REF 30 298

VIDAS® Lyme IgG and IgM (LYT)

IgM و VIDAS Lyme IgG (LYT) یک روش کیفی خودکار برای استفاده در دستگاههای خانواده VIDAS است که جهت تشخیص همزمان آنتی بادی های IgM و IgG علیه بورلیا بورگدورفری در سرم انسان با استفاده از تکنیک ELFA (سنجش فلورسنت متصل به آنزیم) در نظر گرفته شده است.

خلاصه و توضیحات

بیماری لایم یک بیماری عفونی نا شی از ا سپیروکت بورلیا بورگدورفری ا ست و از طریق گزش کنه آلوده به انسان منتقل می شود. وکتورهای اصلی عبارتند از *Ixodes ricinus* در اروپا، *Ixodes pacificus* و *Ixodes daminii* در ایالات متحده است (۱).

این بیماری اغلب در تابستان و در سه مرحله رخ می دهد. بین این مراحل هم پوشانی وجود داشته و تمایز آن از دیگری را دشوار نموده است (۲). بنابراین بیماری لایم به عنوان مجموعه تکاملی از بیماری اولیه تا بیماری دیررس شرح داده شده است (۳):

- بیماری موضعی زودرس : اساسا اریتم مهاجر، به طور کلی با علائم شبیه سرماخوردگی همراه است.
- بیماری منتشر زودرس: اریتم مهاجر متعدد که ممکن است همراه با مشکلات عصبی، قلبی یا پوستی باشد.
- بیماری دیررس: آکرودرماتیت مزمن همراه با تظاهرات خارج پوستی مانند بیماری عصبی، آرتریت و بیماری قلبی.

تشخیص

تشخیص اسپیروکت از نمونه های پوست یا مایعات بیولوژیک، چه با رنگ آمیزی مستقیم، چه با کشت بسیار دشوار بوده در نتیجه فقط در آزمایشگاه های تخصصی قابل انجام است. بنابراین تست سرولوژی رایج ترین روش برای تشخیص بیولوژیکی عفونت ا ست (۳). روش رایج مورد استفاده، روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم، ایمنوبلات، وسترن بلات و آنزیم ایمونوا سی ا ست. انجام روش آنزیم ایمونوا سی راحت تر از تکنیک IFA و ایمنوبلات یوده و تعیین نتایج نیز به راحتی صورت می گیرد (۴).

در سال ۱۹۹۴، شرکت کنندگان دومین کنفرانس ملی در مورد تشخیص سرولوژی بیماری لایم تو صیه کردند که آزمایشگاه ها از یک رویکرد دو آزمایشی برای تشخیص سرولوژی لایم نا شی از بورلیا ا ستفاده نمایند. تشخیص آنتی بادی های اختصاصی باید در ابتدا با استفاده از روش های غربالگری حساسترELISA یا IFA انجام شود. نمونه های مثبت یا مبهم باید با استفاده از روش ایمنو بلات (وسترن بلات) تایید شود. از آنجا که حساسیت و ویژگی ELISA و وسترن بلات در رابطه با زمان بندی دریافت نمونه متفاوت ا ست، شرح حال و سابقه در معرض قرار گرفتن بیمار با عامل بیماری در تفسیر نتایج سرولوژیک باید در نظر گرفته شود (۵)

درمان

درمان زودرس آنتی بیوتیکی بیماری لایم (پنی سیلین، تتراسیکلین، کلرامفنیکول یا سفتریاکسون) می تواند علائم بالینی را از بین برده و از پیشرفت بیماری به مراحل بعد جلوگیری نماید (۳).

اساس

سنجش IgM و VIDAS Lyme IgG یک روش فلورسنت ایمونواسی متصل به آنزیم (ELFA) ا ست که بطور خودکار در د ستگاه انجام می شود (کتابچه راهنمای کاربری را ببینید).

نهنج فاز جامد (®SPR) به عنوان فاز جامد و همچنین ابزار نمونه برداری عمل می کند. جهت این سنجش، معرف ها برای ا ستفاده آماده بوده و از قبل در نوار معرف مهر و موم شده توزیع گردیده است.

تمامی مراحل این سنجش به صورت خودکار تو سط د ستگاه انجام می شود. پس از یک مرحله شستشوی مقدماتی و رقیق سازی نمونه، آنتی بادی های علیه بورلیا بورگدورفری موجود در نمونه به پروتئین های نوترکیب اختصاصی بورلیا بورگدورفری پو شانده شده در SPR متصل خواهد شد. اجزای نمونه متصل نشده طی فرآیند شستشو حذف می شود.

