

Borrelia-IgM-ELISA medac

Русский

CE

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

medac

Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Fehlandtstrasse 3
D-20354 Hamburg

ОТДЕЛ МАРКЕТИНГА

medac

Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Geschäftseinheit Diagnostika
Theaterstarsse 6
D-22880 Wedel

Phone: ++49 / 4103 / 80 06-351

Fax: ++49 / 4103 / 80 06 – 359

АДРЕС

Phone: ++ 49 / 4103 / 80 06 - 111

Fax: ++ 49 / 4103 / 80 06 - 113

Borrelia – IgM – ELISA medac

Иммуноферментный анализ для количественного определения антител класса IgM к *Borrelia* в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости

Кат. № 201

Только для диагностики *in vitro*

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Лайма (Боррелиоз) относится к числу самых распространенных в Северном полушарии инфекций с трансмиссивным путем передачи. Это мультисистемное заболевание с различными стадиями, которые зависят от того, какими симптомами сопровождается заболевание, и какие органы были инфицированы (кожа, нервная система, суставы).

Возбудитель – *Borrelia burgdorferi sensu lato* – относится к группе бактерий спирохеты. В Европе отмечают три основных типа (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*). В организм возбудитель попадает с укусом инфицированного клеща.

Болезнь Лайма (Боррелиоз) – это, прежде всего, клинический диагноз. Такие критерии, как гарантированный (уверенный) контакт с клещами и наличие определённых симптомов, являются важнейшими факторами для интерпретации лабораторных результатов. Для установления диагноза рекомендуется провести серологическую пошаговую диагностику. Высокочувствительный и специфичный иммуноферментный анализ (скрининговый метод) является первым шагом выявления антител класса IgM и IgG. В случае положительного или сомнительного результата на наличие антител класса IgM и/или IgG проводится подтверждающая диагностика методом иммуноблота, где в качестве антигенов используются рекомбинантные белки.

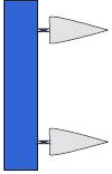
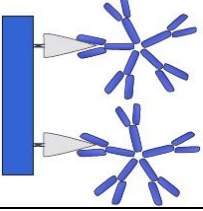
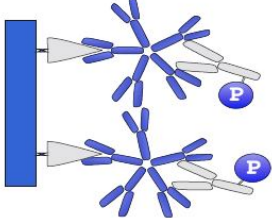
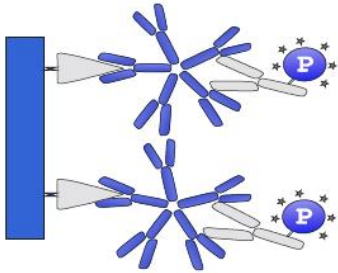
Специфичные сывороточные антитела выявляются у 20 – 50 % пациентов на I стадии заболевания (мигрирующая эритема), у 70 – 90% на II стадии (нейроборрелиоз) и почти у 100% пациентов на III стадии (акродерматит, Лайм-артрит).

Следовательно, отрицательный результат, полученный на ранней стадии инфицирования, не исключает наличия заболевания. В этом случае существует подозрение на боррелиоз, для диагностики которого проводится последующий серологический контроль. Антитела класса IgG и IgM к антигенам боррелий могут сохраняться более долгий период времени, даже после проведения эффективной терапии. Положительный результат на IgM при отрицательном на антитела IgG, как правило, исключает дальнейшее появление болезни.

Измененная цереброспинальная жидкость является основным критерием острого нейроборрелиоза. Выявление интратекально продуцированных антител является дополнительным средством подтверждения диагноза нейроборрелиоза. Для этого в парных сыворотках/ЦСЖ измеряется индекс *Borrelia*-специфичных антител (AI). В зависимости от продолжительности неврологических симптомов, интратекально продуцированные антитела выявляются у 80 – 100% пациентов. Индекс может измеряться даже через несколько лет после проведения эффективной терапии. Кроме того, интратекальный синтез *Borrelia*-специфичных антител является частью полиспецифической реакции у пациентов с множественным склерозом.

Иммуноферментный анализ для определения антител IgM к *Borrelia* компании **medac** – это анализ для количественного определения антител класса IgM, основанный на специфичных пептидных антигенах *Borrelia*. Данный тест пригоден для определения индекса патогенных специфичных антител в парных сыворотках/ЦСЖ.

