

## VIDAS® Lyme IgM (LYM) - VIDAS® Lyme IgG (LYG)



VIDAS® Lyme IgM (LYM) (nr katalogowy 30 319) jest automatycznym testem jakościowym oznaczanym w systemie VIDAS® do wykrywania przeciwciał IgM przeciwko *Borrelia burgdorferi sensu lato* (sl) w ludzkiej surowicy lub osoczu. Jest pomocny przy diagnozowaniu boreliozy (choroby z Lyme).

VIDAS® Lyme IgG (LYG) (nr katalogowy 30 320) jest automatycznym testem jakościowym oznaczanym w systemie VIDAS® do wykrywania przeciwciał IgG przeciwko *Borrelia burgdorferi sensu lato* (sl) w ludzkiej surowicy lub osoczu. Jest pomocny przy diagnozowaniu boreliozy (choroby z Lyme).

VIDAS® Lyme IgG (LYGS) (nr katalogowy 30 320) jest automatycznym testem jakościowym oznaczanym w systemie VIDAS® do wykrywania przeciwciał IgG przeciwko *Borrelia burgdorferi sensu lato* (sl) w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR), w celu wykrycia dooponowego wytwarzania przeciwciał, jako pomoc przy diagnozowaniu neuroboreliozy.

Testy VIDAS® Lyme IgM oraz VIDAS® Lyme IgG wykonywane są przy użyciu techniki ELFA (metoda enzymoimmunofluorescencyjna).

## WPROWADZENIE

Borelioza (choroba z Lyme) jest chorobą zakaźną wywołaną przez różne szczepy *Borrelia burgdorferi* sl (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*), przenoszoną na skutek ukąszenia przez zakażonego kleszcza. Głównymi nosicielami w Europie są kleszcze *Ixodes ricinus*, a w Ameryce Północnej — *Ixodes pacificus* i *Ixodes scapularis* (1, 2).

Choroba ma charakter sezonowy, a do większości zakażeń dochodzi w okresie od wiosny do jesieni. Choroba ma najczęściej przebieg trójfazowy. W związku z tym borelioza jest często opisywana jako złożone schorzenie przebiegające ewolucyjnie od wczesnej do późnej fazy (jeśli nie jest leczona) (2, 3):

- wczesna lokalna borelioza (kilka dni do kilku tygodni) (faza I):  
objawy grypo-podobne z towarzyszącym rumieniem wędrującym (erythema migrans).
- wczesna rozsiana borelioza (tygodnie do miesięcy) (faza II):
  - objawy neurologiczne: wczesna neuroborelioza,
  - objawy reumatologiczne: zapalenie stawów na podłożu boreliozy,
  - objawy dermatologiczne, kardiologiczne i okulistyczne (stosunkowo rzadkie).
- późna borelioza (miesiące do lat) (faza III):
  - objawy neurologiczne: późna neuroborelioza,
  - objawy dermatologiczne: przewlekłe zanikowe zapalenie skóry dystalnych części kończyn (ACA),
  - objawy reumatologiczne.

W Europie neuroborelioza diagnozowana jest u około 15% pacjentów cierpiących na chorobę z Lyme (2). Objawy kliniczne są zróżnicowane i nieswoiste: porażenie nerwów twarzowych, zapalenie korzonków nerwowych, choroby sensoryczno-motoryczne, ból głowy itd. Oznaczenie w PMR przeciwciał specyficznych dla *Borrelia burgdorferi* jest dodatkowym argumentem przemawiającym za zdiagnozowaniem neuroboreliozy i pozwala określić indeks wewnątrzoponowego wytwarzania przeciwciał IgG. Indeks wykorzystywany jest do rozróżniania pomiędzy biernym przenikaniem przeciwciał IgG specyficznych dla *Borrelia burgdorferi* z surowicy do PMR oraz wytwarzaniem ich *in situ* w PMR (4).

Określenie tego parametru jest jednym z kryteriów diagnozy neuroboreliozy określonych przez konferencję dot. zgodnych działań w sprawie diagnozowania neuroboreliozy (2).

## Diagnoza

Wykrycie krętków w tkankach pobranych do badań (komórki skóry, błony maziowej) lub płynach ustrojowych (krew, PMR lub maź stawowa) w bezpośrednim barwieniu, hodowli lub metodami amplifikacji genów jest bardzo trudne i wykonywane tylko w wyspecjalizowanych laboratoriach.

Najczęściej stosowaną metodą biologicznego wykrywania infekcji jest wykrycie przeciwciał skierowanych przeciwko *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

Oznaczenie VIDAS® Lyme IgM wykorzystuje pipetkę SPR opłaszczoną przez rekombinowane, chimeryczne białko odpowiadające sekwencjom białkowym DbpA i OspC *Borrelia burgdorferi sensu stricto* B31, *Borrelia burgdorferi afzelii* PKo, *Borrelia burgdorferi garinii* PBi, PEi oraz 40.

Oznaczenie VIDAS® Lyme IgG wykorzystuje pipetkę SPR opłaszczoną przez rekombinowane, chimeryczne białko odpowiadające sekwencjom białkowym VlsE, DbpA i OspC *Borrelia burgdorferi sensu stricto* B31, *Borrelia burgdorferi afzelii* PKo, ACA-1, *Borrelia burgdorferi garinii* PBi oraz Ip90.

XVI Konferencja dot. Zgodnych Działań w sprawie Leczenia Przeciwinfekcyjnego — Borelioza z Lyme (16<sup>th</sup> Consensus Conference on Anti-Infective Therapy – Lyme borreliosis), Zgodne Działania Unii Europejskiej w sprawie Boreliozy z Lyme (EUCALB) oraz Centrum Kontroli Zachorowań (CDC) zalecają, aby laboratoria stosowały dwie metody testowe w diagnostyce serologicznej choroby z Lyme (2, 4, 5):

- Próbkę powinny być oznaczane najpierw przy użyciu bardziej czulej przesiewowej techniki immunoenzymatycznej (ELISA).
- Próbkę dodatnie lub wątpliwe powinny być następnie badane za pomocą bardziej specyficznej metody Western Blot (WB). Czulość i specyficzność testów ELISA i Western Blot zależy od ewolucji klinicznej. Ocena wyników powinna uwzględniać historię choroby i datę zakażenia.

## Leczenie

Wczesna antybiotykoterapia boreliozy (β-laktamy, cykliny lub makrolidy) może spowodować ustąpienie objawów klinicznych, a także zapobiec rozwojowi późniejszych faz boreliozy (2, 3).

**ZASADA**

VIDAS® Lyme IgM (nr katalogowy 30 319) i VIDAS® Lyme IgG (nr katalogowy 30 320) łączy 2-etapową enzymoimmunologiczną metodę kanapkową z końcowym odczytem fluorescencji (ELFA) (patrz podręcznik obsługi).

Pipetka SPR (Solid Phase Receptacle) służy jako faza stała, jak również jako urządzenie pipetujące w czasie oznaczenia. Odczynniki niezbędne do przeprowadzenia oznaczenia są gotowe do użycia w zamkniętych szczelnie studzienkach pasków testowych.

Wszystkie etapy oznaczenia przeprowadzane są automatycznie przez urządzenie. Medium reakcyjne jest kilkakrotnie, cyklicznie podciągane i wypuszczane z pipetki SPR.

Po wstępnym etapie płukania i rozcieńczeniu próbki przeciwciała przeciwko *B. burgdorferi* obecne w próbce będą przyłączać się do specyficznego rekombinowanego białka *B. burgdorferi* s1 opłaszczonego wewnątrz pipetki SPR.

Niezwiązane składniki próbki są odpłukiwane. Antyludzkie przeciwciała IgM (w przypadku testu VIDAS® Lyme IgM) i IgG (w przypadku testu VIDAS® Lyme IgG) wyznakowane fosfatazą alkaliczną będą przyłączać się do przeciwciał opłaszczonych na ściankach pipetki SPR. Końcowy etap płukania usuwa niezwiązany koniugat. Podczas końcowego etapu wykrywania substrat (fosforan 4-metyloumbeliferylu) jest cyklicznie wprowadzany do pipetki SPR i z niej wypuszczany. Enzym koniugatu katalizuje hydrolizę substratu do fluoryzującego produktu (4-metyloumbeliferonu), następnie mierzona jest fluorescencja przy długości fali 450 nm. Natężenie fluorescencji jest proporcjonalne do ilości przeciwciał anti-*B. burgdorferi* IgM (w przypadku testu VIDAS® Lyme IgM) i IgG (w przypadku testu VIDAS® IgG) obecnych w próbce.

