные частицы (2,3 мл) | Магнитные частицы, покрытые рекомбинантным антигеном <i>Borrelia burgdorferi</i> VisE (полученным в <i>E.coli</i>); БСА; фосфатно-солевой буфер; <0,1% азид натрия. |
| Калибратор 1 (3,8 мл) | Человеческая сыворотка/плазма; содержащая низкую концентрацию IgG к антигенам <i>Borrelia burgdorferi</i> ; БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; инертный краситель (желтый). Концентрация (ОЕ/мл) подтверждена с использованием внутреннего стандарта DiaSorin. |
| Калибратор 2 (3,8 мл) | Человеческая сыворотка/плазма; содержащая высокую концентрацию IgG к антигенам <i>Borrelia burgdorferi</i> ; БСА; фосфатный буфер; 0,2% ProClin® 300; инертный краситель (синий). Концентрация (ОЕ/мл) 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) | Мышиные моноклональные антитела к человеческим IgG, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолуминолом); БСА; фосфатно-солевой 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

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Анализаторы LIAISON® XL | Анализаторы 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 IgG к боррелии (положительный и отрицательный) (каталожный номер 310881)

Контроль IgG к боррелии в ликворе (положительный и отрицательный) (каталожный номер 310882)

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 ешьте, не пейте, не курите и не применяйте косметику в лаборатории проведения анализа.

Не пипетируйте ртом.


Избегайте прямого контакта с потенциально инфицированным материалом, предварительно надев лабораторную одежду, защитные очки и одноразовые перчатки. Тщательно мойте руки после каждого анализа.

Избегайте разбрызгивания или выделения аэрозолей. Все капли биологического реагента должны быть удалены раствором гипохлорита натрия, содержащего 0,5% активного хлора, а используемые средства должны рассматриваться как зараженные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для анализа, должны рассматриваться как потенциально способные передавать возбудителей инфекционных заболеваний. Отходы должны обрабатываться с осторожностью и утилизироваться в соответствии с лабораторными инструкциями и нормативными положениями, действующими в каждой стране. Любые материалы для повторного использования должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и инструкциями. Проверьте эффективность цикла стерилизации/ дезактивации.

Не используйте наборы или компоненты после срока, указанного на этикетке.

В соответствии с нормами ЕС 1272/2008 (CLP) опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом:

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| РЕАГЕНТЫ: | CAL1, CAL 2, CONJ , DILSPE |
| КЛАССИФИКАЦИЯ | Чувствительность кожи 1 H317 |
| СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО: | Предупреждение |
| СИМВОЛЫ ПИКТО-ГРАММЫ: |  GHS07 Восклицательный знак |
| ОПАСНОСТЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ: | H317 Может вызвать аллергическую реакцию кожи. |
| ИНФОРМАЦИЯ О МЕРАХ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ: | P261 Избегать вдыхания пыли / дыма / газа / тумана / паров / спрея. P280 Надеть защитные перчатки / защитную одежду / средства защиты глаз / средства защиты лица. P363 Перед повторным использованием постирать загрязненную одежду. |
| СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные в соответствии со Статьей 18 Регламента ЕС 1272/2008) | реакционная масса: 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он [ЕС № 247- 500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС № 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300). |

В соответствии с Законом ЕС 1272/2008 (CLP), SORB обозначается как EUN210 в паспортах безопасности вещества, которые предоставляются по запросу. Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности вещества 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

КОНТРОЛЬ

Обратитесь к инструкции по применению LIAISON® Borrelia IgG и Borrelia IgG для контроля правильного приготовления. и инструкции по обработке.

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. Запрещается использование одного интеграла на разных анализаторах.

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 пузыри 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 5 раз заморожены-разморожены. Полученные результаты существенно не отличались друг от друга.

Минимально необходимый объем 170 µл (20 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

Спинальная жидкость. Ликвор должен быть отобран асептически путем поясничной пункции в тот же день, что и сыворотка/плазма. 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. Значительное загрязнение пробы кровью может привести к получению ложноположительных результатов. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузыри 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. 8 проб с различной реактивностью хранились 7 дней при температуре 2-8°C, после чего были 5 раз заморожены-разморожены. Полученные результаты существенно не отличались друг от друга.

