



LIAISON® Borrelia IgM Quant (310020) IgM к боррелии (колич.)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение специфических IgM к возбудителю боррелиоза *Borrelia burgdorferi sensu lato* (включая штаммы *Borrelia burgdorferi sensu strictu*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*) в человеческой сыворотке, плазме и спинномозговой жидкости (СМЖ) методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки 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; 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 интратекально-синтезируемых антител (т.е. нейроборрелиоза).

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения специфических IgM к *Borrelia burgdorferi* представляет собой не прямой хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Рекомбинантные антигены, специфичные для *Borrelia burgdorferi*, связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза), мышиные 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 OspC (<i>Borrelia afzelii</i> pKo) и VlsE (<i>Borrelia garinii strain pBi</i>), (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 (ОЕ/мл) 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 (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 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).	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 XL (каталожный номер X0025) Набор растворов для обслуживания игл дозаторов и моющей станции (каталожный номер 310995).	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)
Контроль IgM к боррелии в ликворе (положительный и отрицательный) (каталожный номер 310012)

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, DILSPE, 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) **[SORB]** 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 перемешает 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 перемешает 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.

Невыскранные 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 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 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).

Спинномозговая 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 4 раза 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.

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.

Название метод-файла для методики измерения концентрации IgM к боррелии в сыворотке или плазме **Bor-MQ**.
Название метод-файла для методики измерения концентрации IgM к боррелии в СМЖ **BorMCSF**.

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

1. Добавление раствора для разведения образцов
2. Раскапывание калибраторов, контролей и 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.

Процедура анализа пробы ликвора, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление раствора для разведения образцов.
3. Добавление магнитных частиц.
4. Инкубация
5. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
6. Добавление конъюгата.
7. Инкубация
8. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
9. 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 Liquor control (каталожный номер 310012):

- (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 (СЫВОРОТКА ИЛИ ПЛАЗМА)

• Исследование Borrelia IgM (сыворотка или плазма)

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

Измеряемый диапазон. 2-190 ОЕ/мл IgM 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 IgM к антигенам боррелии **ниже 18 ОЕ/мл** должны расцениваться, как **отрицательные**.

Пробы с концентрацией IgM к антигенам боррелии **от 18 до 22 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 IgM к антигенам боррелии **выше или равной 22 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 IgM* (спинномозговая жидкость)

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

Измеряемый диапазон. 0-190 ОЕ/мл IgM 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).

14.2 Интерпретация результатов исследований образцов ЦСФ

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

Пробы с концентрацией IgM к антигенам боррелии **ниже 2,5 ОЕ/мл** должны расцениваться, как отрицательные.

Пробы с концентрацией IgM к антигенам боррелии **от 2,5 до 3,5 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 IgM к антигенам боррелии **выше или равной 3,5 ОЕ/мл** должны расцениваться, как

положительные.

Отрицательный результат на IgM к антигенам *Borrelia burgdorferi* указывает на то, что интратекальный синтез антител к боррелии маловероятен. Если, несмотря на отрицательный результат, остается подозрение на нейроборрелиоз, необходимо провести дальнейшие исследования.

Положительный результат на IgM к антигенам боррелии обычно свидетельствует о возможности интратекального синтеза антител к боррелии и, соответственно, наличии нейроборрелиоза.

Положительный результат на IgM к боррелии может наблюдаться у пациентов с крайне высокой концентрацией сывороточных антител к *Borrelia burgdorferi*, а также у пациентов, положительных по тесту на антитела к боррелии, с высокой концентрацией альбумина в СМЖ. Эти данные могут свидетельствовать о возможном повреждении гематоэнцефалического барьера.

