

# ІФА для виявлення ІgG вірусу Borrelia + VlsE VIROTECH

(ІФА до ІgG на борелії + VlsE)

Номер замовлення: EC022G00 Кольорове кодування:  
золотий/червоний

## Стандарти ліквору/ліквору ІgG для Borrelia + VlsE

Номер замовлення: EC022L60

## Набір для контролю ІgG Borrelia + VlsE у лікворі/лікворі AI

Номер замовлення: EN022L65



Включно з даними про ефективність діагностики  
спинномозкової рідини

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, [info@ivset.ua](mailto:info@ivset.ua) [www.ivset.ua](http://www.ivset.ua)

ТІЛЬКИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO



### Gold Standard diagnostics Frankfurt GmbH

Вальдштрассе 23 А6

63128 Дітценбах, Німеччина

Тел.: +49 6074 23698-0

Факс: +49 6074 23698-900

Електронна

пошта: [info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com](mailto:info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com)

Вебсайт: [clinical.goldstandarddiagnostics.com](http://clinical.goldstandarddiagnostics.com)



## Зміст

1.	Цільове використання .....	3
2.	Діагностична релевантність.....	3
3.	Принцип аналізу .....	4
4.	Вміст упаковки.....	4
4.1	Комплектація (тестовий набір IgG) .....	4
4.2	Вміст упаковки (станданти IgG у спинномозковій рідині) .....	4
5.	<b>Зберігання та термін придатності тестового набору та готових до використання реагентів</b> .....	4
6.	Застереження та попередження.....	5
7.	Необхідні матеріали, але не надані .....	5
8.	<b>Процедура аналізу – ДІАГНОСТИКА СИРОВАТКИ</b> .....	5
8.1	Матеріал для дослідження .....	5
8.2	Підготовка реагентів.....	5
8.3	Процедура тестування VIROTECH ІФА .....	5
8.4	Використання процесорів ІФА .....	6
9.	<b>Оцінка тесту – ДІАГНОСТИКА СИРОВАТКИ</b> .....	6
9.1	Контроль тестової функції .....	6
9.2	Розрахунок одиниць VIROTECH (VE).....	6
9.3	Схема інтерпретації IgG .....	7
9.4	Межі тесту .....	7
10.	<b>Дані про продуктивність – ДІАГНОСТИКА СИРОВАТКИ</b> .....	8
10.1	Діагностична чутливість.....	8
10.2	Діагностична специфічність.....	8
10.3	Порівняння методів .....	8
10.4	Перехресна реактивність .....	8
10.5	Поширеність (очікувані значення) .....	9
10.6	Коефіцієнт варіації всередині аналізу (повторюваність) .....	9
10.7	Між аналізами коефіцієнт варіації (відтворюваність) .....	9
11.	<b>Дані про продуктивність ДІАГНОСТИКА СМР</b> .....	9
11.1	Чутливість та специфічність .....	10
11.2	Перехресна реактивність.....	10
12.	Посилання.....	11
13.	Схема процедури випробування .....	12

## 1. Цільове використання

ІФА-тест на виявлення IgG до *Borrelia afzelii*+VlsE служить скринінговим тестом для напівкількісного та якісного виявлення антитіл IgG до *Borrelia burgdorferi sensu lato* у сироватці крові людини. Його також можна використовувати для паралельного тестування парних зразків сироватки та спинномозкової рідини, що призводить до кількісного виявлення ендogenous синтезу антитіл IgG.

## 2. Діагностична релевантність

Бореліоз Лайма (або хвороба Лайма) – це системне захворювання, яке спричиняється інфекцією спірохетою *Borrelia burgdorferi* (1,2). Спірохети передаються людині через укуси інфікованого кліща. В Європі кліщ *Ixodes ricinus* був ідентифікований як основний переносник (5). Наразі в Європі описано щонайменше три патогенні для людини види *Borrelia burgdorferi sensu lato*, які об'єднані під терміном *Borrelia burgdorferi sensu lato*: *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia garinii* та *Borrelia afzelii* (3,5,6).

Лайм-бореліоз – це мультисистемне захворювання, яке розвивається стадіями, переважно вражаючи шкіру, суглоби та нервову систему. Через широкий спектр клінічних проявів діагностика Лайм-бореліозу є складною (5). Серед іншого, для диференціальної діагностики важливо розрізнити різні дерматологічні захворювання (такі як В-клітинна лімфома шкіри та червоний вовчак), неврологічні захворювання (такі як розсіяний склероз) та захворювання внутрішніх органів (такі як артрит та кардит) (15).