Минимально необходимый объем 200 µл (50 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

Дополнительные манипуляции с пробой не требуются, так как перед исследованием анализатор автоматически разводит пробу СМЖ в соотношении 1:5.

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 негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Анализатор LIAISON® XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Название файла исследования для методики измерения концентрации IgG к боррелии в сыворотке или плазме **Bor-G**.

Название файла исследования для методики измерения концентрации IgG к боррелии в СМЖ **BoGCSF**.

Анализатор работает следующим образом:

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Сыворотка или плазма | Цереброспинальная жидкость |
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Внесите калибраторы, контроли или образцы в реакционный модуль. 2. Распределите покрытые магнитные частицы. 3. Распределите образец разбавителя. 4. Инкубировать. 5. Промойте с помощью жидкости Wash / System. 6. Внесите конъюгат в реакционный модуль. 7. Инкубировать. 8. Промойте с помощью жидкости Wash / System. 9. Добавьте стартовый комплект и измерьте излучаемый свет. | <ol style="list-style-type: none"> 1. Внесите контроли или образцы в реакционный модуль. 2. Распределите покрытые магнитные частицы. 3. Распределите образец разбавителя. 4. Инкубировать. 5. Промойте с помощью жидкости Wash / System. 6. Внесите конъюгат в реакционный модуль. 7. Инкубировать. 8. Промойте с помощью жидкости Wash / System. 9. Добавьте стартовый комплект и измерьте излучаемый свет. |

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли LIAISON® следует запускать по отдельности для контроля эффективности анализа. Контроль качества должен выполняться с помощью LIAISON® Borrelia IgG и Borrelia IgG Liquor.

- (а) по крайней мере, один раз в день использования,
- (б) всякий раз, когда используется новый интеграл реагентов,
- (с) всякий раз, когда набор калибруется,
- (д) всякий раз, когда используется новая партия стартовых реагентов,
- (е) оценить адекватность работы открытого интеграла за пределами четырех недель или в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций.

Контрольные значения должны лежать в ожидаемых диапазонах: всякий раз, когда один или оба контрольных элемента находятся вне ожидаемых диапазонов, калибровку следует повторять, а контрольные повторно проверять. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, неоднократно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, испытание следует повторить с использованием неоткрытого контрольного флакона. Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты пациента не должны быть сообщены.

Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным анализом перед их использованием. Затем следует установить соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ (СЫВОРОТКА ИЛИ ПЛАЗМА)

13.1 Исследование Borrelia IgG (сыворотка или плазма)

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию IgG к антигенам боррелии в ОЕ/мл (относительных единица в миллилитре). За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя.

Измеряемый диапазон: 5-240 ОЕ/мл IgG к антигенам боррелии.

Пробы с концентрацией антител выше верхнего предела измеряемого диапазона могут быть автоматически разведены анализатором с помощью функции Dilute (разведение) и исследованы повторно (рекомендуемый фактор разведения 1:10). Полученный результат будет автоматически умножен на фактор разведения. Количество раствора для разведения образцов в интеграле достаточно для 10 предварительных разведений (помимо того количества раствора для разведения образцов, которое требуется для проведения теста, как такового).

Пробы с концентрацией IgG к антигенам боррелии ниже 10 ОЕ/мл должны расцениваться, как отрицательные.

Пробы с концентрацией IgG к антигенам боррелии от 10 до 15 ОЕ/мл 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 IgG к антигенам боррелии выше или равной 15 ОЕ/мл должны расцениваться, как положительные.

13.2 Интерпретация результатов (сыворотка или плазма)

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. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ (СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ)

14.1 Исследование Borrelia IgG (спинномозговая жидкость)

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию IgG к антигенам боррелии в ОЕ/мл (относительных единица в миллилитре). За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя.

Измеряемый диапазон: 0,2-240 ОЕ/мл IgG к антигенам боррелии.

Пробы с концентрацией антител выше верхнего предела измеряемого диапазона могут быть автоматически разведены анализатором с помощью функции Dilute (разведение) и исследованы повторно (рекомендуемый фактор разведения 1:10, если такого разведения недостаточно – используйте разведение 1:100). Полученный результат будет автоматически умножен на фактор разведения. Количество раствора для разведения образцов в интеграле достаточно для 10 предварительных разведений (помимо того количества раствора для разведения образцов, которое требуется для проведения теста, как такового).

