

**Бореліоз, антитіла ІgМ ІФА**



Номер: ЕС022М00

Кольорове кодування: золото/блідо-чорний

**Тільки для ін вітро діагностики**

**Віротех Діагностикс ГмбХ  
Вальдштрассе, 23, А2  
63128 Дітценбах, Німеччина**

**Тел.: +49(0)6074-23698-0  
Факс: +49(0)6074-23698-900  
[www.goldstandarddiagnostics.com](http://www.goldstandarddiagnostics.com)**



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)

## Зміст

1. Використання за призначенням
2. Діагностична релевантність
3. Принцип аналізу
4. Вміст упаковки  
Вміст упаковки (IgM тестовий набір)  
Вміст упаковки (стандарти IgM СМР)
5. Зберігання та термін придатності тест-набору та готових до використання реагентів
6. Застереження та попередження .
7. Необхідні матеріали, але не надані
8. Процедура тестування – ДІАГНОСТИКА СИРОВАТКИ  
Матеріал для дослідження  
Приготування реагентів  
Процедура тесту VIROTECH ІФА  
Використання процесорів ІФА
9. Оцінка тесту – ДІАГНОСТИКА СИРОВАТКИ
  - 9.1 Контроль тестової функції
  - 9.2 Розрахунок одиниць VIROTECH (VE)
  - 9.3 Схема інтерпретації IgM
  - 9.4 Між аналізом
10. Дані про продуктивність – ДІАГНОСТИКА СИРОВАТКИ
  - 10.1 Діагностична чутливість
  - 10.2 Чутливість і специфічність
  - 10.3 Перехресна реактивність
  - 10.4 Серопоширеність (очікувані значення)
  - 10.5 В аналізі коефіцієнтів варіації (повторюваність)
  - 10.6 Між аналізом коефіцієнтів варіації (відтворюваність).
11. Дані продуктивності СМР-діагностики
  - 11.1 Чутливість і специфічність
  - 11.2 Перехресна реактивність.
12. Список літератури
13. Схема процедури тестування.



## 1. Використання за призначенням

*Borrelia afzelii* IgM ІФА служить скринінговим тестом для напівкількісного та якісного виявлення антитіла IgG до *Borrelia burgdorferi sensu lato* в сироватці крові людини. Його також можна використовувати для паралельного тестування парних зразків сироватки та спинномозкової рідини, що веде до кількісного дослідження ендogenous синтезу антитіл IgG та IgM.

## 2. Діагностична релевантність

Бореліоз Лайма (або хвороба Лайма) – це системне захворювання, яке спричиняє її інфекцію спірохетою *Borrelia burgdorferi* (1,2). Спірохети передаються людині через смак інфікованого кліща. В Європі кліщ *Ixodes ricinus* 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 stricto*, *Borrelia garinii* та *Borrelia afzelii* (3,5,6). Бореліоз Лайма – це мультисистемне захворювання, яке розвивається стадіями, в основному вражаючи хворобу, хворобу та нервову систему. Через широкий спектр клінічних проявів діагностика бореліозу Лайма є складною (5). Серед іншого, для диференційної діагностики важливе розрізнення різних дерматологічних захворювань (таких як В-клітинна лімфома шкіри та червоний вовчак), неврологічних захворювань (таких як розсіяний склероз) та внутрішніх захворювань (таких як артрит та кардит) (15). Серологічну діагностику бореліозу Лайма ускладнюють такі фактори, як: • негативна серологія, особливо на ранніх стадіях, не включає бореліоз Лайма. Мігруюча еритема (первинна стадія) є серонегативною приблизно в 50% випадків (14) • утворення антитіла IgM може бути повністю відсутнім • антитіла IgM можуть зберігатися протягом багатьох місяців (10,11) • антитіла IgG все ще може бути виявлено через роки клінічної ремісії (10,11) • спостерігалися перехресні реакції з іншими мікроорганізмами (8,13). Важливу роль викликають захворювання, спричинені бактеріями, такими як сифіліс та інфікування вірусом герпесу (особливо EBV) (12). Хібнопозитивні відповіді антитіл також можуть виникати за наявності аутоімунних антитіл (13). Серологія бореліозу Лайма успішно допомагає у вточному вираженні клінічно підозрюваного випадку. Серологія бореліозу Лайма може надати важливу інформацію про серонегативність або підтвердити підозру на свіжу інфекцію або запущену інфекцію. Однак важливо, щоб позитивний результат антитіла оцінювався у зв'язку з клінічною картиною (14). Ми рекомендуємо проводити серологію бореліозу Лайма у двох етапах (16). На першому етапі зразки, які підлягають тестуванню, слід досліджувати за допомогою чутливого скринінгового тесту (MiQ12/2000 рекомендує використовувати ІФА як скринінговий тест). Після цих сумнівних та позитивних сироваток слід досліджувати за допомогою підтвердженого тесту (лінійний імуноферментний аналіз/вестерн-блот). Аналіз за допомогою вестерн-блоту дозволяє специфічно аналізувати відповідь антитіла на окремі антигени патогену. Останньою розробкою є антигени, експресовані *in vivo*, і вони також тепер 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). На другому тижні захворювання його можна виявити приблизно у 75% пацієнтів, а через три тижні – у понад 99% пацієнтів. Якщо симптоми у пацієнтів тривають більше 2-3 місяців, негативний тест на антитіла до борелій майже виключає можливість нейробореліозу. Позитивне виявлення лише специфічних антитіл до борелій не виявляє активної інфекції, спричиненої *Borrelia afzelii*. З іншого боку, серологічний тест на борелії 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).