Серологічна діагностика бореліозу Лайма ускладнюється такими факторами, як наступне:

- Негативна серологія, особливо на ранніх стадіях, не виключає бореліоз Лайма. Мігруюча еритема (первинна стадія) є серонегативною приблизно у 50% випадків (14)
- утворення антитіл IgM може бути повністю відсутнім
- Антитіла IgM можуть зберігатися протягом багатьох місяців (10,11)
- Антитіла IgG все ще можуть бути виявлені через роки після клінічної ремісії (10,11)
- Спостерігалися перехресні реакції з іншими мікроорганізмами (8,13). Важливу роль відіграють захворювання, спричинені бактеріями, такі як сифіліс та інфекції, спричинені вірусом герпесу (особливо вірусом Епштейна-Барр) (12). Хибнопозитивні антитільні реакції також можуть виникати за наявності аутоімунних антитіл (13).

Серологія на бореліоз Лайма відіграє допоміжну роль у уточненні клінічно підозрюваного випадку. Серологія на бореліоз Лайма може надати важливу інформацію про серонегативність або підтвердити підозру на свіжу інфекцію чи запущену інфекцію. Однак важливо, щоб позитивний результат тесту на антитіла оцінювався у поєднанні з клінічною картиною (14).

Ми рекомендуємо проводити серологічне дослідження на бореліоз Лайма у два етапи (16). На першому етапі зразки, що підлягають тестуванню, слід дослідити за допомогою чутливого скринінгового тесту (MiQ12/2000 рекомендує використовувати ІФА як скринінговий тест). Після цього сумнівні та позитивні сироватки слід дослідити за допомогою підтверджувального тесту (лінійний імуоферментний аналіз/вестерн-блоттинг). Аналіз за допомогою вестерн-блоттингу дозволяє цілеспрямовано проаналізувати антитільну відповідь на окремі антигени патогену.

Найновішою розробкою є антигени, що експресуються *in vivo*, і вони тепер також доступні для діагностичного використання. Особливістю цих антигенів є те, що вони експресуються *in vivo* лише бореліями в інфікованому ссавці-хазяїні (людині). Серед цих нових антигенів, що експресуються *in vivo*, виділяється загальний геновидовий білок VlsE (17, 18, 19). Він діє як другий ранній маркер поруч з OspC, особливо в серології IgG. Тут тести показали, що при ранніх бореліозах VlsE часто виявляється в IgG, а також OspC в IgM, і що чутливість діагностики ранніх бореліозів Лайма може бути значно підвищена.

### Нейробореліоз

У змісті бореліозної інфекції симптоми, що стосуються нервової системи, називаються нейробореліозом. У 10-15% пацієнтів з бореліозом розвивається нейробореліоз. Він виникає в середньому через 5 тижнів після укусу кліща. Клінічну діагностичну підозру у пацієнтів з нейробореліозом можна підтвердити запальними змінами спинномозкової рідини та виявленням інтратекального синтезу специфічних антитіл до бореліозу. Інтратекальне утворення специфічних антитіл виявляється шляхом визначення індексу антитіл. Інтратекальне утворення специфічних антитіл до *B. afzelii* розвивається у нелікованих пацієнтів протягом другого тижня захворювання, через три тижні воно виявляється приблизно у 75% пацієнтів і через 8 тижнів - у понад 99% пацієнтів. Якщо пацієнти мають симптоми протягом періоду більше 2-3 місяців, негативний тест на антитіла до бореліозу

майже виключають можливість нейробореліозу. Позитивне виявлення лише специфічних до бореліозу антитіл не виявляє активної інфекції, спричиненої *Borrelia afzelii*. З іншого боку, серологічний тест на бореліоз може бути негативним на ранній стадії бореліозної інфекції, особливо на ранній стадії лікування антибіотиками (9). Під час гострого нейробореліозу зрештою можливо, що синтез IgG може не відбутися, тому можна буде виявити лише антитіла IgM (20).

### 3. Принцип аналізу

Антитіло, яке шукають у сироватці крові людини, утворює імунний комплекс з антигеном, нанесеним на мікропланшет. Незв'язані імуноглобуліни видаляються шляхом промивання. Кон'югат ферменту приєднується до цього комплексу. Незв'язаний кон'югат знову видаляється шляхом промивання. Після додавання розчину субстрату (ТМБ) зв'язаний фермент (пероксидаза) утворює синій барвник. Колір змінюється на жовтий після додавання стоп-розчину.