Пробы с концентрацией IgG к антигенам боррелии ниже 4,5 ОЕ/мл должны расцениваться, как отрицательные.

Пробы с концентрацией IgG к антигенам боррелии от 4,5 до 5,5 ОЕ/мл 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 IgG к антигенам боррелии выше или равной 5,5 ОЕ/мл должны расцениваться, как положительные.

14.2 Интерпретация результатов (спинномозговая жидкость)

Результаты могут быть интерпретированы следующим образом (специфическая интерпретация матрицы ЦСЖ):

Образцы с концентрацией IgG Borrelia burgdorferi ниже 4,5 Е / мл должны быть оценены как отрицательные.

Образцы с концентрациями IgG Borrelia burgdorferi в диапазоне от 4,5 до 5,5 Е / мл должны оцениваться как неопределенные. Неопределенные образцы должны быть повторно протестированы, чтобы подтвердить первоначальный результат. Образцы, которые являются положительными во втором тесте, должны считаться положительными. Образцы, которые являются отрицательными во втором тесте, следует считать отрицательными. Второй образец должен быть собран и протестирован не менее чем через неделю после первого анализа.

Образцы с концентрациями IgG Borrelia burgdorferi, равными или превышающими 5,5 Е / мл, должны оцениваться как положительные.

Отрицательный результат для антител IgG к Borrelia burgdorferi указывает на маловероятный интратекальный синтез антител к Borrelia burgdorferi.

антитела. Если нейроборрелиоз сильно подозревается, несмотря на отрицательные результаты, предлагается дальнейшее диагностическое исследование. Положительный результат для антител IgG к Borrelia burgdorferi свидетельствует о возможном интратекальном синтезе антител к Borrelia burgdorferi: поэтому подозревается нейроборрелиоз.

Положительные результаты могут наблюдаться у пациентов с чрезвычайно высоким уровнем циркулирующих антител Borrelia burgdorferi, а также у пациентов с положительными сывороточными антителами Borrelia burgdorferi, связанными с высокими концентрациями альбумина в спинномозговой жидкости. Последнее обнаружение предполагает возможное повреждение барьера между кровью и спинномозговой жидкостью.

Для более надежной количественной оценки интратекального синтеза иммуноглобулина результаты пробы следует интерпретировать, ссылаясь на специфический индекс антител к ЦСЖ / сыворотке. Специфическое обнаружение антител к Borrelia burgdorferi в ЦСЖ, наряду с неврологическими симптомами боррелиоза, тесно связано с диагнозом нейроборрелиоз. Присутствие интратекальных специфических антител Borrelia burgdorferi можно определить как индекс антител (AI) посредством анализа образца крови и образца ЦСЖ, одновременно взятых у одного и того же пациента. Этот индекс используется для дифференциации между активным интратекальным синтезом и пассивной диффузией специфического IgG Borrelia burgdorferi из сыворотки в ЦСЖ. AI оценивается с учетом общей концентрации IgG в сыворотке пациентов (метод Reiber) и ЦСЖ в тех же двух образцах (пара сыворотки и ЦСЖ, одновременно взятых у одного и того же пациента), где проводится определение Borrelia IgG.

Индекс специфических CSF / сывороточных антител можно определить по формуле:

$$\text{Индекс антител} = \frac{\text{LIAISON® Borrelia IgG ЦСЖ} / \text{LIAISON® Borrelia IgG в сыворотке}}{(\text{Общий титр IgG в ЦСЖ} / \text{общий титр IgG в сыворотке}) * 10^a}$$

В соответствии со ссылкой (Lange P et al., Плакат, представленный в ECCMID Barcelona Spain 2008), нормальный диапазон IA (AI) составляет от 0,7 до 1,3, при условии, что специфические для боррелий антитела присутствуют в сыворотке и не происходит интратекального синтеза. Значения выше 1,5 обычно указывают на синтез специфических для Borrelia антител в ЦНС. Значения ниже 0,7 или от 1,3 до 1,5 неопределенные, и испытание следует повторить с другой парой образцов.