ПРИНЦИП ТЕСТА

	Планшет, покрытый Borrelia -специфичными пептидными антигенами VlsE/OspC
	Borrelia -специфичные антитела из проб пациентов связываются с антигеном
	Конъюгированные с пероксидазой античеловеческие IgM антитела связываются с Borrelia -специфичными IgM антителами (P = пероксидаза)
	Инкубация с ТМВ-субстратом (*). Реакция останавливается добавлением серной кислоты. Абсорбция определяется фотометрически.

Преимущества теста

- Эффективность использования теста благодаря разделяемым микролуночным стрипам
- Подходит для работы на автоматическом открытом иммуноферментном анализаторе
- Одиночный подсчет, не требует стандартной кривой
- Не требует дополнительной калибровочной кривой для исследования цереброспинальной жидкости

СОДЕРЖИМОЕ УПАКОВКИ

Кат. № 201

1. МТР

Микропланшет: 12 стрипов по 8 лунок, окрашен в серый цвет (с рамкой и влагопоглощающим герметичным алюминиевым пакетом), разделяемые на отдельные лунки, U-образной формы, покрыты VlsE/OspC пептидным антигеном и BSA, готов к использованию.

2.

CONTROL	-
---------	---

Отрицательный контроль: 1 флакон - 1,5 мл, человеческая сыворотка, готов к использованию, окрашен в оранжевый цвет, содержит NBCS, фенол, ProClin™ 300 и гентамицина сульфат.

3.

CONTROL	+
---------	---

Положительный контроль: 1 флакон - 1,5 мл, человеческая сыворотка, готов к использованию, окрашен в оранжевый цвет, содержит фетальную телячью сыворотку, бычий сывороточный альбумин, фенол, ProClin™ 300 и гентамицина сульфат.

4.

CAL

Калибратор: 1 флакон – 1,5 мл, человеческая сыворотка, готов к использованию, окрашен в оранжевый цвет, содержит фетальную телячью сыворотку, бычий сывороточный альбумин, фенол, ProClin™ 300 и гентамицина сульфат.

5.

WB

Моющий буфер: 1 флакон 100 мл, PBS/Tween (10x), pH 7,2 - 7,4, содержит ProClin™ 300.

6.

BO-DIL

Буфер для разведения проб: 1 флакон 110 мл PBS/Tween/NBCS, pH 7,0 - 7,2, готов к использованию, окрашен в оранжевый цвет, содержит ProClin™ 300.

7.

CON

Конъюгат: 3 флакона по 4,5 мл каждый, козий античеловеческий IgM, конъюгированный HRP, готов к использованию, окрашенный в красный цвет, содержит бычий сывороточный альбумин, фенол, ProClin™ 300 и гентамицина сульфат.

8.

TMB

TMB-субстрат: 1 флакон 10 мл, готов к использованию.

9.

STOP

Стоп - раствор: 2 флакона по 11 мл каждый, 0.5 М раствор серной кислоты (H₂SO₄), готов к использованию.

10.

RF-ABS

IgG/RF-абсорбент: 1 флакон – 4 мл, козий античеловеческий IgG, готов к использованию, содержит < 0.1 % азид натрия.

1. ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

Материал/реагент	Состояние	Хранение	Стабильность
Тест – упаковка	Не открыта	2 ... 8 °С	До истечения срока годности
Микропланшет	Открыт	2 ... 8 °С в пакете с влагопоглотителем	6 недель
Контроли/Калибратор	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель
Моющий буфер	разведен	2 ... 8 °С	6 недель
Буфер для разведения проб	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель
Конъюгат	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель
ТМВ-субстрат	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель
Стоп - раствор	Открыт	2 ... 8 °С	До истечения срока годности
IgG/RF-абсорбент	Открыт	2 ... 8 °С	6 недель

Не использовать реагенты по истечении срока годности.

2. ДОПОЛНИТЕЛЬНО НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ

2.1. Вода для инъекций (H₂O). Использование деионизированной воды может привести к ошибкам при проведении теста.

2.2. Микропипетки с изменяемым объемом.

2.3. Чистый стеклянный или пластиковый контейнер для приготовления моющего буфера и образцов.

2.4. Необходимое оборудование для промывки микропланшет (мультистеппер или микропланшетный вошер).

2.5. 37 °С – инкубатор.

2.6. Микропланшетный ридер (фотометр) с фильтрами 450 нм и 620-650 нм.

3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ

Все компоненты набора должны быть доведены до комнатной температуры до начала процедуры.

Рассчитать необходимое количество стрипов.

3.1. Микропланшет

После каждого взятия стрипов алюминиевый пакет должен плотно закрываться вместе с влагопоглощающей прокладкой. Срок годности и условия хранения указаны в п. 1.