### 4. Комплектація

#### 4.1 Комплектація (тестовий набір IgG)

1. **1 мікропланшет** складається з 96 лунок, покритих антигеном, що розбиваються, ліофілізованих
2. **PBS-буфер для розведення (синій, готовий до використання) 2x50 мл**, рН 7,2, з консервантом та Твіном 20
3. **Розчин для промивання PBS (20-кратна концентрація) 50 мл**, рН 7,2, з консервантом та Твіном 20
4. **IgG негативний контроль, 2000 мкл**, людська сироватка з білковим стабілізатором та консервантом, готовий до використання
5. **Контрольний розчин IgG для визначення порогового значення, 2000 мкл**, людська сироватка з білковим стабілізатором та консервантом, готовий до використання
6. **IgG-позитивний контроль, 2000 мкл**, людська сироватка з білковим стабілізатором та консервантом, готовий до використання
7. **IgG-кон'югат (антилюдський), 11 мл**, (овечий або козячий)-хрон-пероксидазний кон'югат з білковим стабілізатором та консервантом у Tris-буфері, готовий до використання
8. **Розчин субстрату тетраметилбензидину (3,3',5,5'-ТМБ), 11 мл** готовий до використання
9. **Розчин для зупинки цитратної дії, 6 мл**, містить кислотну суміш

#### 4.2 Вміст упаковки (стандарти IgG у спинномозковій рідині)

**Стандарти IgG для ІФА проти *Borrelia*** для кількісного визначення концентрацій патоген-специфічних антитіл, 4 флакони по 1000 мкл, сироватка крові людини зі стабілізатором білка та консервантом, готова до використання, 100 wME; 25 wME; 6,2 wME; 1,5 wME (wME = довільні одиниці вимірювання)

### 5. Зберігання та термін придатності тестового набору та готових до використання реагентів

Зберігайте тестовий набір при температурі 2-8°C. Термін придатності всіх компонентів зазначено на кожній відповідній етикетці; термін придатності набору дивіться в сертифікаті контролю якості.

1. Мікротитрувальні стріпи/окремі лунки після виймання з них слід знову закрити в упаковці та зберігати з осушувачем при температурі 2-8°C. Реагенти слід негайно повернути на зберігання при температурі 2-8°C після використання.
2. Готовий до використання кон'югат та розчин ТМБ-субстрату чутливі до світла та повинні зберігатися в темряві. Якщо внаслідок падіння світла розведення субстрату змінює колір, його більше не можна використовувати.
3. Виймайте лише ту кількість готового до використання кон'югату або ТМБ, яка потрібна для введення тесту. Додатково вийнятий кон'югат або ТМБ не можна повертати, а потрібно утилізувати.

Матеріал	Статус	Зберігання	Термін придатності
Тестові зразки	Розведений	від +2 до +8°C	макс. 6 год
	Нерозбавлений	від +2 до +8°C	1 тиждень
Контролі	Після відкриття	від +2 до +8°C	3 місяці
Мікротитрувальний планшет	Після відкриття	від +2 до +8° (зберігання у наданій сумці з пакетом з осушувачем)	3 місяці
Ревматоїдний фактор - Абсорбент	Нерозбавлений, після відкриття	від +2 до +8°C	3 місяці
	Розведений	від +2 до +8°C	1 тиждень
Кон'югат	Після відкриття	від +2 до +8°C (захищати від світла)	3 місяці
Тетраметилбензидин	Після відкриття	від +2 до +8°C (захищати від світла)	3 місяці
Стоп розчин	Після відкриття	від +2 до +8°C	3 місяці
Розчин для миття	Після відкриття	від +2 до +8°C	3 місяці
	Остаточне розведення (готове до використання)	від +2 до +25°C	4 тижні

## 6. Застереження та попередження

1. Як контрольні сироватки використовуються лише ті сироватки, які пройшли тестування та виявилися негативними на антитіла до ВІЛ-1, антитіла до ВІЛ-2, антитіла до ВГС та поверхневий антиген гепатиту В. Тим не менш, зразки, розведені зразки, контролю, кон'югати та мікротитрувальні смужки слід розглядати як потенційно інфекційний матеріал. Будь ласка, поведіться з продуктами відповідно до лабораторних інструкцій.
2. Компоненти, що містять консерванти, цитратний стоп-розчин та ТМБ, подразнюють шкіру, очі та слизові оболонки. У разі потрапляння на частини тіла негайно промийте їх під проточною водою та, можливо, зверніться до лікаря.
3. Утилізацію використаних матеріалів слід проводити відповідно до чинних у країні правил.