Вывод формулы расчета, когда дозы LIAISON Borrelia классифицируются как отрицательные с использованием матричной интерпретации результатов, следует интерпретировать с осторожностью. Значения индекса антител ниже 0,7 могут быть связаны с установленными разведениями образцов, использованными для тестирования. Особая интерпретация матрицы ЦСЖ рекомендуется для решения диагностической классификации для этих неопределенных результатов.

Используемый метод определения общего IgG и полученный титр должны быть подтверждены лабораторией. Один и тот же метод следует использовать для определения общего IgG в крови и в ЦСЖ. Когда общий титр IgG близок к нулю, формула не должна применяться из-за ненадежных расчетов.

Приведенная выше формула расчета должна быть подтверждена для использования лабораторией до определения диагноза нейроборрелиоз.

Инвариабельное отношение объема спинномозговой жидкости к объему сыворотки, используемое в тесте LIAISON® Borrelia IgG, составляет 10.

15. ОГРАНИЧЕНИЯ

Характеристики набора реактивов не были определены при использовании с наборами других производителей для выявления 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 обмениваться интегралами между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца. Запрещается оценивать динамику концентрации IgG к чЦМБ по результатам, полученным на разных типах анализаторов. Такие измерения должны быть выполнены на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

16. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

16.1 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. Контролируемые исследования потенциально мешающих факторов или условий в пробах спинномозговой жидкости продемонстрировали, что характеристики теста не менялись в присутствии гемолиза (вплоть до концентрации гемоглобина 10 мг/мл) или под воздействием циклов замораживания и оттаивания.

Перекрестная реактивность: как правило, присутствие потенциальной перекрестной реактивности антител в плазме или сыворотке не мешает проведению исследования. Исследованные антитела: (а) иммуноглобулины к различным инфекционным возбудителям, таким как вирус Эпштейна-Барр, *Treponema pallidum* или *Toxoplasma gondii* - (б) антиядерные (ANA) антитела и антитела к ревматоидному фактору (иммуноглобулин anti-Fc). В приведенной ниже таблице представлены суммарные проведенные исследования.

| Клиническое состояние | Количество случаев | Положительный результат на IgG |
|-------------------------------------|--------------------|--------------------------------|
| Прошедшая инфекция Эпштейна-Барра | 17 | 1 |
| Сифилис | 48 | 3 |
| Прошедшая токсоплазмоз | 14 | 0 |
| Антиядерные антитела | 20 | 0 |
| Общее количество исследованных проб | 99 | 4 |

16.2 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® (пробы сыворотки или плазмы)

Различные пробы, содержащие различные концентрации специфического аналита, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности 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 (2, 3 в день) на одном приборе.

| | Повторяемость | | | | Воспроизводимость | | | |
|--------------------------------|---------------|------|------|-------|-------------------|------|------|-------|
| | H | I | J | K | H | L | M | N |
| Количество измерений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее (ОЕ /мл) | 1,6 | 36,4 | 63,0 | 135,1 | 1,7 | 16,8 | 52,9 | 87,1 |
| Стандартное отклонение (ОЕ/мл) | 0,18 | 2,54 | 2,28 | 8,64 | 0,29 | 1,67 | 5,10 | 8,64 |
| Коэффициент вариации (%) | 10,9 | 7,0 | 3,6 | 6,4 | 16,9 | 10,0 | 9,7 | 9,9 |
| Минимальное значение (ОЕ/мл) | 1,4 | 32,5 | 59,7 | 120,3 | 1,3 | 13,9 | 43,6 | 71,0 |
| Максимальное значение (ОЕ/мл) | 2,1 | 41,4 | 69,0 | 158,9 | 2,5 | 20,4 | 64,1 | 104,9 |

16.3 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® (пробы спинномозговой жидкости)

Различные пробы, содержащие различные концентрации специфического анализатора, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности 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. Для оценки повторяемости было выполнено 10 повторов в одной серии.

| Повторяемость | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------------------------------|------|------|-------|--------|--------|--------|
| Количество измерений | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Среднее (ОЕ /мл) | 2,77 | 8,64 | 35,04 | 99,54 | 148,94 | 195,38 |
| Стандартное отклонение (ОЕ/мл) | 0,05 | 0,23 | 0,75 | 4,30 | 6,06 | 9,04 |
| Коэффициент вариации (%) | 1,74 | 2,68 | 2,13 | 4,32 | 4,07 | 4,63 |
| Минимальное значение (ОЕ/мл) | 2,70 | 8,20 | 34,00 | 94,50 | 141,10 | 176,70 |
| Максимальное значение (ОЕ/мл) | 2,80 | 9,00 | 36,50 | 106,30 | 157,80 | 210,80 |