Po zakończeniu oznaczeń, wyniki testów VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG są automatycznie wyliczane przez aparat. Dla każdego badania wyliczana jest wartość testowa i drukowany jest końcowy wynik.

**ZAWARTOŚĆ ZESTAWU VIDAS® LYME IGM (60 TESTÓW):**

60 pasków testowych LYM <sup>(a)</sup>	STR	Gotowe do użycia.
60 pipetek LYM SPR 2 × 30	SPR	Gotowe do użycia. Pipetki SPR opłaszczone rekombinowanym, chimerycznym białkiem <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> (DbpA i OspC)*.
Standard LYM <sup>(b)</sup> 1 × 1,8 ml (płynny)	S1	Gotowy do użycia. Ludzkie osocze** pozbawione fibryny zawierające przeciwciała IgM przeciwko <i>Borrelia burgdorferi</i> w buforze fosforanowym + stabilizatory + albumina wołowa (BSA) + MIT 1 g/l, pH 7,4. Przedział ufności dla „Względnej Wartości Fluorescencji (RFV)” podany jest na wydruku raportu po zeskanowaniu danych MLE po następującym zdaniu: („Standard (S1) RFV Range”).
Kontrola dodatnia LYM <sup>(b)</sup> 1 × 1,3 ml (płynna)	C1	Gotowa do użycia. Ludzkie osocze** pozbawione fibryny zawierające przeciwciała IgM przeciwko <i>Borrelia burgdorferi</i> w buforze fosforanowym + stabilizatory + BSA + MIT 1 g/l, pH 7,4. Na wydruku raportu po zeskanowaniu danych MLE podany jest indeks: przedział ufności („Control C1 (+) Test Value Range”).
Kontrola ujemna <sup>(b)</sup> 1 × 1,9 ml (płyn)	C2	Gotowa do użycia. Bufor fosforanowy + stabilizator białek pochodzenia zwierzęcego + środki konserwujące. Na wydruku raportu po zeskanowaniu danych MLE podany jest indeks: przedział ufności („Control C2 (-) Test Value Range”).
Fabryczne dane wymagane do skalibrowania testu: • dane MLE (Master Lot Entry) znajdujące się w zestawie lub • kod paskowy MLE umieszczony na etykiecie opakowania		
1 Ulotka techniczna zawarta w opakowaniu lub dostępna do pobrania na stronie: <a href="http://www.biomerieux.com/techlib">www.biomerieux.com/techlib</a> .		

\* Zgłoszony patent bioMérieux nr WO/2011/023909

\*\* Niniejszy produkt został poddany testom i uznany za wolny od antygenu HBS, przeciwciał przeciwko HIV1, HIV2 i HCV. Jednak ponieważ nie istnieje metoda mogąca zapewnić całkowitą pewność jeżeli chodzi o wykluczenie obecności tych patogenów, niniejszy produkt powinien być traktowany jako potencjalnie zakaźny. Z tego względu należy przestrzegać obowiązujących środków bezpieczeństwa.



(a) **NIEBEZPIECZEŃSTWO**

**UWAGA**



EUH208 / H317 / H318 / P261 / P280 / P302 + P352 / P305 + P351 + P338



(b) **UWAGA**

EUH208 / H317 / P261 / P280 / P302 + P352

**Zwrot określający zagrożenie**

EUH208: Zawiera 2-methyl-2H-isothiazolin-3-one. Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.

H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry.

H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

Zwrot określający środki ostrożności

P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.

P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P302 + P352: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ NA SKÓRĘ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.

P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

Więcej informacji znajduje się w Karcie Charakterystyki Produktów Niebezpiecznych.

**ZAWARTOŚĆ ZESTAWU VIDAS® LYME IGG (60 TESTÓW):**

60 pasków testowych LYG <sup>(a)</sup>	STR	Gotowe do użycia.
60 pipetek LYG SPR 2 × 30	SPR	Gotowe do użycia. Pipetki SPR opłaskane rekombinowanym, chimerycznym białkiem <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> (VlsE*, DbpA i OspC**).
Standard LYG <sup>(b)</sup> 1 × 1,8 ml (płynny)	S1	Gotowy do użycia. Przeciwciała IgG przeciwko <i>Borrelia burgdorferi</i> w buforze fosforanowym + BSA + MIT 1 g/l, pH 7,2. Przedział ufności dla „Względnej Wartości Fluorescencji (RFV)” podany jest na wydruku raportu po zeskanowaniu danych MLE po następującym zdaniu: („Standard (S1) RFV Range”).
Kontrola dodatnia LYG <sup>(b)</sup> 1 × 1,3 ml (płynna)	C1	Gotowa do użycia. Przeciwciała IgG przeciwko <i>Borrelia burgdorferi</i> w buforze fosforanowym + BSA + MIT 1 g/l, pH 7,2. Na wydruku raportu po zeskanowaniu danych MLE podany jest indeks: przedział ufności („Control C1 (+) Test Value Range”).
Kontrola ujemna <sup>(b)</sup> 1 × 1,9 ml (płyn)	C2	Gotowa do użycia. Bufor fosforanowy + stabilizator białek pochodzenia zwierzęcego + środki konserwujące. Na wydruku raportu po zeskanowaniu danych MLE podany jest indeks: przedział ufności („Control C2 (-) Test Value Range”).
Fabryczne dane wymagane do skalibrowania testu: • dane MLE (Master Lot Entry) znajdujące się w zestawie lub • kod paskowy MLE umieszczony na etykiecie opakowania		
1 Ulotka techniczna zawarta w opakowaniu lub dostępna do pobrania na stronie: <a href="http://www.biomerieux.com/techlib">www.biomerieux.com/techlib</a> .		

\* Zgłoszony patent bioMérieux nr WO/2011/023914

\*\* Zgłoszony patent bioMérieux nr WO/2011/023909



(a) **NIEBEZPIECZEŃSTWO**

**UWAGA**



EUH208 / H317 / H318 / P261 / P280 / P302 + P352 / P305 + P351 + P338



(b) **UWAGA**

EUH208 / H317 / P261 / P280 / P302 + P352

Zwrot określający zagrożenie

EUH208: Zawiera 2-methyl-2H-isothiazolin-3-one. Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.

H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry.

H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

Zwrot określający środki ostrożności

P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.

P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P302 + P352: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ NA SKÓRĘ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.

P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

Więcej informacji znajduje się w Karcie Charakterystyki Produktów Niebezpiecznych.

**Pipetka SPR**

Wnętrze pipetki SPR — w zestawach VIDAS® Lyme IgM (nr katalogowy 30 319) i VIDAS® Lyme IgG (nr katalogowy 30 320) — jest w czasie produkcji opłaszczane kombinacją 3 epitopów *B. burgdorferi* *sl.* Każda pipetka SPR jest oznaczona kodem LYM w przypadku zestawu VIDAS® Lyme IgM i kodem LYG w przypadku zestawu VIDAS® Lyme IgG. Powinno się wyjmować z torebki tylko potrzebną liczbę pipetek SPR, a potem ją dokładnie zamknąć.

**Pasek testowy**

Pasek testowy — w zestawach VIDAS® Lyme IgM (nr katalogowy 30 319) i VIDAS® Lyme IgG (nr katalogowy 30 320) — składa się z 10 studzienek zakrytych folią i oznaczonych. Etykieta naklejona na folii zawiera kod paskowy, który określa typ wykonywanego testu, numer serii i datę ważności testu. Aby ułatwić wprowadzenie badanej próbki do pierwszej studzienki, folia zakrywająca tę studzienkę jest perforowana. Ostatnią studzienką w każdym zestawie jest kuweta pomiarowa, w której dokonywany jest pomiar fluorescencji. Studzienki w centralnej części paska zawierają wymagane odczynniki.

**Opis paska testowego LYM:**

Studzienka	Odczynniki
1	Próbka.
2	Rozcieńczalnik próbki: Bufor TRIS, NaCl + neutralizator + detergent + BSA + MIT 1 g/l, pH 7,4 (400 µl).
3 - 4 - 5	Bufor płuczący: Bufor TRIS, NaCl + detergent + MIT 1 g/l, pH 7,8 (600 µl).
6	Koniugat: Bufor TRIS, NaCl + BSA + mianowana mieszanina mysich monoklonalnych anty-ludzkich przeciwciał IgM wyznakowanych alkaliczną fosfatazą + MIT 1 g/l, pH 7,4 (400 µl).
7 - 8	Bufor płuczący: Bufor TRIS, NaCl + detergent + MIT 1 g/l, pH 7,8 (600 µl).
9	Pusta studzienka.
10	Kuweta pomiarowa z substratem: fosforan 4-metyloumbeliferylu (0,6 mmol/l) + dietanolamina DEA (0,62 mol/l lub 6,6%, pH 9,2) + 1 g/l azodyku sodu (300 µl).