## 7. Необхідний матеріал, але не наданий

1. Вода дист./демін.
2. Восьмиканальна піпетка 50 мкл, 100 мкл
3. Мікропіпетки: 10 мкл, 100 мкл, 1000 мкл
4. Пробірки
5. Паперові рушники або абсорбуючий папір
6. Кришка для ІФА-планшетів
7. Ящик для утилізації інфекційних матеріалів
8. Ручна мийка для ІФА або автоматизований пристрій для миття планшетів для ІФА
9. Спектрофотометр для планшетів ІФА, довжина хвилі = 450 нм, референтна довжина = 620 нм (референтна довжина хвилі 620-690 нм)
10. Інкубатор

## 8. Процедура тестування – СИРОВАТКОВИЙ ДІАГНОСТИЧНИЙ РЕЗУЛЬТАТ

---

[Точне дотримання інструкцій з експлуатації є необхідною умовою для отримання правильних результатів.](#)

### 8.1 Матеріал для дослідження

Як тестовий матеріал можна використовувати як сироватку, так і плазму, навіть якщо в інструкції зазначено лише сироватку. Будь-який тип антикоагулянта можна використовувати для плазми. Завжди готуйте свіжий розчин для розведення пацієнта.

Для тривалішого зберігання сироватки необхідно заморозити. Слід уникати повторного розморожування.

1. Слід використовувати лише свіжі неінактивовані сироватки.
2. Гіперліпідемічні, гемолітичні, мікробно забруднені та каламутні сироватки не слід використовувати (хибнопозитивні/хибнонегативні результати).

### 8.2 Підготовка реагентів

Система VIROTEX Diagnostica пропонує високий ступінь гнучкості щодо можливості використання буфера для розведення, розчину для промивання, ТМБ, розчину для зупинки реакції цитратом, а також кон'югату для всіх параметрів та для всіх різних партій. Готові до використання контролю (позитивний контроль, негативний контроль, пороговий контроль) залежать від параметра та використовуються лише з партією планшетів, зазначеною в сертифікаті контролю якості.

1. Встановіть температуру в інкубаторі на 37°C та перевірте правильність налаштування температури перед початком інкубації.
2. Перед відкриттям упаковки мікротитрувальних стріпів доведіть усі реагенти до кімнатної температури.
3. Перед використанням добре струсіть усі рідкі компоненти.
4. Доведіть концентрат розчину для промивання до 1 л дистильованою або демінералізованою водою. Якщо в концентраті утворилися кристали, перед використанням доведіть його до кімнатної температури та добре струсіть.

### 8.3 Процедура ІФА-тесту VIROTECH

1. Для кожного тестового циклу прокачайте по 100 мкл готового до використання буфера для розведення (холостого зразка), ІgG-позитивного, негативного та порогового контролю, а також розведених сироваток пацієнта. Ми пропонуємо подвійне введення (холостий, контрольний та сироватки пацієнта); для порогового контролю подвійне введення абсолютно необхідне. Робоче розведення сироваток пацієнта: 1+100; наприклад, 10 мкл сироватки + 1 мл буфера для розведення.
2. Після піпетування розпочніть інкубацію протягом 30 хвилин при 37°C (з кришкою).

3. Завершіть період інкубації, промиваючи мікротитраційні стріпи 4 рази по 350–400 мкл промивного розчину на лунку. Не залишайте промивний розчин у лунках. Видаліть залишки за допомогою целюлозної подушечки.
4. У кожну лунку піпеткою внесіть 100 мкл готового до використання кон'югату.
5. Інкубація кон'югатів: 30 хв. при 37°C (з кришкою).
6. Зупиніть інкубацію кон'югату, промиваючи його 4 рази (див. пункт 3 вище).
7. У кожну лунку піпеткою внесіть 100 мкл готового до використання ТМБ.
8. Інкубація розчину субстрату: 30 хв. при 37°C (з кришкою, зберігати в темряві).
9. Зупинка реакції субстрату: піпеткою внесіть 50 мкл стоп-розчину цитрату в кожну лунку. Ретельно та ретельно струшуйте планшет, доки рідина повністю не перемішається та не з'явиться однорідний жовтий колір.
10. Виміряйте екстинкцію (ОГ) при 450/620 нм (референтна довжина хвилі 620-690 нм). Налаштуйте фотометр таким чином, щоб значення холостого аналізу віднімалося від усіх інших значень екстинкції. Екстинкцію слід вимірювати протягом 1 години після додавання стоп-розчину!