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости было выполнено 10 повторов в разные дни (2 в день) на одном приборе.

| Воспроизводимость | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------------------------------|-------|------|-------|--------|--------|--------|
| Количество измерений | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Среднее (ОЕ /мл) | 3,10 | 9,10 | 33,27 | 89,51 | 146,64 | 175,57 |
| Стандартное отклонение (ОЕ/мл) | 0,54 | 0,69 | 3,39 | 9,39 | 11,36 | 15,94 |
| Коэффициент вариации (%) | 17,34 | 7,56 | 10,18 | 10,49 | 7,75 | 9,08 |
| Минимальное значение (ОЕ/мл) | 2,10 | 7,60 | 26,90 | 73,40 | 131,30 | 145,20 |
| Максимальное значение (ОЕ/мл) | 3,50 | 9,70 | 36,70 | 106,50 | 165,40 | 198,80 |

16.4 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL (пробы сыворотки или плазмы)

Различные пробы, содержащие различные концентрации специфического анализатора, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности 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 (2, 3 в день) на одном приборе.

| Повторяемость | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | Отрицательный контроль | Положительный контроль |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------------|------------------------|
| Количество измерений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее (ОЕ /мл) | 7,253 | 22,86 | 24,88 | 42,35 | 52,98 | 88,03 | 106,4 | 0,7324 | 31,70 |
| Стандартное отклонение (ОЕ/мл) | 0,37 | 1,51 | 2,34 | 2,58 | 2,58 | 8,69 | 10,90 | 0,056 | 1,12 |
| Коэффициент вариации (%) | 5,0 | 6,6 | 9,4 | 4,9 | 4,9 | 9,9 | 10,2 | 7,6 | 3,2 |
| Минимальное значение (ОЕ/мл) | 6,280 | 19,76 | 17,79 | 48,55 | 48,55 | 59,36 | 80,08 | 0,5898 | 29,53 |
| Максимальное значение (ОЕ/мл) | 7,844 | 25,45 | 27,33 | 59,04 | 59,04 | 96,45 | 118,0 | 0,8157 | 33,13 |

| Воспроизводимость | 1 | 3 | 8 | 4 | 5 | 6 | 7 | Отрицательный контроль | Положительный контроль |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------------|------------------------|
| Количество измерений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее (ОЕ /мл) | 7,416 | 28,31 | 29,24 | 47,24 | 61,72 | 94,58 | 116,3 | 0,9386 | 34,66 |
| Стандартное отклонение (ОЕ/мл) | 0,41 | 2,49 | 1,97 | 3,00 | 5,1 | 11,7 | 15,35 | 0,10 | 2,57 |
| Коэффициент вариации (%) | 5,5 | 8,8 | 6,8 | 6,4 | 8,3 | 12,4 | 13,2 | 11,1 | 7,4 |
| Минимальное значение (ОЕ/мл) | 6,592 | 23,99 | 25,90 | 41,44 | 53,59 | 69,30 | 77,96 | 0,7476 | 30,84 |
| Максимальное значение (ОЕ/мл) | 7,959 | 32,79 | 34,52 | 52,23 | 70,10 | 125,3 | 140,5 | 1,097 | 39,61 |

16.5 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL (пробы спинномозговой жидкости)

Различные пробы, содержащие различные концентрации специфического анализатора, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности 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. Для оценки повторяемости было выполнено 20 повторов в одной серии.

| Повторяемость | 1 | 2 | 3 | 4 | Отрицательный контроль | Положительный контроль |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|------------------------|------------------------|
| Количество измерений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее (ОЕ /мл) | 10,82 | 21,70 | 138,1 | 328,9 | 0,01491 | 49,37 |
| Стандартное отклонение (ОЕ/мл) | 0,42 | 1,29 | 16,37 | 23,96 | 0,020 | 1,80 |
| Коэффициент вариации (%) | 3,9 | 5,9 | 11,8 | 7,0 | 133,4 | 3,6 |
| Минимальное значение (ОЕ/мл) | 9,822 | 18,19 | 96,61 | 283,1 | 0,0000 | 46,48 |
| Максимальное значение (ОЕ/мл) | 11,34 | 23,14 | 158,2 | 366,9 | 0,08103 | 53,46 |