3.2. Моющий буфер

Смешать одну часть моющего буфера (10х) с девятью частями воды для инъекций (например, 50 мл моющего буфера (10х) с 450 мл воды для инъекций). На восемь стрипов необходимо 10 мл разведенного моющего буфера.

Кристаллы моющего буфера (10х) растворяются при нагревании (макс. 37 °С) и/или при взбалтывании при комнатной температуре.

Не смешивать специальные для теста реагенты (микропланшет, контроли, калибратор и конъюгат) с реагентами из других партий. Напротив, моющий буфер, IgG/RF-абсорбент, ТМВ-субстрат и стоп-раствор могут быть заменены во всех наборах *Borrelia medac*.

Реагенты других производителей не должны быть использованы.

Точные и воспроизводимые результаты могут быть получены, только если процедура теста выполнена точно.

4. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

4.1. Для теста пригодны образцы сыворотки и цереброспинальной жидкости (для исследования цереброспинальной жидкости см. п. 8).

4.2. Во избежание интерференции с высоким IgG титром и ревматоидного фактора (RF), абсорбция IgG/RF проводится для всех сывороток. Сыворотки используются в конечном растворе в пропорции 1:150. Они разбавляются в пропорции 1:100 буфером для разбавления образцов после разбавления в пропорции 1:1.5 IgG/RF абсорбентом. Образцы выше пределов измерения могут быть разведены дальше буфером для разбавления проб после RF абсорбции.

4.3. Сыворотки не требуют специальной инактивации. Однако они не должны быть контаминированы микроорганизмами или содержать эритроциты.

4.4. Диагностическое исследование парных сывороток/ЦСЖ подробно описано в пункте 8.

5. ПРЕДПИСАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ТЕСТА

5. А. IgG/RF – АБСОРБЦИЯ

Внимание:

* контроли готовы к использованию (абсорбция не требуется)

* указанные объемы применимы только для однократного измерения

5. А. 1. Сыворотки: 10 мкл сыворотки разводятся 990 мкл буфером для разведения проб (пропорция 1:100).

5. А. 2. Абсорбция: смешивают 20 мкл IgG/RF-абсорбента и 40 мкл разведенной сыворотки (пропорция 1:15), затем инкубируют при комнатной температуре в течение 15 минут.

5. А. 3. Пропорция разведения составляет 1:150.

5. В. ПРОЦЕДУРА

5. В. 1. Упаковку планшет вскрыть по линии вскрытия и взять необходимое количество стрипов (см. п. 3.1.).

Микропланшет готов к использованию и не требует предварительной отмывки.

5. В. 2. Внести 50 мкл разводящего буфера в лунку А1, используемую в качестве бланка (см.п. 6.А.). В соответствующие лунки добавить по 50 мкл отрицательного контроля, положительного контроля и разведенного образца в однократном измерении, а также 50 мкл калибратора в двух повторах.

При необходимости стрипы можно держать в течение 30 минут при комнатной температуре до начала проведения теста.

5. В. 3. Стрипы инкубировать в течение 60 мин (± 5 мин) при температуре 37 °С (± 1 °С) во влажной камере или заклеенными инкубационной оберточной фольгой.

5. В. 4. После инкубации промыть стрипы три раза 200 мкл моющего буфера на каждую лунку. Следить за тем, чтобы все лунки при промывке были заполнены. После окончания процесса отмывки вытряхнуть стрипы на фильтровальную бумагу.

Не позволяйте лункам высохнуть! Незамедлительно использовать!

5. В. 5. Добавить конъюгат (красного цвета) во все лунки.

50 мкл конъюгата добавляется в лунки, если процедура теста выполняется вручную.

Пожалуйста, помните:

при работе на автоматическом приборе (имеется в виду полный автомат) из-за большого испарения в инкубаторе прибора в каждую лунку должно быть пипетировано по 60 мкл.

Условия использования тестов на автоматических анализаторах были подтверждены эмпирическим путем. Кроме того, мы предлагаем проверять совместимость тестов с используемым оборудованием.

5. В. 6. Инкубировать в течение 60 мин. (± 5 мин) при температуре 37° С (± 1 °С) во влажной камере или заклеенными в инкубационную оберточную фольгу.

5. В. 7. После инкубации снова промыть микрострипы (см. п. 5. В. 4).