Будь ласка, зверніться до схеми процедури випробування на останній сторінці

#### 8.4 Використання процесорів ІФА

Усі **VIROTECH** ІФА можна використовувати на процесорах ІФА. Користувач зобов'язаний регулярно проводити валідацію пристроїв (процесорів).

**Gold Standard Diagnostics GmbH** рекомендує наступну процедуру:

1. **Gold Standard Diagnostics GmbH** рекомендує провести перевірку пристрою, дотримуючись інструкцій виробника пристрою під час впровадження процесора ІФА відповідно після більшого ремонту.
2. Рекомендується після цього перевірити ІФА-процесор за допомогою набору Validationkit (EC250.00). Регулярну перевірку за допомогою набору Validationkit слід проводити щонайменше раз на квартал для перевірки точності процесора.
3. Критерії випуску сертифіката контролю якості продукту повинні бути виконані для кожного випробувального запуску.

Завдяки цій процедурі ваш процесор ІФА працюватиме належним чином, і це сприятиме забезпеченню якості у вашій лабораторії.

#### 9. Оцінка тесту – ДІАГНОСТИКА СИРОВАТКИ

Готові до використання контролі служать для напівкількісного визначення специфічних антитіл IgG. Їх концентрацію можна виразити в одиницях VIROTECH = VE. Коливання, що виникають внаслідок процедури тестування, можна збалансувати за допомогою цього методу розрахунку, і таким чином досягається висока відтворюваність. Використовуйте середні значення оптичної густини для розрахунку VE.

##### 9.1 Контроль тестової функції

а) Значення оптичної густини (ОГ)

Оптична густина бланк повинна бути < 0,15.

Значення оптичної густини (ОГ) негативних контролів повинні бути нижчими за значення ОГ, зазначені в сертифікаті контролю якості. Значення ОГ позитивних контролів, а також порогових контролів повинні бути вищими за значення ОГ, зазначені в сертифікаті контролю якості.

б) Підрозділи VIROTECH (VE)

Одиниці VIROTECH (VE) порогових контролів визначені як 10 VE. Розрахована VE позитивних контролів повинна бути в межах діапазонів, зазначених у сертифікаті контролю якості.

Якщо ці вимоги (значення оптичної густини, VE) не виконуються, випробування необхідно повторити.

##### 9.2 Розрахунок одиниць VIROTECH (VE)

Значення екстинкції бланка (450/620 нм) необхідно відняти від усіх інших значень екстинкції.

$$VE \text{ (positive control)} = \frac{OD \text{ (positive control)}}{OD \text{ (cut-off control)}} \times 10$$

$$VE \text{ (patient serum)} = \frac{OD \text{ (patient serum)}}{OD \text{ (cut-off control)}} \times 10$$

### 9.3 Схема інтерпретації IgG

Результат (ВЕ)	Оцінювання
< 9,0	негативний
9,0 - 11,0	граничний
> 11,0	позитивний

1. Якщо виміряні значення перевищують визначений граничний діапазон, вони вважаються позитивними.
2. Якщо виміряна ВЕ знаходиться в межах пограничного діапазону, і суттєво високої концентрації антитіл немає, зразки вважаються пограничними. Для надійного виявлення інфекції необхідно визначити концентрацію антитіл у двох зразках сироватки. Один зразок слід взяти безпосередньо на початку інфекції, а другий – через 5–10 днів (сироватка реконвалесцента). Концентрацію антитіл в обох зразках необхідно перевіряти паралельно, тобто в одному тесті. Правильний діагноз на основі оцінки одного зразка сироватки неможливий.
3. Якщо виміряні значення нижчі за визначений граничний діапазон, у зразках немає вимірюваних антигенспецифічних антитіл. Зразки вважаються негативними.