**Opis paska testowego LYG:**

Studzienka	Odczynniki
1	Próbka.
2	Rozcieńczalnik próbki: bufor fosforanowy, NaCl + neutralizator + detergent + BSA + MIT 1 g/l, pH 7,2 (600 µl).
3 - 4 - 5	Bufor płuczący: Bufor TRIS, NaCl + detergent + MIT 1 g/l, pH 7,8 (600 µl).
6	Koniugat: bufor fosforanowy, NaCl + albumina bydlęca + mianowana mieszanina mysich monoklonalnych anty-ludzkich przeciwciał IgG wyznakowanych alkaliczną fosfatazą + MIT 1 g/l, pH 6,1 (400 µl).
7 - 8	Bufor płuczący: Bufor TRIS, NaCl + detergent + MIT 1 g/l, pH 7,8 (600 µl).
9	Pusta studzienka.
10	Kuweta pomiarowa z substratem: fosforan 4-metyloumbeliferylu (0,6 mmol/l) + dietanolamina DEA (0,62 mol/l lub 6,6%, pH 9,2) + 1 g/l azodyku sodu (300 µl).

**WYPOSAŻENIE I MATERIAŁY ZUŻYWALNE WYMAGANE, LECZ NIEWCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU**

- Pipeta 100 µl z jednorazowymi końcówkami.
- Rękawiczki jednorazowe bez talku.
- Informacje dotyczące innego wyposażenia i materiałów zużywalnych można znaleźć w podręczniku obsługi aparatu.
- Aparat z systemu VIDAS®.

**OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI**

- **Wyłącznie do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.**
- **Wyłącznie do specjalistycznego zastosowania.**
- **Zestaw VIDAS® Lyme IgM zawiera produkty pochodzenia ludzkiego. Żadne znane analizy nie gwarantują całkowitej nieobecności czynników zakaźnych. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Z tego powodu powinno się przestrzegać zasad bezpieczeństwa przy posługiwaniu się nimi (nie spożywać i nie wdychać).**
- Zestawy VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG zawierają produkty pochodzenia zwierzęcego. Poparta certyfikatem wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują całkowitej nieobecności czynników zakaźnych. Zaleca się, aby produkty takie były traktowane jako potencjalnie zakaźne. W związku z tym przy posługiwaniu się nimi należy zachować standardowe środki ostrożności (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki pacjentów należy traktować jako potencjalnie zakaźne i należy przestrzegać rutynowych środków bezpieczeństwa biologicznego. Wszystkie zużyte składniki i inne materiały skażone należy utylizować zgodnie z procedurami przyjętymi dla produktów uzyskanych z krwi ludzkiej o potencjalnym ryzyku biologicznym (6, 7, 8).
- Pomimo że rekombinowane białka *B. burgdorferi* opłaszczane wewnątrz pipetek SPR zostały inaktywowane, pipetki SPR należy traktować jako potencjalnie zakaźne.
- Nie wolno używać pipetek SPR, jeżeli torebka, w której się znajdują, jest uszkodzona.
- Nie wolno używać wizualnie uszkodzonych pasków testowych (zniszczona folia lub plastik).
- Nie wolno używać odczynników po upływie daty ważności wskazanej na etykiecie pudełka.
- Nie mieszać odczynników (lub materiałów zużywalnych) pochodzących z różnych serii.
- Należy używać rękawiczek **bez talku**, ponieważ w przypadku pewnych badań immunoenzymatycznych talk może wpływać na poprawność wyników (9).
- Należy zapoznać się z zagrożeniami „H” i ostrzeżeniami „P” wymienionymi powyżej.
- Zabrudzenia aparatu powinny być dokładnie wycierane przy użyciu roztworu detergentu lub przygotowanego, wybielającego roztworu zawierającego przynajmniej 0,5% podchlorynu sodu. Informacje dotyczące usuwania zabrudzeń znajdujących się wewnątrz lub na zewnątrz aparatu zawarte są w podręczniku obsługi. Nie wolno autoklawować substancji zawierających wybielacz.
- Aparaty powinny być regularnie czyszczone i poddawane dekontaminacji (patrz podręcznik obsługi).

**WARUNKI PRZECHOWYWANIA**

- Zestawy VIDAS® Lyme IgM and VIDAS® Lyme IgG należy przechowywać w temp. 2–8 °C.
- **Nie należy zamrażać odczynników.**
- **Wszystkie nieużyte odczynniki należy przechowywać w temp. 2–8 °C.**
- Po otwarciu zestawu należy sprawdzić, czy torebka z pipetkami SPR jest zapieczętowana i czy nie jest uszkodzona. Jeżeli jest uszkodzona, nie należy stosować takich pipetek SPR.
- **W celu zapewnienia stabilności pipetek SPR, torebkę należy dokładnie zamknąć, pamiętając aby w środku pozostał osuszacz. Tak zabezpieczony zestaw można dalej przechowywać w temp. 2–8 °C.**
- Jeżeli spełnione zostaną wszystkie warunki przechowywania, zestaw jest ważny aż do daty ważności podanej na etykiecie.

**MATERIAŁY****Typy materiałów i ich pobieranie:**

- Surowica lub osocze w przypadku testów VIDAS® Lyme IgG (LYG) i VIDAS® Lyme IgM (LYM).
- PMR w przypadku testu VIDAS® Lyme IgG (LYGS).

**Rodzaje stosowanych probówek:**

- Probówki suche.
- Probówki z heparyną litową lub heparyną sodową.
- Probówki z żelą rozdzielaającym.

Nie należy używać surowic inaktywowanych cieplnie. Przed przystąpieniem do badania, próbki zawierające substancje upostaciowione należy oczyścić poprzez odwirowanie lub filtrację.

PMR musi zostać przygotowany zgodnie z obowiązującymi zaleceniami (10).

- Płyn należy pobrać przez nakłucie łędźwiowe w tym samym dniu, co próbkę krwi.
- Jeśli jest to konieczne, należy oczyścić próbki przed ich oznaczeniem poprzez wirowanie.
- Nie należy oznaczać krwawego PMR, próbek zawierających substancje upostaciowione oraz próbek zanieczyszczonych.
- Minimalna objętość próbki wynosi 100 µl.

**Interferencje związane z próbą (osocze lub surowica)**

Zaleca się nie używać do badań surowic zhemolizowanych, lipemicznych lub żółtaczkowych. Do badania należy pobrać nową próbkę.

Żaden z poniższych czynników nie ma znaczącego wpływu na wynik oznaczenia.

- hemoliza (po dodaniu do próbki znanej ilości hemoglobiny: 5 g/l (monomer)),
- lipemia (po dodaniu do próbki znanej ilości lipidów: 30 g/l w przeliczeniu na trójglicerydy),
- bilirubinemia (po dodaniu do próbki znanej ilości bilirubiny: 0,3 g/l).

**Trwałość materiału****- Surowica, osocze**

Jeżeli próbki nie mogą być oznaczone w dniu pobrania, należy je przechowywać w zamkniętych korkiem probówkach maks. do 6 dni w temp. 2–8 °C. Jeżeli wymagane jest dłuższe przechowywanie, należy zamrozić surowice w temp. –25 ± 6 °C. Przeprowadzone badania wykazały, że jakość uzyskiwanych wyników nie zmienia się dla próbek zamrożonych przez czas do 6 miesięcy. W czasie badań potwierdzono możliwość dwukrotnego zamrożenia i rozmrożenia próbek.

**- Płyn mózgowo-rdzeniowy**

Przed oznaczeniem próbki należy przechowywać w temperaturze 2–8 °C przez czas do 48 godzin. Jeżeli wymagane jest dłuższe przechowywanie, należy zamrozić próbki PMR w temperaturze –25 ± 6 °C lub, jeśli jest to możliwe, w temperaturze –80 °C (10).

**INSTRUKCJA UŻYTKOWANIA**

Pełne informacje zawarte są w podręczniku obsługi aparatu.

**Wprowadzanie danych protokołu VIDAS® PTC**

Jeśli test VIDAS® Lyme IgM (nr katalogowy 30 319) lub VIDAS® Lyme IgG (nr katalogowy 30 320) wykorzystywany jest po raz pierwszy, **należy przed odczytem danych MLE**, zeskanować przy pomocy zewnętrznego czytnika kody kreskowe znajdujące się na końcu ulotki technicznej testu. Odczyt ten umożliwi systemowi VIDAS® przesłanie danych protokołu PTC do oprogramowania analizatora w celu jego aktualizacji. Dane te powinny być odczytywane tylko przy pierwszym użyciu testu.