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости было выполнено 20 повторов в разные дни (один или два в день) на одном приборе.

| Воспроизводимость | 1 | 2 | 3 | 4 | Отрицательный контроль | Положительный контроль |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|------------------------|------------------------|
| Количество измерений | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Среднее (ОЕ /мл) | 12,05 | 22,58 | 135,8 | 268,1 | 0,1096 | 56,54 |
| Стандартное отклонение (ОЕ/мл) | 1,38 | 2,12 | 34,09 | 12,53 | 0,060 | 3,97 |
| Коэффициент вариации (%) | 11,5 | 9,4 | 25,1 | 4,7 | 55,0 | 7,0 |
| Минимальное значение (ОЕ/мл) | 10,14 | 18,56 | 64,03 | 246,0 | 0,02772 | 49,77 |
| Максимальное значение (ОЕ/мл) | 15,19 | 25,93 | 193,9 | 295,0 | 0,2496 | 61,97 |

16.6 Правильность исследования (пробы сыворотки или плазмы)

Точность исследования была проверена с помощью разбавления.

Тест разведения. Четыре пробы сыворотки содержащие высокую концентрацию специфических IgG к антигенам *Borrelia burgdorferi* были исследованы до и после разведения дилуентом. Сравнение ожидаемой концентрации специфических IgG измеренной после разведения было выполнено методом линейной регрессий. Коэффициент корреляции (r) был от 0,995 до 0,999.

| Степень разбавления | Ожидаемая концентрация, ОЕ /мл | Измеренная концентрация, ОЕ /мл | Восстановление, % | Степень разбавления | Ожидаемая концентрация, ОЕ /мл | Измеренная концентрация, ОЕ /мл | Восстановление, % |
|---------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| - | - | 112,5 | - | - | - | 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 |
| - | - | 176,6 | - | - | - | 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 |

16.7 Правильность исследования (пробы спинномозговой

жидкости) Точность исследования была проверена с помощью разбавления.

Тест разведения. Четыре пробы сыворотки содержащие высокую концентрацию специфических IgG к антигенам *Borrelia burgdorferi* были исследованы до и после разведения дилуентом. Сравнение ожидаемой концентрации специфических IgG измеренной после разведения было выполнено методом линейной регрессий. Коэффициент корреляции (r) был от 0,997 до 0,999.

| Степень разбавления | Ожидаемая концентрация, ОЕ /мл | Измеренная концентрация, ОЕ /мл | Восстановление, % | Степень разбавления | Ожидаемая концентрация, ОЕ /мл | Измеренная концентрация, ОЕ /мл | Восстановление, % |
|---------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| - | - | 141,0 | - | - | - | 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 | | | | |
| - | - | 184,7 | - | - | - | 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 |

16.8 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 трех положительных по тесту на IgG к антигенам

боррелии проб сыворотки и четырех проб спинномозговой жидкости с высоким титром. Результат анализа, как и ожидалось, превышал верхнюю границу измеряемого диапазона и, значит, не привел к ошибочной классификации пробы.

17. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

17.1 Диагностическая специфичность и чувствительность (пробы сыворотки и плазмы)

Диагностическая специфичность и чувствительность были определены путем исследования 394 проб из различных отобранных популяций. Пробы были исследованы несколькими методами и эти результаты наряду с доступными клиническими и серологическими данными были использованы для классификации исследованных проб.

Диагностическая специфичность. 100 проб сыворотки от пациентов живущих в зоне эндемичной для боррелиоза были определены референсными тестами как отрицательные (ферментативное иммуноисследование, Вестерн-блот). В этой же группе тестом LIAISON®Borrelia IgG так же были выявлены отрицательные пробы с диагностической чувствительностью 98,0% (95% доверительный интервал 93,0-100%).