### 9.4 Межі аналізу

1. Інтерпретація серологічних результатів завжди повинна включати клінічну картину, епідеміологічні дані та всі інші доступні лабораторні результати.
2. Перехресна реакція між бореліями та іншими спірохетами може призвести до хибнопозитивного результату. Сироватки крові пацієнтів з такими інфекціями можуть перехресно реагувати: сифіліс (*Treponema pallidum*), фрамбезія (*Treponema pertense*), рецидивуюча лихоманка (*Borrelia spec.*), лептоспіроз (*Leptospira spec.*). Крім того, можуть виникати перехресні реакції з герпетичними захворюваннями (ЦМВ, ВПГ, парвовірус) (12, 13).
3. Під час перебігу інфекції, спричиненої вірусом Епштейна-Барр (інфекційний мононуклеоз), може відбуватися неспецифічне утворення антитіл проти борелій, зокрема класу IgM (12, 13).
4. ІФА-тест на виявлення *Borrelia afzelii* + VisE IgG – це скринінговий тест з максимальною діагностичною чутливістю та безпекою. Для підтвердження прикордонних та позитивних результатів слід провести підтверджувальний тест (лінійний імуноаналіз/вестерн-блот) відповідно до двоетапної діагностики.

## 10. Дані про продуктивність – СИРОВАТКОВИЙ ДІАГНОСТИЧНИЙ РЕЗУЛЬТАТ

### 10.1 Діагностична чутливість

Для визначення діагностичної чутливості було протестовано загалом 79 клінічно охарактеризованих зразків від пацієнтів з ранніми проявами хвороби Лайма (n=36), нейробореліозом (n=11), артритом Лайма (n=12) та АСА (n=20) за допомогою ІФА VIROTECH Borrelia + VlsE IgG. Діагностична чутливість визначалася окремо для кожної клінічної фази. Прикордонні зразки (n=1) не враховувалися при розрахунку діагностичної чутливості.

Діагностична чутливість	негативний	граничний	позитивний	Чутливість [%]
Ранній прояв	8	1	27	77,1

Діагностична чутливість	негативний	граничний	позитивний	Чутливість [%]
АСА	0	0	20	100

Діагностична чутливість	негативний	граничний	позитивний	Чутливість [%]
Артрит Лайма	0	0	12	100

Діагностична чутливість	негативний	граничний	позитивний	Чутливість [%]
Нейробореліоз	1	0	10	90,9

### 10.2 Діагностична специфічність

Для визначення діагностичної специфічності було протестовано загалом 93 зразки крові здорових донорів у Німеччині за допомогою референтного ІФА. Зразки, які дали негативний результат референтного тесту, згодом були протестовані на системі VIROTECH Borrelia ІФА VlsE IgG. Було визначено діагностичну специфічність. Прикордонні зразки (n=7) не враховувалися при розрахунку діагностичної специфічності.

Діагностична специфічність	негативний	граничний	позитивний	Специфічність [%]
	81	7	5	94,2

### 10.3 Порівняння методів

Для визначення чутливості та специфічності позитивні, клінічно охарактеризовані зразки від пацієнтів з бореліозом Лайма (n=79) та зразки від здорових донорів крові з Німеччини (n=101) були протестовані за допомогою ІФА VIROTECH Borrelia + VlsE IgG та референтного ІФА.

Вибірка колективу (n=180)	еталонний ІФА			
	негативний	граничний	позитивний	
VIROTECH Борелія + VlsE ІФА IgG	негативний	86	4	0
	граничний	8	0	2
	позитивний	12	4	64

Прикордонні зразки не враховувалися при розрахунку чутливості та специфічності.

Це призводить до чутливості 100% для ІФА VIROTECH Borrelia + VlsE IgG.

Це призводить до специфічності 88% для ІФА-тесту VIROTECH Borrelia + VlsE IgG.

### 10.4 Перехресна реактивність

Відомі перехресні реакції з трепонема-позитивними сироватками.

Реактивні сироватки, що містять борелії, можуть утворюватися під час інфекції, пов'язаної з вірусними інфекціями герпесу (переважно з вірусом Вепта-Барре).

Крім того, можливі перехресні реакції з сироватками мікоплазми, *Helicobacter pylori*, CMV, Parvo та *Yersinia*, а також з аутоімунними сироватками.

#### 10.5 Поширеність (очікувані значення)

Панель зі 101 зразка здорових донорів крові в Німеччині була протестована за допомогою ІФА-тесту VIROTECH *Borrelia* + *VlsE* IgG.

VIROTECH Борелія + <i>VlsE</i> ІФА IgG	негативний	граничний	позитивний
Вибіркова група (n=101)	81	9	11

Це призводить до поширеності 10,9%.