**Typy oznaczeń i protokołów**

	Test Lyme IgM	Test Lyme IgG	
Próbka	Surowica lub osocze	Surowica lub osocze	PMR
Kod testu	LYM	LYG	<b>LYGS</b>
Paski	LYM	LYG	LYG
Pipetki SPR	LYM	LYG	LYG
Kalibracja	LYM	LYG	LYGS

**Krzywa kalibracyjna**

**Uwaga:** Jeśli test VIDAS® Lyme IgM (nr katalogowy 30 319) lub VIDAS® Lyme IgG (nr katalogowy 30 320) wykorzystywany jest po raz pierwszy, konieczne jest wprowadzenie danych protokołu VIDAS® PTC (kody kreskowe znajdujące się na końcu ulotki technicznej) **PRZED** odczytaniem danych MLE. Jeśli dane MLE zostały odczytane przed wprowadzeniem danych protokołu VIDAS® PTC, należy ponownie odczytać dane MLE.

Przed każdym użyciem nowej serii odczynników VIDAS® Lyme IgM (nr katalogowy 30 319) lub VIDAS® Lyme IgG (nr katalogowy 30 320) należy wprowadzić do pamięci aparatu fabryczne dane krzywej kalibracyjnej MLE (Master Lot Entry) dołączone do każdego zestawu.

**Bez wprowadzenia danych MLE** aparat nie będzie miał możliwości wydrukowania wyniku. Dane MLE wprowadza się raz dla każdej serii testu.

Dane MLE można wprowadzać ręcznie lub automatycznie, w zależności od aparatu (patrz podręcznik obsługi).

**Kalibracja testów VIDAS® Lyme IgM (LYM), VIDAS® Lyme IgG przy pomocy surowicy lub osocza (LYG) i VIDAS® Lyme IgG przy pomocy PMR (LYGS)**

Kalibracja testów VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG przy użyciu standardu dołączonego do zestawu musi być przeprowadzana po otwarciu każdej nowej serii odczynników, ale dopiero po wprowadzeniu danych MLE. Kalibrację należy przeprowadzać co 28 dni. Dzięki tej operacji uzyskuje się krzywe kalibracyjne specyficzne dla danego urządzenia, operacja ta również pozwala skompensować ewentualne, niewielkie odchylenia sygnału, aż do upłynięcia daty ważności zestawu.

Standard, oznaczony jako S1, powinien być badany w **duplecie** (patrz podręcznik obsługi). Poziom RFV „Relative Fluorescence Value” standardu musi się zawierać w wyznaczonym przedziale. Jeżeli tak nie jest, należy ponownie wykonać kalibrację.

Wartości spodziewane dla standardu są wprowadzane przy użyciu danych MLE do aparatu. Jeżeli uzyskane wartości standardu odbiegają od wartości spodziewanych, będzie to oflagowane na wydruku i nie będzie wyniku badania.

**Do kalibracji testów „LYG” i „LYGS” służy standard S1 „LYG”.**

**Procedura kalibracji testów VIDAS® Lyme IgM (LYM), VIDAS® Lyme IgG przy pomocy surowicy lub osocza (LYG) i VIDAS® Lyme IgG przy pomocy PMR (LYGS)**

**1. Wyjąć z lodówki odpowiednią ilość odczynników i natychmiast ich użyć. Można ich użyć od razu.**

**2. Wyjąć z pudełka po jednym pasku testowym „LYM” i jednej pipetce SPR „LYM” dla każdej oznaczanej próbki surowicy lub osocza, kontroli lub standardu.**

Wyjąć z pudełka po jednym pasku testowym „LYG” i jednej pipetce SPR „LYG” dla każdej oznaczanej próbki surowicy lub osocza, kontroli lub standardu.

Wyjąć z pudełka po jednym pasku testowym „LYG” i jednej pipetce SPR „LYG” dla każdej oznaczanej próbki PMR, kontroli lub standardu. **W tym przypadku test oznaczony jest kodem LYGS.**

**3. Należy zwrócić uwagę, by po wyjęciu odpowiedniej liczby pipetek, torebka z pipetkami SPR była stale, szczelnie zamknięta.**

**4. Test identyfikowany jest w aparacie kodem „LYM”, „LYG” lub „LYGS”. Jeśli oznaczany jest standard, jako identyfikator próbki należy wprowadzić „S1”.**

**5. Standard musi być oznaczony jako „S1” i badany w **duplecie**. Jeżeli testowana jest kontrola dodatnia, powinna być zidentyfikowana jako „C1”. Jeśli ma być testowana kontrola ujemna, powinna być ona oznaczona kodem „C2”.**

**6. Wymieszać standard, kontrolę i próbki przy użyciu mieszadła Vortex (dotyczy to surowicy i osocza niezawierających osadu).**

**7. W przypadku tego testu objętość oznaczanego standardu, próbki lub kontroli wynosi 100 µl.**

**8. Oznaczenia surowicy lub osocza testami LYM lub LYG mogą zostać przeprowadzone w tej samej sekcji aparatu. Jednak test LYGS pozwalający oznaczyć IgG w PMR musi być oznaczany w innej sekcji aparatu niż test LYG, w którym oznaczane są IgG w surowicy lub osoczu.**

**9. Umieścić paski testowe i pipetki SPR w aparacie. Sprawdzić, czy kolorowe oznaczenia z kodem testu na pipetkach SPR zgadzają się z analogicznymi kodami umieszczonymi na paskach testowych.**

**10. Rozpocząć oznaczenie zgodnie z podręcznikiem obsługi. Wszystkie etapy badania są wykonywane automatycznie przez aparat.**

**11. Po zakończeniu pipetowania zamknąć probówki korkiem i umieścić je w temperaturze 2–8 °C.**

**12. Oznaczenie zostanie przeprowadzone w ciągu około **27 minut**. Po zakończeniu badania wyjąć paski testowe i pipetki SPR z aparatu.**

**13. Wyrzucić zużyte pipetki SPR i paski do odpowiednie-go pojemnika.**

**WYNIKI I INTERPRETACJA**

Po zakończeniu testu VIDAS® Lyme IgM (nr katalogowy 30 319) lub VIDAS® Lyme IgG (nr katalogowy 30 320) instrument automatycznie analizuje wyniki. Odczyt fluorescencji w kuwecie pomiarowej każdego paska testowego wykonywany jest dwukrotnie. Wstępny odczyt dotyczy tła kuwety z substratem przed wprowadzeniem do substratu pipetki SPR. Drugi odczyt fluorescencji następuje po inkubacji substratu z enzymem pokrywającym wewnętrzną powierzchnię pipetki SPR. Wartość RFV (Relative Fluorescence Value (Względna wartość fluorescencji)) obliczana jest jako różnica wartości końcowej i tła. Obliczona wartość RFV pojawia się na końcowym wydruku.

Wartość indeksu (stosunek sygnału fluorescencyjnego dla surowicy testowej do sygnału fluorescencyjnego standardu przechowywanego w pamięci) obliczany jest przez instrument w następujący sposób:

$i = \text{indeks} = \text{RFV pacjenta} / \text{RFV standardu}$

Wartość indeksu i interpretacja wyniku pojawiają się na wydruku. Wartość indeksu jest interpretowana w następujący sposób:

- **Surowica, osocze**

**VIDAS® Lyme IgM (LYM)**

Indeks	Interpretacja wyniku testu LYM
$i < 0,20$	Ujemny
$0,20 \leq i < 0,32$	Wątpliwy
$i \geq 0,32$	Dodatni

**VIDAS® Lyme IgG (LYG)**

Indeks	Interpretacja dla surowicy lub osocza
$i < 0,20$	Ujemny
$i \geq 0,20$	Dodatni

Wartości odcięcia VIDAS® Lyme IgG oraz Lyme IgM to wyniki uzyskane po badaniu i analizie krzywych ROC. Status kliniczny próbek użytych w badaniach uzyskano z użyciem dostępnej w sprzedaży metody immunoblottingu (Western Blot).