Для более надежной количественной оценки интратекального синтеза иммуноглобулина результаты пробы следует интерпретировать, ссылаясь на специфический индекс антител в СМЖ / сыворотке. Специфическое обнаружение антител к *Borrelia burgdorferi* в СМЖ, 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 СМЖ, одновременно взятых у одного и того же пациента. Этот индекс используется для дифференциации между активным интратекальным синтезом и пассивной диффузией специфического IgM *Borrelia burgdorferi* из сыворотки в СМЖ. AI оценивается с учетом общей концентрации IgM в сыворотке пациентов (метод Reiber) и СМЖ в тех же двух образцах (пара сыворотки и СМЖ, одновременно взятых у одного и того же пациента), где проводится определение *Borrelia IgM*.

Специфический индекс антител в СМЖ / сыворотке можно определить по формуле: LIAISON

$$\text{Индекс антител} = \frac{\text{Borrelia IgM СМЖ} / \text{LIAISON Borrelia IgM в сыворотке}}{(\text{Общий титр IgM в СМЖ} / \text{Общий титр IgM в сыворотке}) * 56.5}$$

В соответствии со ссылкой (Lange P et al., Плакат, представленный в ECCMID Barcelona Spain 2008), нормальный диапазон ИА 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 сомнительны, и испытание следует повторить с другой парой образцов. Значения индекса антител ниже 0,7 могут быть связаны с установленными разведениями образцов, использованными для тестирования. Особая интерпретация матрицы СМЖ рекомендуется для решения диагностической классификации для этих сомнительных результатов.

Используемый метод испытания общего IgM и полученный титр должны быть подтверждены лабораторией. Один и тот же метод следует использовать для определения общего IgM как в крови, так и в СМЖ. Когда общий титр IgM 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 соотношение объема спинномозговой жидкости к объему сыворотки, используемое в тесте LIAISON® Borrelia IgM, составляет 56,5.

15. 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.

Преаналитически разведенная ЦСЖ может привести к неубедительным результатам из-за технических ограничений, связанных с разведением образца, использующихся в тесте.

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.

16. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

• Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность можно определить, как способность теста безошибочно выявлять специфический анализ 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. Были исследованы следующие антитела: (a) 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	1
Сифилис	5	0
Острое первичное инфицирование токсоплазмозом	14	0
Антиядерные антитела	16	0
Ревматоидный фактор	10	0
Общее кол-во исследованных проб	55	1

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

Различные пробы, содержащие различные концентрации специфического анализа, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями). Вариабельность, 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	C	D	E	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	19,9	20,1	30,4	40,0	89,1	4,3	112,8
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,1	1,4	2,1	2,0	8,4	0,2	5,3
Кoeffициент вариации (%)	5,5	6,9	6,8	4,9	9,4	5,3	4,7
Минимальное значение (ОЕ/мл)	17,6	17,4	24,9	37,4	74,2	3,9	99,4
Максимальное значение (ОЕ/мл)	21,7	22,6	34,1	43,5	104,4	4,8	124,1

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости было выполнено 20 повторов в различные дни (1-2 повтора в день) на трех разных лотах реактива. Тесты были проведены в двух местах – дома (1 место) и в независимой лаборатории (2 место) на одинаковых приборах.

Воспроизводимость (1 место)	A	B	C	D	E	Отрицательный контроль	Положительный контроль
-----------------------------	---	---	---	---	---	------------------------	------------------------