Використаний антиген являє собою суміш штаму *B. afzelii* PKo (спочатку виділеного з ураження людини, спричиненого мігруючою еритемою, в Німеччині), штаму *B. garinii* PBr (спочатку виділеного зі спинномозкової рідини пацієнта з нейробореліозом у Німеччині) та штаму *B. burgdorferi* ZS7 (спочатку виділеного з інфікованого кліща в Німеччині), рекомендованих для Європи.

Штам	Антиген	Опис	Очищення	Специфічність антигенів
<i>Борелія афзеліі</i> ПКо	Лізатний антиген	Лізат бактеріальних клітин містить усі нативні антигени	Екстракт сирих клітин у фосфатний буфер	чутливий
<i>Борелія бурддорфері</i> ЗС7	Лізатний антиген	Лізат бактеріальних клітин містить усі нативні антигени	Екстракт сирих клітин у фосфатний буфер	чутливий
<i>Борелія гарініі</i> ПБр	Лізатний антиген	Лізат бактеріальних клітин містить усі нативні антигени	Екстракт сирих клітин у фосфатний буфер	чутливий

### 3. Принцип аналізу

Антитіло, яке шукають у сироватці крові людини, утворює імунний комплекс з антигеном, нанесеним на мікротитровальний планшет. 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 IgM)

- 1 мікропланшет складається з 96 лунок, покритих антигеном, що розбиваються, ліофілізованих
- PBS-буфер для розведення (синій, готовий до використання) 2x50 мл, рН 7,2, з консервантом та Твіном 20
- Розчин для промивання PBS (20-кратна концентрація) 50 мл, рН 7,2, з консервантом та Твіном 20
- IgM негативний контроль, 2000 мкл, людська сироватка з білковим стабілізатором та консервантом, готова до використання
- Контрольний розчин порогового рівня IgM, 2000 мкл, людська сироватка з білковим стабілізатором та консервантом, готова до використання
- IgM-позитивний контроль, 2000 мкл, людська сироватка з білковим стабілізатором та консервантом, готова до використання
- IgM-кон'югат (антилюдський), 11 мл, (овеча або козяча)-хрон-пероксидаза-кон'югат з FCS та консервантом у Tris-буфері, готовий до використання
- Розчин субстрату тетраметилбензидину (3,3',5,5'-ТМБ), 11 мл, готовий до використання
- Розчин для зупинки цитратної дії, 6 мл, містить кислотну суміш

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

Стандарти IgM для ІФА борелій 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, контролі, кон'югати та мікротитрувальні стріпи 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 дест./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-планшета
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 діагностики VIROTECH 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 антикоагулянту можна використовувати для плазми.

Завжди готуйте свіжий розчин сироватки 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

Діагностична система VIROTECH 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 мікротитровальних 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.
5. Високий титр IgG або ревматоїдний фактор може порушити специфічне виявлення антитіл IgM та призвести до хибнопозитивних або хибнонегативних результатів. Тому для правильного визначення IgM необхідно попередньо обробити сироватки за допомогою RF-SorboTech (адсорбент VIROTECH). Для контролів IgM попередня обробка абсорбентом не потрібна.