EUCALB i CDC zalecają obecnie, aby wszelkie próbki ocenione jako wątpliwe lub dodatnie metodą ELISA dodatkowo oznaczyć metodą immunoblotting (Western Blot) (10). Jako zasadę należy przyjąć, że wyniki takie należy interpretować w oparciu o obraz kliniczny, historię przypadku oraz wyniki innych testów biologicznych (4, 11). Przy interpretacji wyników testów VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG pomocą może poniższa tabela:

Wynik VIDAS® Lyme IgM	Wynik VIDAS® Lyme IgG	Możliwa interpretacja
Ujemny	Ujemny	Zakażenie mało prawdopodobne. W przypadku podejrzeń klinicznych (ugryzienie kleszcza, objawy neurologiczne itd.), należy pobrać kolejną próbkę w późniejszym okresie.
Dodatni	Ujemny	Prawdopodobna wczesna infekcja.
Dodatni	Dodatni	Prawdopodobna wczesna lub rozsiana infekcja.
Ujemny	Dodatni	Prawdopodobna każda faza infekcji (wczesna, rozsiana lub chroniczna).
Wątpliwy lub dodatni, bliski wartości odcięcia	Dodatni, bliski wartości odcięcia	W zależności od kontekstu i historii choroby, należy wziąć pod uwagę wczesną infekcję lub bliznę serologiczną.
Wątpliwy lub dodatni, bliski wartości odcięcia	Ujemny	W zależności od kontekstu i historii choroby, należy wziąć pod uwagę wczesną infekcję lub interferencję innej choroby.

- **Płyn mózgowo-rdzeniowy**

**VIDAS® Lyme IgG (LYGS)**

Wykrycie przeciwciał skierowanych przeciwko *Borrelia burgdorferi* w PMR, w przypadku objawów neurologicznej postaci boreliozy, jest dodatkowym argumentem przemawiającym za zdiagnozowaniem neuroboreliozy. Umożliwia to określenie indeksu dooptycznego wytwarzania przeciwciał IgG (IAP) w oparciu o dodatkową jednoczesną analizę próbki krwi i próbki PMR (2).

W istocie indeks przeciwciał uwzględnia oznaczenie przeciwciał IgG skierowanych przeciwko *Borrelia burgdorferi* w surowicy i PMR pacjentów, po skorygowaniu rozbieżności w poziomie białka w obydwu próbkach. Indeks jest stosowany do rozróżniania pomiędzy biernym przenikaniem przeciwciał IgG specyficznych dla *Borrelia burgdorferi* z surowicy do PMR oraz wytwarzaniem ich *in situ* w PMR (4).

Określanie IAP oparte jest na indeksie VIDAS® Lyme IgG uzyskanym dla surowicy i PMR pacjenta oraz mian albuminy (metoda Tibblinga) i całkowitych IgG (metoda Reibera) w tych samych dwóch próbkach (12).

Metoda Tibblinga:

$$\text{IAP} = \frac{[(\text{Indeks VIDAS Lyme IgG CSF} / \text{Indeks VIDAS Lyme IgG dla surowicy}) / 9^*]}{[(\text{miano albuminy w PMR} / \text{miano albuminy w surowicy})]}$$



**Metoda Reibera:**

$$\text{IAP} = \frac{[(\text{Indeks VIDAS Lyme IgG CSF} / \text{Indeks VIDAS Lyme IgG dla surowicy}) / 9^*]}{[(\text{miano całkowitego IgG w PMR} / \text{miano całkowitego IgG w surowicy})]}$$

\* współczynnik niezmienności, specyficzny dla protokołu testu.

**Uwaga:** Za wybór metody oznaczenia albuminy i całkowitego IgG oraz ich mian odpowiedzialne jest laboratorium. Przy oznaczaniu miana albuminy i całkowitego IgG w próbkach krwi i PMR należy użyć tej samej metody.

Wartość indeksu większa bądź równa 2 wskazuje na dooponowe wytwarzanie przeciwciał IgG specyficznych dla *Borrelia burgdorferi*. Wartość indeksu mniejsza od 2 nie potwierdza, ani nie wyklucza dooponowego wytwarzania przeciwciał.

Ograniczenia dla stosowania indeksu dooponowego wytwarzania przeciwciał:

- Wzoru obliczeń nie stosuje się dla indeksów VIDAS® Lyme IgG dla surowicy  $\leq 0,00$ .
- Gdy stosunek albuminy lub całkowitego IgG jest bliski 0 (zeru), wynik obliczeń może mieć bardzo wysoką wartość.
- Nie jest zalecane stosowanie wzoru obliczeń, gdy indeks VIDAS® Lyme IgG dla PMR jest bardzo bliski wartości 0,00 oraz gdy wyniki (w postaci indeksu) oznaczenia pary surowicy/ PMR pacjenta są bardzo niskie. W rzeczywistości obliczenia mogą prowadzić do uzyskania wyniku  $\geq 2$ , nawet przy braku IgG specyficznych dla *Borrelia burgdorferi* w badanej próbce.
- Wysoki indeks ( $> 6,0$ ) testu VIDAS® Lyme IgG w surowicy może być zaniżony ze względu na poziom immunoglobulin IgG *Borrelia burgdorferi*, który przekracza możliwości wychwytywania testu. Rzeczywisty poziom przeciwciał może być wyższy. Dlatego nie zaleca się stosowania formuły obliczeniowej w przypadku, gdy indeks dla surowicy jest wyższy niż 6,0. W tej sytuacji, jeśli wartość licznika w formule jest zawyżona, obliczenie może prowadzić do otrzymania wyniku  $\geq 2$  i fałszywie potwierdzić dooponowe wytwarzanie przeciwciał.

**KONTROLA JAKOŚCI**

W każdym zestawie odczynników VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG znajduje się jedna kontrola dodatnia i jedna kontrola ujemna. Kontrole te muszą zostać oznaczone zaraz po otwarciu nowego zestawu odczynników, by sprawdzić, czy nie zmieniły się ich właściwości. Kontrole muszą zostać oznaczone także podczas każdej kalibracji. Aparat będzie w stanie sprawdzić wartość kontroli tylko wtedy, gdy kontrole oznaczane będą jako C1 i C2. Jeżeli wyniki oznaczanych kontroli nie mieszczą się w zakresach wartości oczekiwanych, niemożliwe jest zatwierdzenie wyników oznaczeń próbek pacjenta.

**Uwaga**

Obowiązkiem użytkownika jest przeprowadzenie kontroli jakości zgodnie z lokalnymi uregulowaniami.

**OGRANICZENIA METODY**

- Metody wykrywania przeciwciał nie pozwalają uzyskać ostatecznych wyników potwierdzających lub wykluczających rozpoznanie choroby z Lyme.
  - Ujemny wynik oznaczenia VIDAS® Lyme IgM lub VIDAS® Lyme IgG nie wyklucza możliwości zakażenia *B. burgdorferi*. Pacjenci z wczesnymi etapami infekcji oraz tacy, którzy poddani byli leczeniu antybiotykami, mogą nie wytwarzać możliwych do zmierzenia poziomów IgG i IgM. Pacjenci z wywiadem lub objawami sugerującymi chorobę z Lyme, ale mający ujemne wyniki oznaczeń, powinni być określani jako „brak możliwych do wykrycia przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi*”. W ich wypadku należy pobrać drugą próbkę po 4–6 tygodniach.
- Uwaga:** Oszacowano, że w 50% przypadków, w pierwszym etapie choroby poziomy przeciwciał utrzymują się poniżej progu wykrycia (11).

- Dodatkowo wyniki oznaczeń VIDAS® Lyme IgG i IgM należy interpretować z zachowaniem ostrożności. W przypadku niektórych chorób obserwowana jest reaktywność krzyżowa (13, 14). Patrz punkt: „Reaktywność krzyżowa”
- Oprócz wyników oznaczenia VIDAS® Lyme IgG i IgM należy zawsze dodatkowo brać pod uwagę objawy kliniczne, informację epidemiologiczną i wyniki innych badań laboratoryjnych.
- W pewnych surowicach zawierających przeciwciała skierowane przeciwko składnikom odczynników lub substancjom, które wywierają wpływ na reakcję może dochodzić do interferencji. Z tego powodu wyniki powinny być interpretowane w oparciu o historię choroby pacjenta i wyniki innych badań.
- Oznaczenie należy wykonać jedynie wtedy, gdy wywiad dotyczący ekspozycji, epidemiologia i objawy kliniczne sugerują chorobę z Lyme (14).



## WIARYGODNOŚĆ

Badania przeprowadzone dla VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG dały poniższe wyniki.

### 1. Wiarygodność testów VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG dla surowicy

#### A. Czulość

Badanie retrospektywne przeprowadzane było w dwóch laboratoriach (Ośrodek 1 i Ośrodek 2) na surowicy pobranej od pacjentów w różnych fazach boreliozy: rumień wędrujący, neuroborelioza, zapalenie stawów / przewlekłe zanikowe zapalenie skóry dystalnych części kończyn.