LOT №1							
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	21,4	20,9	30,5	39,9	86,3	4,9	98,6
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	2,4	3,3	2,7	3,0	12,5	0,4	14,5
Коэффициент вариации (%)	11,4	15,6	8,7	7,6	14,5	8,4	14,7
Минимальное значение (ОЕ/мл)	17,4	16,8	25,3	35,0	71,7	4,4	79,4
Максимальное значение (ОЕ/мл)	25,7	30,4	53,3	47,8	125,8	5,7	128,6
LOT №2							
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	19,6	18,7	27,6	37,6	85,3	4,8	98,2
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,3	1,4	1,9	3,0	,5	0,3	5,6
Коэффициент вариации (%)	6,4	7,7	6,7	7,9	6,4	5,4	5,7
Минимальное значение (ОЕ/мл)	17,2	16,8	24,4	31,2	74,8	4,3	88,9
Максимальное значение (ОЕ/мл)	21,5	23,6	30,7	41,6	97,6	5,3	108,5
LOT №3							
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	18,8	19,7	26,6	39,3	86,4	4,1	104,0
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,2	1,1	1,4	2,9	9,8	0,3	8,5
Коэффициент вариации (%)	6,4	5,7	5,2	7,3	11,3	6,6	8,2
Минимальное значение (ОЕ/мл)	16,9	16,9	24,2	34,1	73,4	3,7	91,6
Максимальное значение (ОЕ/мл)	20,7	22,0	29,1	46,6	120,0	4,6	120,5
Коэффициент вариации (%) внутри лота	8,1	9,7	6,9	7,6	10,8	6,8	9,5
Воспроизводимость (2 место)	A	B	C	D	E	Отрицательный контроль	Положительный контроль
LOT №1							
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	19,0	20,3	28,5	39,8	89,5	4,8	102,0
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,9	1,1	1,6	3,1	14,7	0,5	9,8
Коэффициент вариации (%)	9,8	5,2	5,6	7,8	16,5	11,2	9,7
Минимальное значение (ОЕ/мл)	15,0	18,3	25,0	34,8	60,5	3,6	81,0
Максимальное значение (ОЕ/мл)	21,5	21,9	30,5	45,0	117,4	5,8	124,7
LOT №2							
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	18,3	18,4	27,2	38,1	86,7	4,1	102,3
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,8	1,6	1,9	4,0	9,2	0,4	9,8
Коэффициент вариации (%)	10,0	8,7	7,1	10,6	10,6	10,4	9,6
Минимальное значение (ОЕ/мл)	15,2	15,5	24,3	32,6	69,1	2,9	86,0
Максимальное значение (ОЕ/мл)	22,8	21,2	30,2	48,3	103,6	4,8	125,4
LOT №3							
Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	20,5	19,8	30,0	39,7	88,3	4,3	102,3
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,3	1,5	1,9	3,7	11,6	3,0	8,5
Коэффициент вариации (%)	6,2	7,4	6,4	9,4	13,2	7,6	8,3
Минимальное значение (ОЕ/мл)	18,6	18,0	26,5	35,1	67,9	3,7	87,1
Максимальное значение (ОЕ/мл)	23,1	22,8	34,6	41,3	107,8	4,9	119,2
Коэффициент вариации (%) внутри лота	8,7	7,1	6,4	9,3	13,4	9,7	9,2

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 использоваться как референсные, так как возможны различия между лабораториями и местностями.

Повторяемость. Для оценки воспроизводимости было выполнено 20 одновременных повторов.

Повторяемость	1	2	3	4	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	19,2	36,6	87,1	124,5	2,3	101,7
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,0	2,9	5,5	7,4	0,2	6,9
Коэффициент вариации (%)	5,1	8,0	6,3	5,9	8,3	6,8
Минимальное значение (ОЕ/мл)	16,5	30,1	78,7	109,7	1,9	91,7
Максимальное значение (ОЕ/мл)	20,8	43,0	97,3	140,0	2,6	113,7

Воспроизводимость. Для оценки воспроизводимости было выполнено 20 повторов в различные дни (1-2 повтора в день) на трех разных лотах реактива. Тесты были проведены в двух местах – дома (1 место) и в независимой лаборатории (2 место) на одинаковых приборах.