## 8.3 Процедура ІФА-тесту VIROTECH

1. Для кожного тестового циклу прокачайте по 100 мкл готового до використання буфера для розведення (холостого зразка), IgM-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 діагностичні ІФА-аналізи VIROTECH можна використовувати на процесорах ІФА. Користувач зобов'язаний регулярно проводити валідацію пристроїв (процесорів). VIROTECH Diagnostics рекомендує наступну процедуру:

1. Компанія VIROTECH Diagnostics рекомендує проводити валідацію пристрою, дотримуючись інструкцій виробника пристрою, під час впровадження процесора ІФА, а також після проведення 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 – СИРОВАТКОВА ДІАГНОСТИКА

Готові до використання контролю служать для напівкількісного визначення специфічних IgM-антитіл. Їх концентрацію можна виразити в одиницях VIROTECH = VE. Коливання, що виникають внаслідок процедури тестування, можна збалансувати за допомогою цього методу розрахунку, що забезпечує високу відтворюваність. Використовуйте середні значення оптичної густини для розрахунку VE.

### 9.1 Контроль тестової функції

а) Значення оптичної густини (ОГ)

Відносна оптична густина бланку 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 холостої проби (450/620 нм) необхідно відняти від усіх інших значень екстинкції.

VE(позитивний контроль)=	$\frac{\text{ОГ(позитивний контроль)}}{\text{ОГ(контроль пороговий)}} \times 10$
VE(сироватка пацієнта) =	$\frac{\text{ОГ(сироватка пацієнта)}}{\text{ОГ(контроль пороговий)}} \times 10$

### 9.3 Схема інтерпретації IgM

Результат (VE)	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 VE 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 тесту

1. Інтерпретація серологічних результатів завжди повинна включати клінічну картину, епідеміологічні дані та всі інші доступні лабораторні результати.
2. Перебіг імунної відповіді IgM є варіабельним протягом перших 3 тижнів після інфекції (4). Лікування пацієнтів антибіотиками на ранній стадії захворювання може призвести до пригнічення імунної відповіді, тобто специфічні антитіла до *Borrelia burgdorferi* sI можуть бути виявлені (8).
3. Перехресна реакція між бореліями та іншими спірохетами може призвести до хибнопозитивного результату. Сироватки пацієнтів з такими інфекціями можуть перехресно реагувати: сифіліс (*Treponema pallidum*), фрамбезія (*Treponema pertenue*), рецидивуюча лихоманка.

(*Borrelia* spec.), лептоспіроз (*Leptospira* spec.). Крім того, можуть виникати перехресні реакції з герпетичними захворюваннями (ЦМВ, ВПГ, парвовірус) (12, 13).

- Внаслідок поліклональної стимуляції В-лімфоцитів під час EBV-інфекції (інфекційного мононуклеозу) може відбуватися неспецифічний розвиток антитіл до *Borrelia*, особливо класу IgM (12, 13). У разі ізольованого результату IgM та відсутності *Borrelia* в анамнезі, необхідно диференціально-діагностично виключити інфекційний мононуклеоз.

## 10. Дані про продуктивність – СИРОВАТКОВИЙ ДІАГНОСТИЧНИЙ РЕЗУЛЬТАТ

### 10.1 Діагностична чутливість

Для оцінки діагностичної чутливості було протестовано 43 клінічно охарактеризовані сироватки (рання маніфестація).

ІФА IgM до <i>Borrelia afzelii</i>		
позитивний	граничний	негативний
35	5	3

Щодо діагностичних результатів, діагностична чутливість становила 92,1%. Граничні сироватки не були включені до розрахунку діагностичної чутливості.

### 10.2 Чутливість та специфічність

Для визначення чутливості та специфічності клінічно охарактеризовані сироватки крові хворого на бореліоз Лайма, сироватки донорів крові та сироватки вагітних жінок були протестовані за допомогою ІФА з визначенням IgM проти *Borrelia afzelii* та ІФА з визначенням *Borrelia burgdorferi* для порівняння.

#### Чутливість

Sera collective (n=106); ранні прояви бореліозу Лайма (n=43), нейробореліоз (n=19), артрит Лайма (n=19), АСА (n=25).

ВІРОТЕХ ІФА Борелія афзелії IgM	Порівняльний тест		
	позитивний	негативний	прикордонний
позитивний	63	3	5
негативний	0	21 рік	2
граничний	2	7	3

Для ІФА *Borrelia afzelii* IgM чутливість > 99,0%.

Граничні сироватки не були включені до розрахунку.

Сцена	Чутливість [IgM]
Стадія I (EM, n=43)	92,1, %
Стадія II (NB, n=18)	72,2%
Стадія III (АСА, хвороба Лайма, n=44)	60,5%

#### Специфічність

Сироватки разом (n=88), сироватки з банків крові (n=78), сироватки вагітних жінок (n=10).

ВІРОТЕХ ІФА Борелія афзелії IgM	Порівняльний тест
--	-------------------

	позитивний	негативний	прикордонний
позитивний	2	1	1
негативний	0	81	1
прикордонний	0	2	0

Для ІФА-тесту IgM до *Borrelia afzelii* специфічність > 98,8%.