Definicja stadium klinicznego i ostateczne rozpoznanie oparto na kilku parametrach, między innymi:

- objawach klinicznych,
- ocenie ryzyka ukąszenia kleszcza,
- profilach serologicznych IgM i IgG powiązanych z testami potwierdzenia Western Blot dla każdego wyniku dodatniego lub wątpliwego.

Profile serologiczne były reprezentatywne dla profili obserwowanych standardowo przez każde z laboratoriów.

Dla każdej fazy choroby czulość testów VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG, jak również czulość kombinacji obydwu testów, podana została dla 95% przedziału ufności.

Czulość (% [95% CI])								
	Ośrodek 1				Ośrodek 2			
	Liczba N	VIDAS® Lyme IgM	VIDAS® Lyme IgG	VIDAS® Lyme IgM + IgG	Liczba N	VIDAS® Lyme IgM	VIDAS® Lyme IgG	VIDAS® Lyme IgM + IgG
Rumień wędrujący	49	61,2 [46,2–74,8]	51,0 [36,3–65,6]	83,7 [70,3–92,7]	55	47,3 [33,7–61,2]	58,2 [44,1–71,4]	76,4 [63,0–86,8]
Neuroborelioza	60	58,3 [44,9–70,9]	90,0 [79,5–96,2]	90,0 [79,5–96,2]	70	35,7 [24,6–48,1]	91,4 [82,3–96,8]	92,9 [84,1–97,6]
Zapalenie stawów/ przewlekłe zanikowe zapalenie skóry	47*	40,0 [22,7–59,4]	100,0 [92,5–100,0]	100,0 [88,4–100,0]	51	37,3 [24,1–51,9]	96,1 [86,5–99,5]	96,1 [86,5–99,5]

Uwaga: Przy obliczaniu zgodności jako dodatnie uznane zostały próbki oznaczone jako wątpliwe testem VIDAS® Lyme IgM.

\* spośród 47 próbek przy pomocy testu VIDAS® Lyme IgM oznaczono tylko 30 próbek dla etapu zapalenia stawów/ przewlekłego zanikowego zapalenia skóry dystalnych części kończyn.

#### B. Specyficzność

Badanie prospektywne przeprowadzane było w dwóch laboratoriach na surowicy pobranej od zdrowych ochotników zamieszkujących regiony endemiczne boreliozy z Lyme: populacji z obszaru o wysokiej częstości występowania choroby (wschodnia Francja), populacji z obszaru o niskiej częstości występowania choroby (południowa Francja).

Ochotnicy byli dawcami krwi bez znanej wcześniejszej historii boreliozy.

Populacja z obszaru o wysokiej częstości występowania choroby (16,1%) składała się z ochotników w wieku od 18 do 68 lat (64% to mężczyźni, a 36% to kobiety).

Populacja z obszaru o niskiej częstości występowania choroby (3,9%) składała się z ochotników w wieku od 18 do 68 lat (52% to mężczyźni, a 48% to kobiety).

Próbki pobrane w każdej z populacji oznaczane były dostępnymi w handlu testami immunoenzymatycznymi IgM i IgG (EIA). Próbki oznaczone jako dodatnie lub wątpliwe oznaczane były dodatkowo metodą Western Blot w celu potwierdzenia wyniku. Wszystkie próbki oznaczone jako dodatnie metodą Western Blot zostały wykluczone z obliczania specyficzności.

Specyficzność testów VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG dla każdej z populacji podana została dla 95% przedziału ufności

Specyficzność (% [95%CI])					
Obszar o niskiej częstości występowania choroby			Obszar o wysokiej częstości występowania choroby		
Liczba N	VIDAS® Lyme IgM	VIDAS® Lyme IgG	Liczba N	VIDAS® Lyme IgM	VIDAS® Lyme IgG
273	96,3 [93,4; 98,2]	99,3 [97,4; 99,9]	302	97,7 [95,3; 99,1]	99,7 [98,2; 99,99]

Uwaga: Próbki oznaczone jako wątpliwe metodą EIA lub testem VIDAS® Lyme IgM uznane zostały za dodatnie.

### C. Porównanie metod

Badanie prospektywne przeprowadzane było w dwóch laboratoriach (Ośrodek 1 i Ośrodek 2) na surowicy od pacjentów, w przypadku których zlecono wykonanie oznaczeń Lyme IgM i IgG.

W każdym laboratorium próbki oznaczane były równolegle dostępnymi w handlu testami EIA IgM i IgG (różnymi w każdym ośrodku) oraz testami VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG. Probki oznaczone jedną z metod jako dodatnie oznaczane były dodatkowo metodą Western Blot w celu potwierdzenia wyniku.

#### Wyniki dla VIDAS® Lyme IgM:

Zgodność wyników dodatnich i ujemnych uzyskanych przy pomocy testu VIDAS® Lyme IgM i innej metody EIA IgM w każdym ośrodku podana została dla 95% przedziału ufności.

VIDAS® Lyme IgM	Technika EIA dla Ośrodka 1			Technika EIA dla Ośrodka 2		
	Dodatni	Wątpliwy	Ujemny	Dodatni	Wątpliwy	Ujemny
Dodatni	39	0	12	38	3	12
Wątpliwy	4	2	8	7	5	13
Ujemny	18	10	284	26	21	691
<b>Liczba N</b>	377			816		
<b>Zgodność wyników dodatnich</b>	N = 73 61,6% [49,5%–72,8%]			N = 100 53,0% [42,8%–63,1%]		
<b>Zgodność wyników ujemnych</b>	N = 304 93,4% [90,0%–95,9%]			N = 716 96,5% [94,9%–97,7%]		

**Uwaga:** Przy obliczaniu zgodności próbki oznaczone jako wątpliwe metodą EIA lub testem VIDAS® Lyme IgM uznane zostały za dodatnie.

Dla każdej z próbek określono Status IgM (dodatni lub ujemny) zgodnie z podejściem dwóch metod testowych zalecanym przez XVI Konferencję dot. Zgodnych Działań w sprawie Leczenia Przeciwinfekcyjnego — Borelioza z Lyme, EUCALB i CDC, tj.:

- dodatni status IgM nadawany był każdej próbce z wynikiem dodatnim potwierdzonym metodą immunoblot IgM,
- ujemny status IgM nadawany był każdej próbce z wynikiem ujemnym potwierdzonym metodą immunoblot IgM oraz próbkom oznaczonym jako ujemne testami VIDAS® Lyme IgM i EIA IgM.

Poniższa tabela przedstawia zgodność wyników dodatnich i ujemnych uzyskanych przy pomocy testu VIDAS® Lyme IgM i innej metody EIA IgM w każdej z lokalizacji, przy określonym statusie IgM.

		Status IgM dla Ośrodka 1		Status IgM dla Ośrodka 2	
		Dodatni	Ujemny	Dodatni	Ujemny
VIDAS® Lyme IgM	Dodatni	35	16	49	2
	Wątpliwy	4	10	16	4
	Ujemny	5	307	13	709
	<b>Liczba N</b>	377		793	
	<b>Zgodność wyników dodatnich</b>	N = 44 88,6% [75,4%–96,2%]		N = 78 83,3% [73,2%–90,8%]	
	<b>Zgodność wyników ujemnych</b>	N = 333 92,2% [88,8%–94,8%]		N = 713 99,2% [98,2%–99,7%]	
Technika EIA	<b>Zgodność wyników dodatnich</b>	N = 44 88,6% [75,4%–96,2%]		N = 78 82,1% [71,7%–89,8%]	
	<b>Zgodność wyników ujemnych</b>	N = 333 89,8% [86,0%–92,8%]		N = 713 97,2% [95,7%–98,3%]	

**Uwaga 1:** Przy obliczaniu zgodności próbki oznaczone jako wątpliwe metodą EIA lub testem VIDAS® Lyme IgM uznane zostały za dodatnie.

**Uwaga 2:** W badaniu nie były wzięte pod uwagę próbki oznaczone jako wątpliwe metodą Western Blot.

**Wyniki dla VIDAS® Lyme IgG:**

Zgodność wyników dodatnich i ujemnych uzyskanych przy pomocy testu VIDAS® Lyme IgG i innej metody EIA IgG w każdej z lokalizacji podana została dla 95% przedziału ufności.