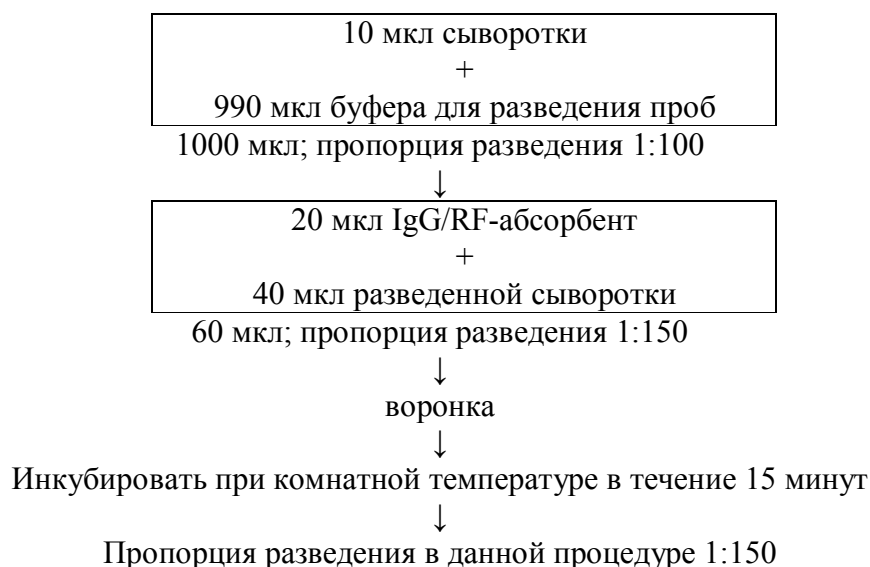
5. В. 8. Добавить во все лунки 50 мкл ТМВ-субстрата и инкубировать в течение 30 минут (± 2 мин) при температуре 37 °С (± 1 °С) во влажной камере или заклеенными в инкубационную фольгу в темноте. Положительные пробы приобретут голубой цвет.

5. В. 9. Добавить 100 мкл стоп-раствора в каждую лунку для остановки реакции. У положительных сывороток происходит смена окраски на желтый.

Перед фотометрическим считыванием очистите наружную поверхность дна лунок и проследите, чтобы в лунках отсутствовали воздушные пузырьки. Считывание необходимо производить в течение 15 минут после добавления стоп-раствора.

5. С. ТАБЛИЦА IgG/RF-АБСОРБЦИИ СЫВОРОТКИ

Показатель на измерение



5. D. ТАБЛИЦА РАБОЧЕЙ ПРОЦЕДУРЫ

	Бланк (A1)	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Калибратор	Проба
Буфер для разведения проб	50 мкл	-	-	-	-
Отрицательный контроль	-	50 мкл	-	-	-
Положительный контроль	-	-	50 мкл	-	-
Калибратор	-	-	-	50 мкл	-
Абсорбированная проба	-	-	-	-	50 мкл
Инкубировать в течение 60 минут при температуре 37 °С, промыть 3 раза моющим буфером 200 мкл					
Конъюгат	50/60 мкл *)	50/60 мкл *)	50/60 мкл *)	50/60 мкл *)	50/60 мкл *)

Инкубировать в течение 60 минут при температуре 37 °С, промыть 3 раза моющим буфером 200 мкл					
ТМВ-субстрат	50 мкл	50 мкл	50 мкл	50 мкл	50 мкл
Инкубировать в течение 60 минут при температуре 37 °С в темноте					
Стоп – раствор	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Фотометрическое считывание при 450 нм (референс 620 – 650 нм)					

*) ручная/автоматическая процедура (см. п. 5. В. 5)

6. А. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТА (Валидность)

- При оценке теста используются относительные единицы (AU).
- Чтение оптической плотности осуществляется при 450 нм (референс длины волны 620 – 650 нм).
- Значение ОП бланка (лунка А1) вычитается из всех других значений оптической плотности.
- Спецификация

Вместе с набором предоставляется спецификация на каждую партию со следующими данными:

- калибровочная кривая
- параметры кривой а и b
- номинальное значение ОП калибратора
- нижний предел ОП калибратора
- номинальный уровень концентрации (ОЕ/мл) положительного контроля

- Критерии валидации

- значение ОП **бланка** должно быть < **0. 100**.
- значение ОП **отрицательного контроля** должно быть < **0. 150**.
- значение **положительного контроля** должно быть в пределах номинальных значений, указанных в спецификации для каждой партии теста.
- значение ОП калибратора должно быть выше нижнего уровня ОП, указанного в спецификации для каждой партии теста.
- дополнительный критерий правильности данных оценки пары сыворотка – ЦСЖ указан в п. 8.

Повторите процедуру, если результаты не соответствуют спецификации.