Воспроизводимость (1 место)	1	2	3	4	Отрицательный контроль	Положительный контроль
LOT №1						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	18,4	35,9	90,8	121,8	2,1	102,0
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,7	2,5	5,6	10,6	0,1	7,0
Коэффициент вариации (%)	4,0	7,0	6,1	8,7	5,3	6,8
Минимальное значение (ОЕ/мл)	16,8	32,0	78,1	102,5	1,7	92,3
Максимальное значение (ОЕ/мл)	19,7	40,8	99,5	135,9	2,2	112,6
LOT №2						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	17,7	34,3	82,3	118,6	2,1	95,9
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,8	1,8	5,1	7,1	0,2	5,9
Коэффициент вариации (%)	4,6	5,3	6,2	6,0	7,5	6,2
Минимальное значение (ОЕ/мл)	16,0	31,4	72,2	107,0	1,8	84,5
Максимальное значение (ОЕ/мл)	19,6	39,1	62,9	137,6	2,3	106,2
LOT №3						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	19,8	35,6	85,0	121,8	2,2	98,1
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,1	2,5	5,9	9,3	0,1	8,2
Коэффициент вариации (%)	5,7	6,9	6,9	7,7	5,4	8,4
Минимальное значение (ОЕ/мл)	17,8	31,2	74,8	108,6	2,0	85,0
Максимальное значение (ОЕ/мл)	22,1	41,2	94,7	141,8	2,4	113,2
Коэффициент вариации (%) внутри лота	4,8	6,4	6,4	7,5	6,1	7,1

Воспроизводимость (2 место)	1	2	3	4	Отрицательный контроль	Положительный контроль
LOT №1						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	18,9	35,8	86,4	105,8	3,3	94,2
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,7	2,3	12,4	18,4	0,3	12,6
Коэффициент вариации (%)	9,0	6,4	14,3	17,4	10,0	13,4
Минимальное значение (ОЕ/мл)	16,4	31,4	70,9	60,3	2,8	68,3
Максимальное значение (ОЕ/мл)	22,4	40,4	113,1	141,6	3,9	111,4
LOT №2						
Количество измерений	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ/мл)	16,9	34,6	85,0	114,4	3,0	89,7
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,1	2,7	8,8	9,6	0,2	11,2
Коэффициент вариации (%)	6,6	7,7	10,3	8,3	7,2	12,4
Минимальное значение (ОЕ/мл)	14,4	29,2	69,4	98,3	2,7	66,6
Максимальное значение (ОЕ/мл)	19,0	39,0	104,6	129,9	3,4	106,1
LOT №3						
Количество измерений	20	19	20	19	20	19
Среднее (ОЕ/мл)	19,9	37,6	83,6	116,5	3,1	95,9
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,0	2,8	9,6	13,1	0,2	10,2
Коэффициент вариации (%)	5,0	7,4	11,5	11,2	6,8	10,6
Минимальное значение (ОЕ/мл)	18,0	31,1	71,5	94,9	2,7	70,3
Максимальное значение (ОЕ/мл)	21,7	43,0	101,5	136,3	3,5	108,8
Коэффициент вариации (%) внутри лота	6,9	7,2	12,0	12,3	8,0	12,1

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 (1-2 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)	11,80	28,82	35,31	44,90	49,61	67,18	112,8	3,223	61,39
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,34	0,86	0,84	1,14	1,06	1,80	3,25	0,093	2,69
Коэффициент вариации (%)	2,9	3,0	2,4	2,6	2,1	2,7	2,9	2,9	4,4
Минимальное значение (ОЕ/мл)	11,08	27,16	33,45	43,17	47,33	64,17	108,6	2,996	56,64
Максимальное значение (ОЕ/мл)	12,45	30,23	36,64	47,34	51,58	71,02	121,1	3,356	67,32
Воспроизводимость	1	8	2	9	4	5	6	Отрицательный контроль	Положительный контроль

Количество измерений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (ОЕ /мл)	13,11	18,24	29,55	31,17	15,20	57,52	72,18	3,752	63,12
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	1,20	1,39	2,60	2,36	3,44	11,58	7,52	0,19	4,50
Коэффициент вариации (%)	9,2	7,6	8,8	7,6	7,6	20,1	10,4	5,0	7,1
Минимальное значение (ОЕ/мл)	10,89	14,9	24,83	25,54	37,12	43,48	58,62	3,398	53,25
Максимальное значение (ОЕ/мл)	14,99	21,69	33,15	33,67	50,81	80,99	89,51	3,968	69,59