VIDAS® Lyme IgG	Technika EIA dla Ośrodka 1			Technika EIA dla Ośrodka 2		
	Dodatni	Wątpliwy	Ujemny	Dodatni	Wątpliwy	Ujemny
Dodatni	102	4	2	160	2	3
Ujemny	17	16	236	28	24	599
<b>Liczba N</b>	377			816		
<b>Zgodność wyników dodatnich</b>	N = 139 76,3% [68,3%–83,1%]			N = 214 75,7% [69,4%–81,3%]		
<b>Zgodność wyników ujemnych</b>	N = 238 99,2% [97,0%–99,9%]			N = 602 99,5% [98,6%–99,9%]		

**Uwaga:** Przy obliczaniu zgodności próbki oznaczone jako wątpliwe metodą EIA Lyme IgG uznane zostały za dodatnie.

Dla każdej z próbek określono Status IgG (dodatni lub ujemny) zgodnie z podejściem dwóch metod testowych zalecanym przez XVI Konferencję dot. Zgodnych Działan w sprawie Leczenia Przeciwinfekcyjnego — Borelioza z Lyme, EUCALB i CDC, tj.:

- dodatni status IgG nadawany był każdej próbce z wynikiem dodatnim potwierdzonym metodą immunoblot IgG,
- ujemny status IgG nadawany był każdej próbce z wynikiem ujemnym potwierdzonym metodą immunoblot IgG oraz próbkom oznaczonym jako ujemne testami VIDAS® Lyme IgG i EIA IgG.

Poniższa tabela przedstawia zgodność wyników dodatnich i ujemnych uzyskanych przy pomocy testu VIDAS® Lyme IgG i innej metody EIA IgG w każdej z lokalizacji, przy określonym statusie IgG.

		Status IgG dla Ośrodka 1		Status IgG dla Ośrodka 2	
		Dodatni	Ujemny	Dodatni	Ujemny
VIDAS® Lyme IgG	Dodatni	82	25	133	9
	Ujemny	6	262	21	607
	<b>Liczba N</b>	375		770	
	<b>Zgodność wyników dodatnich</b>	N = 88 93,2% [85,8%–97,5%]		N = 154 86,4% [79,9%–91,4%]	
	<b>Zgodność wyników ujemnych</b>	N = 287 91,3% [87,4%–94,3%]		N = 616 98,5% [97,2%–99,3%]	
Technika EIA	<b>Zgodność wyników dodatnich</b>	N = 88 97,7% [92,0%–99,7%]		N = 154 99,4% [96,4%–99,9%]	
	<b>Zgodność wyników ujemnych</b>	N = 287 82,2% [77,3%–86,5%]		N = 616 97,4% [95,8%–98,5%]	

**Uwaga 1:** Przy obliczaniu zgodności próbki oznaczone jako wątpliwe metodą EIA Lyme IgG uznane zostały za dodatnie.

**Uwaga 2:** W badaniu nie były wzięte pod uwagę próbki oznaczone jako wątpliwe metodą Western Blot.

**D. Precyzja**

Dla każdego testu VIDAS® Lyme IgM i VIDAS® Lyme IgG oznaczane były w dublecie — w 40 różnych cyklach (2 cykle dziennie) dla 2 serii odczynników w 3 różnych lokalizacjach — 3 próbki surowicy (n = 240).

W oparciu o protokół zgodny z dokumentem CLSI EP5-A2 wyznaczona została powtarzalność (precyzja w obrębie cyklu), powtarzalność pomiędzy seriami, powtarzalność pomiędzy lokalizacjami:

VIDAS® Lyme IgM		Powtarzalność		Powtarzalność pomiędzy seriami		Powtarzalność pomiędzy Ośrodkami	
Próbka	Średni indeks	Odchylenie standardowe	CV (%)	Odchylenie standardowe	CV (%)	Odchylenie standardowe	CV (%)
1	0,19	0,01	3,5	0,01	6,3	0,01	6,3
2	0,37	0,01	3,1	0,02	6,2	0,02	6,2
3	1,26	0,03	2,5	0,12	9,4	0,12	9,4

VIDAS® Lyme IgG		Powtarzalność		Powtarzalność pomiędzy seriami		Powtarzalność pomiędzy Ośrodkami	
Próbka	Średni indeks	Odchylenie standardowe	CV (%)	Odchylenie standardowe	CV (%)	Odchylenie standardowe	CV (%)
1	0,15	0,01	8,6	0,02	15,5	0,02	15,5
2	0,26	0,01	5,4	0,02	7,7	0,02	7,7
3	2,31	0,10	4,1	0,12	5,3	0,12	5,3

#### **E. Reaktywność krzyżowa**

W badaniu reaktywności krzyżowej wykorzystano próbki, które określone zostały jako ujemne podczas oznaczania ich ocenianym testem oraz jako dodatnie w stosunku do innych, potencjalnie zakłócających chorób. W poniższej tabeli przedstawiono wyniki dla próbek oznaczanych pod kątem choroby:

Próbki dodatnie	Liczba próbek	Wynik dodatni testu VIDAS® Lyme IgM	Reaktywność krzyżowa [%]
Syfilis	270	9	<b>3,33</b>
Leptospiroza	216	9	<b>4,16</b>
Riketsjoza	112	1	<b>0,08</b>
<i>Helicobacter pylori</i>	143	3	<b>2,09</b>
Wirus Epstein-Barr'a	65	2	<b>3,07</b>
Wirus opryszczki zwykłej	98	5	<b>5,10</b>
Wirus zapalenia wątroby typu A	153	6	<b>3,92</b>
Cytomegalowirus	34	2	<b>5,88</b>
HIV	20	1	<b>5,00</b>
Różyczka	19	1	<b>5,26</b>
Świnka	46	1	<b>2,17</b>
Odra	38	1	<b>2,63</b>
Wirus ospy wietrznej-półpaśca	58	1	<b>1,72</b>
Toksoplazmoza	26	1	<b>3,84</b>
Czynnik reumatoidalny	61	1	<b>1,63</b>
HAMA	31	1	<b>3,22</b>
Przeciwciała przeciwwądrowe	60	1	<b>1,66</b>
Białko C-reaktywne	61	2	<b>3,27</b>
Toczeń rumieniowaty układowy	28	0	<b>0,00</b>

Próbki dodatnie	Liczba próbek	Wynik dodatni testu VIDAS® Lyme IgG	Reaktywność krzyżowa [%]
Syfilis	256	1	<b>0,39</b>
Leptospiroza	206	6	<b>2,91</b>
Riketsjoza	133	3	<b>2,3</b>
<i>Helicobacter pylori</i>	143	2	<b>1,4</b>
Wirus Epstein-Barr'a	34	0	<b>0,0</b>
Wirus opryszczki zwykłej	125	1	<b>0,8</b>
Wirus zapalenia wątroby typu A	150	3	<b>2,0</b>
Cytomegalowirus	40	0	<b>0,0</b>
HIV	20	1	<b>5,0</b>
Różyczka	19	0	<b>0,0</b>
Świnka	46	0	<b>0,0</b>
Odra	38	0	<b>0,0</b>
Wirus ospy wietrznej- półpaśca	58	0	<b>0,0</b>
Toksoplazmoza	26	1	<b>3,85</b>
Czynnik reumatoidalny	28	0	<b>0,0</b>
HAMA	43	0	<b>0,0</b>
Przeciwciała przeciwjądrowe	60	5	<b>8,33</b>
Białko C-reaktywne	61	2	<b>3,28</b>
Toczeń rumieniowaty układowy	28	2	<b>7,14</b>

## 2. Wiarygodność testu VIDAS® Lyme IgG dla par próbek surowicy/PMR

Badanie retrospektywne przeprowadzane było w dwóch laboratoriach na parach próbek surowicy/PMR pobranych od pacjentów z określonym indeksem dooportunego wytwarzania przeciwciał IgG. Indeks obliczono w oparciu o wyniki testu VIDAS® Lyme IgG oraz miana albuminy (metoda Tibblinga) lub całkowitego IgG (metoda Reibera). Wzory były następujące:

### Metoda Tibblinga:

$$\text{Indeks} = \frac{(\text{VIDAS Lyme IgG CSF TV}^* / \text{TV VIDAS Lyme IgG dla surowicy}) / 9^{**}}{(\text{miano albuminy w PMR} / \text{miano albuminy w surowicy})}$$

### Metoda Reibera:

$$\text{Indeks} = \frac{(\text{VIDAS Lyme IgG CSF TV} / \text{TV VIDAS Lyme IgG dla surowicy}) / 9^{**}}{(\text{miano całkowitego IgG w PMR} / \text{miano całkowitego IgG w surowicy})}$$

\* TV = wartość testu

\*\* Wartość „9” to stała charakterystyczna dla protokołu testu VIDAS® Lyme IgG.