У літературі описано поширеність 4-15% у період 1989-2012 років. (21)

#### 10.6 Коефіцієнт варіації в аналізі (повторюваність)

В одному аналізі смужки різних пластин з однієї партії були протестовані з сироваткою. Визначений коефіцієнт варіації становив < 9%.

#### 10.7 Між аналізами коефіцієнт варіації (відтворюваність)

У 12 незалежних тестах різні дослідники протестували позитивну, сумнівну та негативну сироватки в різних лабораторіях.

Сироватка	Середня оптична густина (ОГ)	Коефіцієнт варіації ВЕ
Негативний	0,14	9,57%
Граничний	0,31	12,16%
Позитивний	1.48	10,68%

## 11. Дані про продуктивність ДІАГНОСТИКА СМР

### 11.1 Чутливість та специфічність

Для визначення діагностичної чутливості були протестовані певні пари спинномозкової рідини/сироватки, позитивні на нейробореліоз, за допомогою VIROTECH ІФА.

#### Діагностична чутливість ІgG

	н	%
загальна сума	26	100
патологічний	26	100
нормальний	0	0

Чутливість становить > 99,9%. Таким чином, це відповідає діапазону чутливості процедур виявлення антитіл при діагностиці хвороби Лайма-бореліозу II/III стадії (70-100%), зазначеному в MIQ.

Для визначення діагностичної специфічності було проведено тестування певних пар ЦНС-негативних зразків спинномозкової рідини та сироватки за допомогою VIROTECH ІФА.

#### Діагностична специфічність ІgG

	н	%
загальна сума	19 років	100
патологічний	0	0
нормальний	19 років	100

Специфічність для ІgG становить > 99,9%.

Для визначення чутливості та специфічності пари сироваток спинномозкової рідини підтверджених зразків нейробореліозу та пари сироваток спинномозкової рідини з підозрою на нейробореліоз були протестовані за допомогою ІФА VIROTECH Borrelia afzelii+VlsE ІgG зі стандартами ІgG у спинномозковій рідині та референс-тестом.

#### Чутливість та специфічність ІgG

Пари спинномозкової рідини/сироватки (n=59)

VIROTEX ІФА	еталонний тест	
	патологічний	нормальний
патологічний	26	3
нормальний	0	30

Чутливість ІgG до спинномозкової рідини за допомогою ІФА-тесту VIROTECH Borrelia afzelii+VlsE ІgG для визначення ІgG становить > 99,9%, а специфічність — 90,6%.

### 11.2 Перехресна реактивність

Відомі перехресні реакції з трепонема-позитивними сироватками.

Реактивні сироватки, що містять борелії, можуть утворюватися під час інфекції, пов'язаної з вірусними інфекціями герпесу (переважно з вірусом Вепта-Барре).

Крім того, можливі перехресні реакції з сироватками мікоплазми, Helicobacter pylori, CMV, Parvo та Yersinia, а також з аутоімунними сироватками.