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

Различные пробы, содержащие различные концентрации специфического анализа, 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)	11,94	20,61	66,52	90,90	0,2092	46,76
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,34	0,90	1,71	4,17	0,040	1,36
Коэффициент вариации (%)	2,8	4,4	2,6	4,6	19,4	2,9
Минимальное значение (ОЕ/мл)	11,31	19,31	63,14	80,36	0,1571	44,49
Максимальное значение (ОЕ/мл)	12,60	22,45	69,87	96,65	0,2965	49,62

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)	14,06	23,18	69,51	93,02	0,5293	50,56
Стандартное отклонение (ОЕ/мл)	0,95	1,65	5,36	5,94	0,11	3,55
Коэффициент вариации (%)	6,8	7,1	7,7	6,4	20,8	7,0
Минимальное значение (ОЕ/мл)	12,44	19,72	59,47	77,31	0,3392	42,76
Максимальное значение (ОЕ/мл)	15,57	25,16	77,07	100,7	0,7695	55,67

16.6. Исследование линейности тестов разведения (пробы сыворотки или плазмы)

Четыре пробы сыворотки содержащие высокую концентрацию специфических IgM антигенам *Borrelia burgdorferi* были исследованы до и после разведения дилуентом. Сравнение ожидаемой концентрации специфических IgM измеренной после разведения было выполнено методом линейной регрессий. Коэффициент корреляции (r) был от 0,9977 до 0,990.

Степень разбавления	Ожидаемая концентрация, ОЕ /мл	Измеренная концентрация, ОЕ /мл	Восстановление, %	Степень разбавления	Ожидаемая концентрация, ОЕ /мл	Измеренная концентрация, ОЕ /мл	Восстановление, %
-	-	69,5	-	-	-	72,1	-
1:2	34,8	34,2	98,0	1:2	36,1	36,9	102,0
1:4	17,4	18,8	108,0	1:4	18,0	18,1	100,0
1:8	8,7	11,3	130,0	1:8	9,0	10,5	117,0
-	-	87,7	-	1:16	4,5	6,5	144,0
1:2	43,9	46,8	107,0	-	-	132,1	-
1:4	21,9	21,9	100,0	1:2	66,1	64,4	98,0
1:8	11,0	12,3	112,0	1:4	33,0	32,4	98,0
1:16	5,5	5,1	93,0	1:8	16,5	17,6	107,0
-	-	-	-	1:16	8,3	9,5	115,0

16.7. Исследование линейности тестов разведения (пробы спинномозговой жидкости)

Четыре пробы сыворотки содержащие высокую концентрацию специфических IgM к антигенам *Borrelia burgdorferi* были исследованы до и после разведения дилуентом. Сравнение ожидаемой концентрации специфических IgM измеренной после разведения было выполнено методом линейной регрессий. Коэффициент корреляции (r) был от 0,9993 до 0,9998.

Степень разбавления	Ожидаемая концентрация, ОЕ /мл	Измеренная концентрация, ОЕ /мл	Восстановление, %	Степень разбавления	Ожидаемая концентрация, ОЕ /мл	Измеренная концентрация, ОЕ /мл	Восстановление, %
-	-	65,2	-	-	-	66,3	-
1:2	32,6	32,6	100,0	1:2	33,2	34,4	104,0
1:4	16,3	17,0	104,0	1:4	16,6	17,9	108,0
1:8	8,2	8,8	108,0	1:8	8,3	9,4	113,0
1:16	4,1	4,7	115,0	1:16	4,1	4,6	111,0
1:32	2,0	2,3	113,0	1:32	2,1	2,3	111,0

-	-	110,5	-	-	-	133,3	-
1:2	55,3	55,8	101,0	1:2	66,7	68,7	103,0
1:4	27,6	28,3	102,0	1:4	33,3	34,8	104,0
1:8	13,8	15,6	113,0	1:8	16,7	17,6	106,0
1:16	6,9	7,0	101,0	1:16	8,3	9,3	112,0
1:32	3,5	3,9	113,0	1:32	4,2	4,8	115,0
1:64	1,7	1,9	108,0	1:64	2,1	2,4	115,0

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 четырех положительных по тесту на IgM к антигенам боррелии проб сыворотки и двух 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 229 проб из различных отобранных популяций, полученные из центров сбора образцов, находящихся в эпидемичных 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 Quant было определено как отрицательные 85 проб из 88, с диагностической чувствительностью 96,6% (95% доверительный интервал 90,4-99,3%).