Wszystkie pary o wartości indeksu wynoszącej co najmniej 2 zostały uznane za dodatnie w teście VIDAS® Lyme IgG (obecność dooportunego wytwarzania przeciwciał IgG u pacjenta). Podobnie wszystkie pary o wartości indeksu wynoszącej mniej niż 2 zostały uznane za ujemne w teście VIDAS® Lyme IgG (brak obecności dooportunego wytwarzania przeciwciał IgG u pacjenta).

### A. Czulość

Badanie przeprowadzane było na parach próbek surowicy/PMR pobranych od pacjentów z neuroboreliozą, u których technikami laboratoryjnymi stwierdzono wcześniej dooportunowe wytwarzanie przeciwciał.

Czulość testu VIDAS® Lyme IgG podana została dla 95% przedziału ufności.

	Czulość (% [95%CI])			
	Ośrodek 1 (Tibbling)		Ośrodek 2 (Reiber)	
	Liczba	Czulość	Liczba	Czulość
Pary, dla których stwierdzono dooportunowe wytwarzanie przeciwciał	32	90,6% [75,0%–98,0%]	31	74,2% [55,4%–88,1%]

## B. SPECYFICZNOŚĆ

Badanie przeprowadzane było na parach próbek surowicy/PMR pobranych od pacjentów, u których technikami laboratoryjnymi nie stwierdzono dooportunego wytwarzania przeciwciał.

Specyficzność testu VIDAS® Lyme IgG podana została dla 95% przedziału ufności.

	Specyficzność (% [95%CI])			
	Ośrodek 1 (Tibbling)		Ośrodek 2 (Reiber)	
	Liczba	Specyficzność	Liczba	Specyficzność
Pary, dla których nie stwierdzono dooportunego wytwarzania przeciwciał	61	83,6% [71,9%–91,8%]	52	84,6% [71,9%–93,1%]

## C. Precyzja

W przypadku VIDAS® Lyme IgG (test „LYGS”) oznaczane były w dublecie — w 40 różnych cyklach (2 cykle dziennie) dla 2 serii odczynników na 3 różnych aparatach — 4 próbki PMR zawierające przeciwciała IgG skierowane przeciwko *Borrelia burgdorferi* sl, o różnych poziomach indeksu (n = 240).

W oparciu o protokół zgodny z dokumentem CLSI EP5-A wyznaczona została powtarzalność (precyzja w obrębie cyklu), powtarzalność pomiędzy aparatami, powtarzalność pomiędzy seriami:

VIDAS® LYGS		Powtarzalność		Powtarzalność pomiędzy aparatami		Powtarzalność pomiędzy seriami	
Próbka	Średni indeks	Odchylenie standardowe	CV (%)	Odchylenie standardowe	CV (%)	Odchylenie standardowe	CV (%)
1	0,11	0,005	5,0	0,009	8,7	0,009	8,7
2	0,48	0,019	4,1	0,048	10,0	0,048	10,0
3	1,72	0,069	4,0	0,161	9,3	0,161	9,3
4	5,98	0,193	3,2	0,466	7,8	0,466	7,8

## UTYLIZACJA ODPADÓW

Zużyte lub nieużyte odczynniki, jak również inne skażone materiały zużywalne należy utylizować zgodnie z procedurami dotyczącymi produktów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Za utylizację wytworzonych odpadów oraz ścieków odpowiedzialne jest laboratorium, które musi traktować je i utylizować (lub powierzyć do utylizacji) stosownie do stopnia ich niebezpieczeństwa oraz zgodnie z odpowiednimi regulacjami prawnym.

## LITERATURA

- BURGDORFER W. Discovery of the Lyme disease spirochete and its relation to tick vectors. *Yale Jnl. Biol. Med.* 1984, 57: 515-520.
- 16ème conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-Infectieuse – Borréliose de Lyme: démarches diagnostiques, thérapeutiques et préventives – Décembre 2006.
- WORMSER GP. *et al.* The Clinical Assessment, Treatment, and prevention of Lyme Disease, Human Granulocytic Anaplasmosis, and Babesiosis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Disease Society of America. *Clin Infect Dis.* 2006, 43: 1089-1134.
- EUCALB. <http://meduni09.edis.at/eucalb/>: DIAGNOSIS: Serology: Diagnostic Guidelines.
- CDC. <http://www.cdc.gov>: Diagnosis: laboratory testing.
- U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
- U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
- LAMPE A.S., PEITERSE BRUINS, and EGTERVAN WISSERDERKE J.C.R. Wearing gloves as cause of false negative HIV tests. *Lancet* ii, 1988, 1140-1144.
- TEUNISSEN C. E., PETZOLD A., BENNETT F. *et al.* A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking, *Neurology* 2009; *Neurology* 2009; 73(22) 1914-1922.
- CDC Recommendations Standardizations and Interpretation, CDC Conference 10/28/94.
- KAISER. R. 1993. Intrathecal synthesis of specific antibodies in neuroborreliosis. Comparison of different ELISA techniques and calculation methods. *Journal of the Neurological Sciences*, 118, 64-72.
- MAGNARELLI L., *et al.* Cross reactivity in serologic tests for Lyme disease and other spirochetal infections. *J. Infec. Dis.* 1987, 156: 183-188.
- GOLIGHTLY, M., THOMAS J., and VICIANA A. The laboratory diagnosis of Lyme borreliosis. *Laboratory Medicine*. 1990, 21: 299-304.

## TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Producent
	Zakres temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji obsługi
	Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Data produkcji

## OGRANICZONA GWARANCJA

Firma bioMérieux gwarantuje poprawne działanie produktu zgodnie z jego wskazanym zastosowaniem, pod warunkiem ścisłego przestrzegania wszelkich procedur użycia, przechowywania i obsługi, czasu przydatności do użycia (jeśli dotyczy) oraz środków ostrożności opisanych w instrukcji użycia (IFU).

Z wyjątkiem wyraźnie określonej gwarancji, wskazanej powyżej, firma bioMérieux niniejszym wyłącza wszelkie gwarancje, w tym wszelkie domniemane gwarancje przydatności handlowej i przydatności do określonego celu lub zastosowania, oraz wyłącza wszelką odpowiedzialność, bezpośrednią, pośrednią lub wynikową, za jakiegokolwiek użycie odczynnika, oprogramowania, urządzenia i materiałów eksploatacyjnych („System”) w sposób inny niż wskazano w instrukcji użycia (IFU).

## HISTORIA ZMIAN

Typ zmiany:

N/D	Nie dotyczy (pierwsze wydanie)
Poprawka	Korekta nieprawidłowości w dokumentacji
Zmiana techniczna	Uzupełnienie, korekta i/lub usunięcie informacji dotyczących produktu
Administracyjna	Wdrożenie zmian innych niż techniczne, istotnych dla użytkownika
<b>Uwaga:</b>	<i>Historia zmian nie zawiera drobnych zmian typograficznych, gramatycznych oraz dotyczących formatowania</i>

Data wydania	Numer wydania	Typ zmiany	Zestawienie zmian
2017/06	9301296G	Zmiana techniczna	ZAWARTOŚĆ ZESTAWU VIDAS® LYME IGM (60 TESTÓW) ZAWARTOŚĆ ZESTAWU VIDAS® LYME IGG (60 TESTÓW)
2019-04	9301296H	Zmiana techniczna	PORÓWNANIE METOD WYNIKI I INTERPRETACJA OGRANICZONA GWARANCJA
2019-10	045297-04	Zmiana techniczna	ZAWARTOŚĆ ZESTAWU VIDAS® LYME IGM (60 TESTÓW) ZAWARTOŚĆ ZESTAWU VIDAS® LYME IGG (60 TESTÓW) OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Informacje dla użytkowników znajdujących się w Unii Europejskiej (norma (EU) 2017/746) i w krajach, w których obowiązują podobne wymogi: W przypadku wystąpienia poważnego incydentu podczas stosowania niniejszego wyrobu lub na skutek jego użytkowania należy zgłosić tego rodzaju zdarzenie producentowi i/lub jego autoryzowanemu przedstawicielowi, a także lokalnym władzom.

BIOMERIEUX, logo BIOMERIEUX, VIDAS oraz SPR są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącymi do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.

Test VIDAS® Lyme IgG sprzedawany jest zgodnie z warunkami grupy licencji PCT/US97/02952 (University of Texas System (System Uniwersytecki Stanu Teksas)) oraz PCT/US1998/013551 (The Administrators of the Tulane Educational Fund (Zarządcy Funduszu Edukacyjnego Tulane'a)).

Jakiegokolwiek inne nazwy i znaki handlowe należą do odpowiednich właścicieli.