## 12. Посилання

1. Бургдорфер, В., Барбур, А.Г., Хейс С.Ф. та ін. (1982), Хвороба Лайма – спірохетоз, що переноситься кліщами?, *Science* 216:1317-19.
2. Стір, А.К. (1989), Хвороба Лайма, *N. Engl. J. Med.* 321:586-96.
3. Дресслер, Ф., Аккерманн, Р. та Стір, А.К. (1994), Антитіла у відповідь на три геномні групи *Borrelia burgdorferi* при європейському бореліозі Лайма, *J. Infect. Dis.* 169: 313-318.
4. Хофманн, Г. (1996) Бореліоз Лайма – проблеми серологічної діагностики, *Інфекція* 24, № 6: 470-472.
5. Пфістер, Х.В., Вільске, Б. (1994) Бореліоз Лайма: фундаментальна наука та клінічні аспекти, *The Lancet Vol.* 343: 1013-1015.
6. Дресслер, Ф. (1994) Бореліоз Лайма у європейських дітей та підлітків, *Клінічна та експериментальна ревматологія* 12 (додаток 10): 49-54.
7. Гансен, К. (1993), *Методи лабораторної діагностики при бореліозі Лайма*, Elsevier Science Publishing Co., Inc.: 12.
8. Тевальд, Ф. Braun, R. (1998), *Durchführung und Interpretation serologischer Tests bei Verdacht auf Borrelieninfection* [Процедура та інтерпретація серологічних тестів при підозрі на інфекцію бореліозу], *Clin.Lab.* 44: 897-902.
9. Гусенс, Х.А.Т., Богаард, ван ден А.Е., Нольманс, М.К.Е., (1999), Оцінка п'ятнадцяти комерційно доступних серологічних тестів для діагностики бореліозу Лайма, *Eur.J. Microbiol.Infect.Dis* 18: 551-560.
10. Крафт, Дж. Е., Фішер, Д. К., Шимамото, Г. Т. та Стір, А. К. (1986), Антигени *Borrelia burgdorferi*, розпізнані під час хвороби Лайма. Поява нової імуноглобулінової відповіді М та розширення імуноглобуліну G наприкінці захворювання. *J. Clin. Invest.* 78:934-39.
11. Крафт, Дж. Е., Гродзіцький, Р. Л. та Стір, А. К. (1984), Антитільна відповідь при хворобі Лайма: оцінка діагностичних тестів, *J. Inf. Dis.* 149:789-95.
12. Goosens, NAT, Vogaard, van den AE, Nohlmans, MKE, (1999), Інфекції, спричинені вірусом Епштейна-Барр та цитомегаловірусом, викликають хибнопозитивні результати у протоколі двох тестів на IgM для раннього Лайм-бореліозу, *Infection* 27 No.3: 231.
13. Horst, H. (1997), *Einheimische Zeckenborreliose (Lyme-Krankheit) bei Mensch und Tier* [Ендемічний кліщовий бореліоз (хвороба Лайма) у людей і тварин], 3., überarbeitete Auflage, Spitta Verlag: 128-130.
14. RKI (1999), *Ratgeber Infektionskrankheiten, Lyme-Borreliose* [Енциклопедія інфекційних хвороб, Лайм-бореліоз], *Epidemiologisches Bulletin, überarbeitete Auflage*
15. Oschmann und Kraicyz (1998) *Lyme-Borreliose und Frühsommer-Meningoenzephalitis* [Бореліоз Лайма та весняно-літній менінгоенцефаліт], *UNI-MED-Verlag* 48-67.
16. Wilske та ін. *MiQ12/2000; Urban&Fischer*
17. Zhang, JR. та ін.; Антигенна варіація у борелій, що викликають хворобу Лайма, шляхом безладної рекомбінації касет послідовностей, подібних до VMP; *Cell* 1997. 89:275-285
18. Лоуренц, М.Б. та ін.; Антитіла людини у відповідь на антигенний варіаційний білок VlsE *Borrelia burgdorferi*; Американське товариство клінічної мікробіології; грудень 1999: 3997-4004.
19. Ван, Д., Боткін, Ді-Джей і Норріс, С. Дж.; Характеристика локусів vls антигенної варіації спірохет *Borrelia garinii* Ip90 та *Borrelia afzelii* ACAI (2003); *Молекулярна мікробіологія*; 47(5): 1407-1417.
20. Felgenhauer K, Beuche W: *Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen*; Thieme Verlag, Штутгарт, Нью-Йорк, 1999
21. Оцінки щодо інфекцій, спричинених бореліозом Лайма, на основі моделей з використанням даних про серопревалентність у собак-дозорців та людей. *MJ Cook та BK Puri (2020). Моделювання інфекційних захворювань* 5 (2020) 871-888.<https://doi.org/10.1016/j.idm.2020.10.004>

## Підготовка зразків пацієнтів та розчину для промивання

▼ **Розчин для миття:** Долийте концентрат до 1 літра дистильованою/дезінфекційною водою.

### Зразки IgG – Розведення

**1:101**

наприклад:

10 мкл сироватки/плазми + 1000 мкл буфера для розведення  
(Буфер для розведення сироватки готовий до використання)

## Процедура тестування

Інкубація зразків	30 хвилин при 37°C	<b>100 мкл зразків пацієнтів</b> значення порожнього розчину (буфер для розведення) та контролі
↓ Прати 4 рази		<b>мкл розчину для 400 промивання</b> Видаліть залишки на целюлозній подушечці
↓ Інкубація кон'югатів	30 хвилин при 37°C	<b>100 мкл кон'югату IgG</b>
↓ Прати 4 рази		<b>мкл розчину для 400 промивання</b> Видаліть залишки на целюлозній подушечці
↓ Інкубація субстрату	30 хвилин при 37°C	<b>100 мкл субстрату</b>
↓ Зупинка		<b>50 мкл стоп-розчину</b> ретельно струсіть
↓ Вимірювання екстинкції		<b>Фотометр при 450/620 нм</b> (Референтна довжина хвилі 620-690 нм)