- Коррекция результатов

Измеренное значение ОП положительного контроля и пробы корректируется следующим образом:

$$ОП_{\text{коррект.}} = \frac{\text{номинальное значение ОП калибратора}}{\text{измеренное значение ОП калибратора}} \times ОП_{\text{измеренное}}$$

- Количественная оценка результатов

Значение концентрации уже скорректированного значения ОП в ОЕ/мл можно найти в спецификации для каждой партии теста (см. спецификацию).

Или, ее можно рассчитать по следующей формуле:

$$\text{Концентрация [мОЕ/мл]} = b / \left(\frac{a}{\text{OD}_{\text{corrected}}} - 1 \right)$$

Большинство новых аппаратов для чтения планшетов ELISA вводят в программу формулу, таким образом, обеспечивая автоматическую обработку данных.

Пределы измерений для образцов сыворотки колеблются от 12.6 до 200 ОЕ/мл. Пробы с параметрами ниже данного диапазона интерпретируются как < 12.6 ОЕ/мл, а выше – как > 200 ОЕ/мл. Такие значения не могут быть экстраполированы.

Среднее значение (уровень отсечения) = 14 ОЕ/мл

Серая зона = 12.6– 15.4 ОЕ/мл

6. В. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ/ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Образцы, значения которых лежат ниже предела серой зоны, оцениваются как **Отрицательные**.
- Образцы, значения которых находятся в пределах серой зоны, оцениваются как **Неопределенные**.
Такие образцы должны быть повторно протестированы параллельно со свежими образцами, взятыми 14 дней спустя, для того чтобы определить изменение титра.
- Образцы, значения которых лежат выше предела серой зоны, оцениваются как **Положительные**.
- Результаты теста всегда интерпретируются вместе с клиническими данными, результатами *Wegelia-IgM* и другими возможными диагностическими параметрами.
- Согласно стандартам качества микробиологической диагностики болезни Лайма (боррелиоза) (MiQ12), неопределенные и положительные результаты иммуноферментного анализа подтверждаются с помощью Вестерн-блоттинга.
- Высокое содержание гемоглобина и липидов в сыворотке не влияет на результаты теста.
- Перекрестная реактивность с антителами на **T.pallidum** не исключается в отдельных случаях (см. п. 7. В).

7. ХАРАКТЕРИСТИКИ

Следующие характеристики были определены в процессе диагностических исследований.

7. А. ДОМИНИРОВАНИЕ СЕРОТИПА

Сыворотка крови 100 доноров была исследована в сравнении с конкурирующими методами ИФА. Было установлено преимущество в 1% по сравнению с конкурирующими методами (2%).

Borrelia-IgM-ELISA medac	Результаты конкурирующих методов ELISA				
		Отрицательный	Неопределенный	Положительный	Итого
	Отрицательный	95	2	1	98
	Неопределенный	0	1	0	1
	Положительный	0	0	1	1
Итого	95	3	2	100	

7. В. ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Сыворотки крови 75 пациентов с антителами к **T. pallidum** были оценены в сравнении с конкурентами иммуноферментного метода. Полученные результаты отображены в таблице:

Borrelia-IgM-ELISA medac	Результаты конкурирующих методов ELISA				
		Отрицательный	Неопределенный	Положительный	Итого
	Отрицательный	68	5	4	69
	Неопределенный	0	1	1	2
	Положительный	1	1	2	4
Итого	61	7	7	75	

7. С. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Образцы 322 пациентов с подозрением на боррелиоз прошли диагностическую оценку. Полученные данные сравнили с номинальными результатами. Номинальные результаты определялись в соответствии со стандартами MiQ, разработанных для диагностики болезни Лайма (MiQ12), с помощью конкурирующих методов ИФА и вестерн-блот набором в качестве сравнения. Сыворотка с пограничными результатами ELISA и блот-анализа была исключена и не оценивалась.