Граничні сироватки не були включені до розрахунку.

### 10.3 Перехресна реактивність

Відомі перехресні реакції з трепонема-позитивними сироватками.

Сироватки, реактивні до борелій, можуть утворюватися під час інфекції, пов'язаної з вірусом герпесу (переважно з вірусом Епштейна-Барр). Перехресні реакції з сироватками мікоплазми, *Helicobacter pylori*, ЦМВ, парвовірусу та ерсиній, а також аутоімунними сироватками зустрічаються рідше.

*Бліда трепонема* Позитивні сироватки, EBV-позитивні сироватки, а також аутоімунні сироватки досліджували за допомогою ІФА IgM проти *B. afzelii* щодо їх перехресної реактивності:

Колектив	позиція	негативний	ліміт	Сума
<i>Трепонема блідий</i> поз. сироватки	6	14	2	22
Сироватки EBV позитивні	6	3	1	10
Аутоімунні сироватки	1	13	1	15

### 10.4 Серопревалентність (очікувані значення)

У наступній таблиці наведено результати аналізів 78 сироваток крові донорів:

	IgM
негативний	74
прикордонний	3
позитивний	1

Це відповідає рівню зараження 1,3%:

### 10.5 Коефіцієнт варіації всередині аналізу (повторюваність)

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

### 10.6 Між аналізами коефіцієнт варіації (відтворюваність)

В 11 незалежних тестових сесіях різні тестувальники протестували позитивну, прикордонну та негативну сироватки в різних лабораторіях.

Сироватка	Середня оптична щільність (ОГ)	Коефіцієнт варіації BE
негативний	0,14	13.66
прикордонний	0,31	10.41
позитивний	1.49	10.52

## 11. Дані про продуктивність CSF-DIAGNOSTIC

Доказ специфічної інтратекальної продукції антитіл на основі визначення індексу антитіл за Райбером (21)

### 11.1 Чутливість та специфічність

Для визначення діагностичної чутливості було проведено тестування певних пар спинномозкової рідини/сироватки з позитивним результатом на нейробореліоз за допомогою VIROTECH ІФА.

### Діагностична чутливість IgM

	н	%
загальна сума	25	100
патологічний	24	96
нормальний	1	4

Чутливість становить 96%. 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 IgM

	н	%
загальна сума	20	100
патологічний	0	0
нормальний	20	100

Специфічність 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-тесту VIROTECH *Borrelia afzelii* IgM та референс-тесту.

### Чутливість та специфічність IgM

Пари спинномозкової рідини/сироватки (n=58)

VIROTEX ІФА	Довідковий тест	
	патологічний	нормальний
патологічний	22	1
нормальний	1	34

Чутливість ІФА-тесту VIROTECH *Borrelia afzelii* IgM для визначення IgM становить 95,7%, а специфічність — 97,1%.

## 11.2 Перехресна реактивність

У спинномозковій рідині та сироватці крові присутні однакові антитіла (22). Як наслідок, перехресні реакції з антитілами проти тих самих збудників можуть виникати як у серологічній діагностиці, так і в діагностиці спинномозкової рідини. З цієї причини дані серології можна застосовувати до діагностики спинномозкової рідини.

## 12. Посилання

1. Бургдорфер, В., Барбур, А.І., Хеис С.Ф. та ін. (1982), Хвороба Лайма – спiroхетоз, 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 Borrelieninfektion [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, Bogaard, 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 Kraiczy (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 (1997); Cell; 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, Veuche W: Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen; Thieme Verlag, Штутгарт, Нью-Йорк, 1999
21. Райбер Х., унд Ланге П. (1991) Кількісне визначення вірус-специфічних антитіл у спинномозковій рідині та сироватці крові: чутливе та специфічне виявлення синтезу антитіл у мозку, Clin Chem 37: 1153-60
22. Райбер, Х. та Петер Й.Б. (2001) Аналіз спинномозкової рідини: пов'язані із захворюваннями моделі даних та програми оцінки, Журнал неврологічних наук 184: 101-122.

### 13. Схема процедури аналізу

#### Підготовка зразків пацієнтів та розчину для промивання

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

▼ **Зразки IgM – розведення 1:101**

**Абсорбція ревмафактора за допомогою RF-SorboTech**

наприклад:

5 мкл сироватки/плазми + 450 мкл буфера для розведення +  
1 крапля RF-SorboTech, інкубувати протягом 15 хвилин за кімнатної температури.

#### Процедура аналізу

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