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

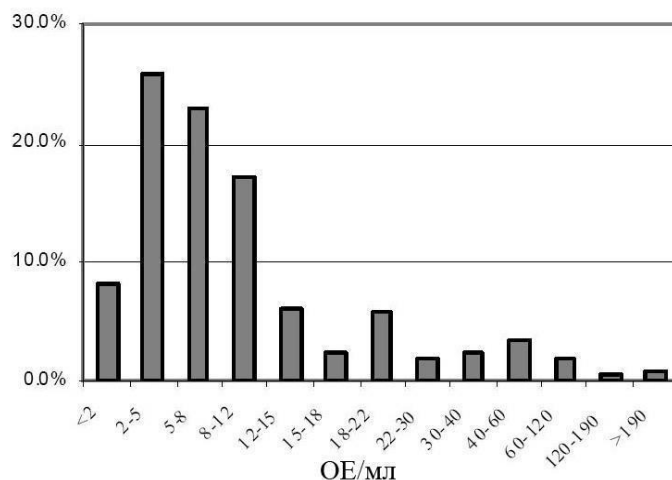
получены следующие ниже результаты.

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	55,6	40,0-70,3	80,0	65,4-90,4	88,9	75,9-96,3
Нейроборрелиоз	57	57,9	44,1-70,8	93,0	83,0-98,1	96,5	87,9-99,6
Артриты	39	30,8	17,0-47,6	97,4	86,5-99,9	97,3	97,4-86,5
Всего	141	50,0	41,4-58,6	90,1	83,9-94,5	94,3	89,1-97,5

17.2. 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 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: 18-22 ОЕ/мл)	Иммуноблот, кол-во результатов		
LIAISON®	ELISA		Отрицательные	Сомнительные	Положительные
-	-	155	-	-	-
+	+	11	1	2	8
±	±	1	0	0	1
-	+	9	5	4	0
±	+	2	1	1	0
±	-	8	8	0	0
+	-	10	6	3	1
+	±	1	0	1	0
-	±	10	0	0	1
Общее количество исследованных образцов		207	30	11	11



17.3. Диагностическая сходимость (пробы спинномозговой жидкости)

Клинически было исследовано 46 проб спинномозговой жидкости с помощью теста LIAISON®Borrelia IgM Quant, а так же ферментативным иммуноисследованием. Пробы не были клинически охарактеризованы, но собирались у пациентов с подозрением на инфицирование *Borrelia burgdorferi* и проживающих в зоне эндемичной для боррелиоза. Индексы антител не рассчитывали, но результаты выборки интерпретировали в соответствии с интерпретацией матрицы СМЖ. 5 проб были определены как положительные и 40 как отрицательные в обоих методах. 1 проба определилась как сомнительная на LIAISON® и отрицательная при ферментативном иммуноисследовании. Диагностическая специфичность составила 97,8% (45/46) - 95% доверительный интервал: 88,5-99,9%).

17.4. Диагностическое соответствие по индексу антител

В клиническом исследовании 90 пар СМЖ и образцов сыворотки из рутинного анализа в немецкой больнице были проанализированы с помощью количественных анализов LIAISON Borrelia IgG и IgM и эталонным количественным анализом ELISA (маркированным 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 СМЖ, ни с помощью эталонного метода ELISA, ни с помощью количественных анализов LIAISON Borrelia.

Таблица 1

AI ELISA		Конгруэнтные результаты между обоими анализами	AI LIAISON	
IgG +	IgM +		26	IgG +
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 AI на парах образцов сыворотка / СМЖ для количественного анализа LIAISON Borrelia IgM, составила 90,0% (27/30, 95% доверительный интервал: 73,5 - 97,9%), тогда как полученная диагностическая специфичность была 81,3% (48/59, 95% доверительный интервал: 69,1 - 90,3%).