Borrelia-IgM-ELISA medac	Номинальные результаты				
		Отрицательный	Неопределенный	Положительный	Итого
	Отрицательный	154	0	36	190
	Неопределенный	2	0	5	7
	Положительный	11	0	114	125
Итого	167	0	155	322	

Специфичность = 92%

Чувствительность = 74%

Соответствие = 83%

Результаты IgG и IgM в сравнении с номинальными результатами, указанными выше, внесены в таблицу:

Borrelia-IgG/IgM-ELISA medac	Номинальные результаты				
		Отрицательный	Неопределенный	Положительный	Итого
	Отрицательный	48	0	5	53
	Неопределенный	1	0	0	1
	Положительный	11	0	232	243
Итого	60	0	237	297	

Специфичность = 80%

Чувствительность = 98%

Соответствие = 94%

7. D. ТОЧНОСТЬ

Проба	Среднестатистическая погрешность				Проба	Среднестатистическая погрешность			
	Средн. ОЕ	СО	КВ (%)	n		Средн. ОЕ	СО	КВ (%)	n
ПК	27.6	0.9	3.3	22	ПК	29.7	2.6	8.8	11
№1	80.5	1.8	2.2	22	№4	62.2	7.3	11.7	11
№2	29.8	0.8	2.7	22	№5	150.1	16.7	11.1	11
№3	185.9	3.9	2.1	22	№6	66.3	6.2	9.4	11
					№7	28.7	1.3	4.5	11

ПК = положительный контроль

8. ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Выявление синтеза *Borrelia*-специфичных антител в центральной нервной системе (ЦНС), как часть диагностического исследования цереброспинальной жидкости, является важным этапом установления диагноза нейроборрелиоза.

Выявление синтеза интратекальных *Borrelia*-специфичных антител осуществляется путем оценки индекса антител по формуле Райбера (Райбер 1987, 1999). Чтобы рассчитать индекс, необходимо выполнить следующие условия:

- рассчитать индекс альбумина (Q_{alb}) для оценки функций гематоэнцефалического барьера, а также рассчитать значение Лайма у пациентов с повышенным индексом общего IgM ($Q_{tot} > Q_{lim}$)
- провести оценку индекса общего IgM (Q_{tot})

8.1. ОБРАЗЦЫ

8.1.1. Тест подходит для образцов парных сывороток/ЦСЖ.

8.1.2. Во избежание интерференции с высоким IgG титром и ревматоидного фактора (RF), абсорбция IgG/RF проводится для всех сывороток и ЦСЖ.

8.1.3. Образцы сыворотки и ЦСЖ не требуют специальной инактивации. Однако они не должны быть контаминированы микроорганизмами или содержать эритроциты.

8.1.4. Сыворотка.

Сыворотки должны быть разведены 1:150 (см. п. 5.А). Если значение ОЕ выше 200 ОЕ/мл, образец разбавляют 10-кратно буфером для разведения проб после RF абсорбции (см. п. 8.4.).

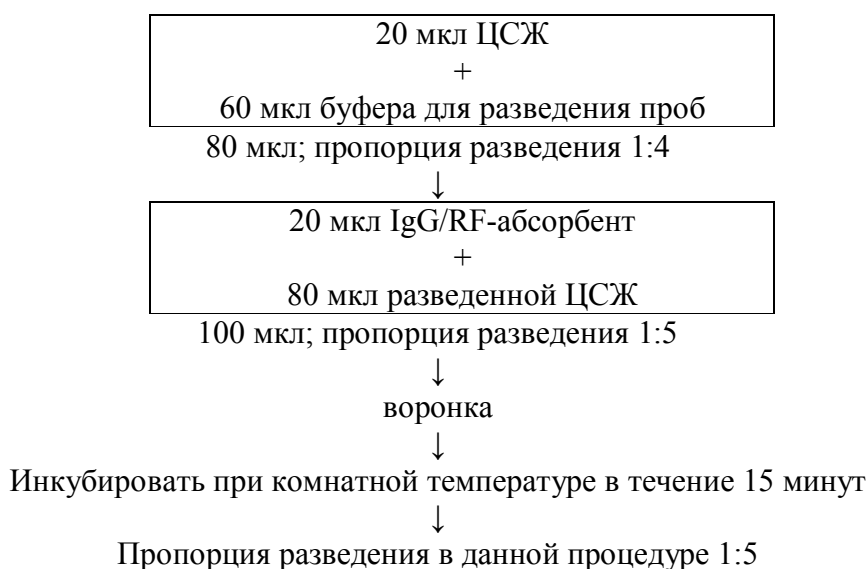
8.1.5. Цереброспинальная жидкость

ЦСЖ разводят в стандартной пропорции 1:5 буфером для разбавления проб. Для начала разводят в пропорции 1:4 буфером для разведения проб, а затем в пропорции 1:1.25 абсорбентом IgG/RF. Если полученная концентрация антител выше 200 ОЕ/мл, необходимо развести образец 10-кратно буфером для разведения проб после RF абсорбции (см. п. 8.4.).

Сыворотка крови и цереброспинальная жидкость всегда оцениваются параллельно в одной процедуре проведения теста (это правило также применимо к повторным измерениям).