Диагностическая чувствительность. 294 пробы сыворотки от пациентов с клинически установленной болезнью Лайма было проанализировано в параллели с помощью тестов LIAISON®Borrelia IgG. Были получены следующие результаты по чувствительности.

| Клиническое состояние | Кол-во | Результаты по IgG | |
|---------------------------------|--------|-------------------|----------------------------|
| | | Положительные, % | 95% доверительный интервал |
| Хроническая мигрирующая эритема | 98 | 66,3 | 56,1-75,5 |
| Нейроборрелиоз | 87 | 90,8 | 82,7-95,9 |
| Артриты | 109 | 93,6 | 87,2-97,4 |
| Всего | 294 | 83,7 | 78,9-87,7 |

Сомнительные результаты при расчете диагностической чувствительности не учитывались.

17.2 Диагностическая конкордантность (пробы спинномозговой жидкости)

Клинически было исследовано 209 проб спинномозговой жидкости с помощью теста LIAISON®Borrelia IgG, а так же референсного метода ферментативного иммуноисследования. Пробы не были клинически охарактеризованы, но собирались у пациентов с подозрением на инфицирование *Borrelia burgdorferi* и проживающих в зоне эндемичной для боррелиоза. 5 проб были определены как положительные и 194 как отрицательные в обоих методах. 2 пробы определились как отрицательные в референсном методе и положительные на LIAISON®. 5 проб определились как положительные в референсном методе и отрицательные на LIAISON®. 3 пробы оказались сомнительными на одном или обоих тестах, в следствие чего были исключены из статистического анализа. Диагностическая специфичность составила 96,6% (199/206) - 95% доверительный интервал: 93,1-98,6%.

В другом клиническом исследовании, 27 проб спинномозговой жидкости взятых у пациентов с клинически определенным нейроборрелиозом были проанализированы с помощью теста LIAISON®Borrelia IgG, а так же референсного метода ферментативного иммуноисследования. 5 проб были определены как положительные и 194 как отрицательные в обоих методах. 26 проб были определены как положительные обоими тестами и 1 проба определилась как отрицательная в референсном методе и положительная на LIAISON®. Диагностическая чувствительность составила 96,3% (26/27) - 95% доверительный интервал: 81,0-99,9%.

17.3. Диагностическое соответствие по индексу антител

В клиническом исследовании 90 пар ЦСЖ и образцов сыворотки крови из рутинного анализа в немецкой больнице были проанализированы с помощью количественных анализов LIAISON® Borrelia IgG и IgM и эталонным количественным анализом ELISA (с маркировкой CE). Образцы не были клинически охарактеризованы, но были отобраны у субъектов, исследованных на предмет подозрения на инфекцию *Borrelia burgdorferi*, живущих в эндемичном для боррелиоза районе (Германия). 50 пар образцов показали увеличение AI выше 1,5 по эталонному методу ELISA, либо для IgG, либо для IgM. Из этих 50 пар 34 были классифицированы согласованно по индексам антител IgG и IgM с помощью анализов ELISA и LIAISON® (таблица 1), а 16 - нет (таблица 2). Для 1 пары образцов было невозможно выполнить определения, и, следовательно, пара была исключена из расчетов. 39 пар образцов имели AI <1,5 или неопределяемые концентрации Borrelia IgG и IgM в CSF, ни с помощью эталонного метода ELISA, ни с помощью количественных анализов LIAISON® Borrelia.

Таблица 1

| AI ИФА | | Равные результаты между обоими анализами | AI LIAISON® | |
|--------|-------|------------------------------------------|-------------|-------|
| IgG + | IgM + | | IgG + | IgM + |
| IgG + | IgM - | 8 | IgG + | IgM - |
| IgG - | IgM + | 0 | IgG - | IgM + |
| IgG - | IgM - | 39 | IgG - | IgM - |

Таблица 2

| AI ELISA | | Несоответствующие результаты между обоими анализами | AI LIAISON® | |
|----------|-------|-----------------------------------------------------|-------------|-------|
| IgG + | IgM + | | 1 | IgG + |
| 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 + |

На основании этих результатов диагностическая чувствительность, полученная для определения ИИ на парах образцов сыворотки / ЦСЖ для анализа LIAISON® Borrelia IgG, составила 97,8% (45/46, 95% доверительный интервал: 88,5-99,9%), тогда как полученная диагностическая специфичность составила 95,3% (41/43, 95% доверительный интервал: 84,2-99,4%).