8.1.6. ТАБЛИЦА IgG/RF-АБСОРБЦИИ СЫВОРОТКИ

Показатель на измерение



8.2. ПРЕДПИСАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ТЕСТА

Выявление *Borrelia*-IgM в паре сыворотка – ЦСЖ осуществляется согласно процедуре, описанной в п. 5. В.

8.3. ВЫЯВЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ОБЩЕГО IgG И АЛЬБУМИНА

Дополнительно к процедуре выявления *Borrelia*-специфичных антител класса IgM, необходимо определить в каждом образце пары сыворотка – ЦСЖ концентрации общего IgM и альбумина.

8.4. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТА

*** Точность**

Критерии точности описаны в п. 6.А.

Повторить процедуру, если результаты не соответствуют спецификации.

Следующие условия применимы к процедуре исследования ЦСЖ:

- пределы чувствительности теста для сыворотки 12.6– 200 ОЕ/мл.
- Сыворотки с содержанием антител < 12.6 ОЕ/мл в растворе 1:150 считаются серонегативными. В этом случае индекс антител не определяется.
- В отдельных случаях, пациенты с отрицательным серологическим статусом могут иметь интратекальные *Borrelia* антитела класса IgM, указывающие на предположительное наличие нейроборрелиоза, что подтверждается дальнейшими диагностическими исследованиями и расчетами.
- Пределы чувствительности для ЦСЖ – 6.25 – 200 ОЕ/мл.
- Образцы ЦСЖ пациентов с положительным серологическим статусом, значение которого лежит ниже допустимого предела чувствительности при разбавлении в пропорции 1:5, не рассчитываются. В этом случае наименее вероятен интратекальный синтез антител класса IgM к *Borrelia*.

*** Оценка**

- чтобы рассчитать значение ОЕ см. п. 6.А.
- рассчитать индекс патогенных специфичных антител IgM (Q_{spec}).

$$Q_{\text{spec}} = \frac{\text{ОЕ ЦСЖ} \times \text{раствор ЦСЖ}}{\text{ОЕ сыворотки} \times \text{раствор сыворотки}}$$

- рассчитать индекс антител

Индекс патогенности рассчитывается по формуле:

1. $AI = Q_{\text{spec}}/Q_{\text{tot}}$ (for $Q_{\text{tot}} < Q_{\text{lim}}$)
2. $AI = Q_{\text{spec}}/Q_{\text{lim}}$ (for $Q_{\text{tot}} > Q_{\text{lim}}$)
3. $Q_{\text{lim}} = 0,67 \times \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + 120 \times 10^{-6}} - 7,1 \times 10^{-3}$

8.5. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- значение индекса антител от 0.6 – 1.3 относится к норме.
- значение индекса антител > 1.3 и ≤ 1.5 относится к пограничным значениям.
- **Пределы патогенности индекс антител > 1.5 .**
- значение индекса антител < 0.6 относится к аналитической ошибке и не интерпретируется.
- измененная воспалением ЦСЖ и повышенный индекс альбумина являются критериями диагностики ЦСЖ для острого, активного заболевания ЦНС. Это говорит о нарушении проходимости ЦСЖ, возникшего из-за воспаления.
- повышенный индекс антител не является достоверным доказательством острой фазы инфекционного заболевания ЦНС, поскольку антитела, даже интратекально, могут присутствовать в течение долгого периода времени, а также может протекать синтез полиспецифичных антител, свойственных ЦНС. В некоторых случаях целесообразно выявить значимые изменения в среднем значении индекса антител путем проведения тестирования второй пары образцов сыворотка крови – ЦСЖ. В этих целях необходим сбор других образцов, который проводится спустя промежуток времени, в зависимости от клинической картины.

ОБЩИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- * Не путать флаконы с реактивами и их крышки во избежание перекрестного загрязнения.
- * Флаконы с реактивами после использования необходимо сразу же плотно закрыть, во избежание испарения и микробного заражения.
- * После использования остатки реагентов хранить согласно предписаниям по хранению, чтобы обеспечить указанный срок годности.
- * После использования все компоненты тестового набора должны храниться в своей оригинальной упаковке, во избежание смешивания реактивов из других тестов или партий (см. п. 3).

УКАЗАНИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТИ

- * Следует придерживаться предписаний по технике безопасности.
- * Реактивы, произведенные из человеческих биоматериалов, были проверены на HBsAg, анти-HIV-антитела, анти-HIV-1/2-антитела, HCV и классифицированы как неинфицированные. Однако рекомендуется обращаться с данным материалом как потенциально инфицированным, полученным из

биологических образцов животных (см. содержимое упаковки), соблюдая необходимые меры предосторожности.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ

Остатки химических препаратов в целом рассматриваются как опасные отходы. Обезвреживание и удаление отходов этого характера производится в соответствии с национальными и региональными инструкциями. Свяжитесь с местными специалистами или учреждениями по вопросам обезвреживания и удаления опасных отходов, где вы смогли бы получить соответствующие рекомендации.

Дата составления: 01.06.2010

ОБЗОР

- Aguero-Rosenfeld, M.E., Wang, G., Schwartz, I., Wormser, G. P.: Diagnosis of Lyme Borreliosis. *Clin Microbiol Rev* 18 (3), 484-509 (2005)
- Aguero-Rosenfeld, M.E.: Lyme Disease: Laboratory Issues. *Infect Dis Clin N Am* 22, 301-313 (2008)
- Goettner, G., Schulte-Spechtel, U., Hillermann, R., et al. : Improvement of Lyme Borreliosis Serodiagnosis by Newly Developed Recombinant Immunoglobulin G (IgG) and IgM Line Immunoblot Assay and Addition of VlsE and DbpA Homologues. *J Clin Microbiol* 43 (8), 3602-3609 (2005)
- Hofmann, H.: Lyme Borreliose. Kutane Manifestationen. *Hautarzt* 56 (8), 783-796 (2005)
- Jobe, D.A., Lovrich, S.D., Asp, K.E. et al.: Significantly Improved Accuracy of Diagnosis of Early Lyme Disease by Peptide Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Based on the Borreliacidal Antibody Epitope of *Borrelia burgdorferi* OspC. *Clin Vaccine Immunol* 15 (6), 981-985 (2008)
- Kaiser, R., Fingerle, V.: Neuroborreliose. *Nervenarzt* 80 (10), 1239-1251 (2009)
- Krause, A., Fingerle, V.: Lyme Borreliose. *Z Rheumatol* 68 (3), 239-254 (2009)
- Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie zur Neuroborreliose, 2008
- Mathiesen, M.J., Christiansen, M., Hansen, K. et al. : Peptide-Based OspC Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Serodiagnosis of Lyme Borreliosis. *J Clin Microbiol* 36 (12), 3474-3479 (1998)
- Mathiesen, M.J., Holm, A., Christiansen, M. et al. : The Dominant Epitope of *Borrelia garinii* Outer Surface Protein C Recognized by Sera from Patients with Neuroborreliosis Has a Surface-Exposed Conserved Structural Motif. *Infect Immun* 66 (9), 4073-4079 (1998)
- Nau, R., Christen, H.-J., Eiffert, H.: Lyme Disease-Current State of Knowledge. *Dtsch Arztebl Int* 106 (5), 72-82 (2009)
- Reiber, H., Felgenhauer, K.: Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin Chim Acta.* 319-328 (1987)
- Reiber, H.: Liquordiagnostik, in: *Klinische Neurologie*, Berlit, P.(Hrsg.): Springer Verlag, Heidelberg, 148-177 (1999)
- Stanek, G., Strle, F.: Lyme borreliosis: a European perspective on diagnosis and clinical management. *Curr Opin Infect Dis* 22, 450-454 (2009)
- Strle, F., Stanek, G.: Clinical Manifestations and Diagnosis of Lyme Borreliosis, in: *Lyme Borreliosis. Curr Probl Dermatol* 37, Lipsker, D., Jaulhac, B. (eds.): Karger Basel, 51-110 (2009)
- Wildemann, B., Oschmann, P., Reiber, H. (Hrsg.): *Neurologische Labor-diagnostik: Liquordiagnostik.* 30-73, Georg Thieme Verlag Stuttgart New York (2006)
- Wilske, B., Zoller, L., Brade, H., Eiffert, U.B., Stanek, G., Pfister, H.-W.: Quality Standards for the Microbiological Diagnosis of Infectious Diseases.: Lyme Borreliosis. (MIQ 12) Urban und Fischer Munchen (2000)
- Wilske, B.: Epidemiology and diagnosis of Lyme borreliosis. *Annals of Medicine* 37, 568-579 (2005)
- Wormser, G.P., Nowakowski, J., Nadelmann, R.B. et al. : Impact of Clinical Variables on *Borrelia burgdorferi*-Specific Antibody Seropositivity in Acute Phase Sera from Patients in North America with Culture-Confirmed Early Lyme Disease. *Clin Vaccine Immunol* 15 (10), 1519-1522 (2008)