آنتی بادی های Anti-human IgM و Anti-human IgG که با آلکالن فسفاتاز کونژوگه شده است، به کمپلکس ایمنی متصل به دیواره SPR ضمیمه خواهد شد. مرحله شستشوی نهایی کنژوگه های متصل نشده را حذف می کند. در طول مرحله نهایی، سوبسترا (۴-متیل-یومبلیفریل فسفات) وارد چرخه ®SPR شده و خارج می شوند. آنزیم کونژوگه هیدرولیز این سوبسترا را به یک محصول فلورسنت (۴-متیل-یومبلیفرون) کاتالیز می کند که شدت فلورسانس آن در ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری می شود. شدت فلورسانس با مقدار آنتی بادی IgM یا IgG علیه بورلیا بورگدورفری موجود در نمونه متناسب ا ست. در پایان روش، نتایج به صورت خودکار توسط دستگاه محاسبه و چاپ می شود.

SPR

SPR در طی تولید با آنتی ژن غیرفعال شده بورلیا بورگدورفری پوشش داده شده است (ATCC 3521, strain B31). هر SPR با استفاده از کد LYT شناخته می شود. تنها تعداد مورد نیاز SPR را از کیسه خارج و پس از باز شدن، **کیسه را مجددا با دقت مهر و موم کنید.**

نوار

هر نوار شامل ۱۰ حلقه چاهک تو سط برچ سب فویل مهر و موم شده ا ست. این برچسب حاوی یک بارکد بوده که به طور عمده نشان دهنده کد آزمایش، شماره کیت و تاریخ انقضاء است. به منظور تسهیل در وارد کردن نمونه، فویل چاهک اول سوراخ شده ا ست. آخرین چاهک از هر نوار یک کووت اســت که خوانش فلورومتری در آن صــورت می گیرد. چاهک های موجود در بخش مرکزی نوار نیز حاوی معرف های مختلف مورد نیاز برای آزمایش است.

مواد مورد نیاز و ارائه نشده

- سمپلر و سرسمپلر یکبار مصرف برای توزیع ۱۰۰ میکرولیتر
- دستکش یکبار مصرف بدون پودر
- برای سایر مواد و و سایل یکبار م صرف ویژه، لطفاً به کتابچه راهنمای کاربری دستگاه مراجعه کنید.
- دستگاه خانواده VIDAS

جدول محتویات کیت (۶۰ تست):

60 LYT strips	STR	Ready-to-use.
60 LYT SPRs (2 x 30)	SPR	Ready-to-use. SPRs coated with inactivated *B. burgdorferi* antigen (ATCC 3521, strain B31).
LYT Standard (1 x 1.5 ml)	S1	Ready-to-use. Human serum* or defibrinated plasma* containing antibodies to *B. burgdorferi* + 1 g/l sodium azide. MLE data indicate the confidence interval in "Relative Fluorescence Value (RFV)" ("Standard (S1) RFV Range").
LYT Positive control (1 x 1.5 ml)	C1	Ready-to-use. Human serum* or defibrinated plasma* containing antibodies to *B. burgdorferi* + 1 g/l sodium azide. MLE data indicate the Test Value (TV) range: Control C1 (+) Test Value Range.
LYT Negative control (1 x 1.5 ml)	C2	Ready-to-use. Human serum* or defibrinated plasma* with no detectable antibodies to *B. burgdorferi* + 1 g/l sodium azide. MLE data indicate the Test Value (TV) range: Control C2 (-) Test Value Range.
Specifications for the factory master data required to calibrate the test: • MLE data (Master Lot Entry) provided in the kit, or • MLE bar codes printed on the box label.		
1 Package Insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib.		

شرح نوار LYT:

Wells	Reagents
1	Sample well.
2	Sample diluent: TRIS buffered saline (50 mmol/l; pH = 7.4) + protein stabilizers + bovine albumin + 1 g/l sodium azide (600 µl).
3	Prewash buffer: TRIS buffered saline (50 mmol/l; pH = 7.4) + bovine albumin + protein stabilizers + 1 g/l sodium azide (400 µl).
4 - 5	Wash buffer: TRIS buffered saline (50 mmol/l; pH = 7.4) + detergent + 1 g/l sodium azide 600 µl).
6	Conjugate: a titered mixture of mouse monoclonal anti-human IgG and IgM conjugated to alkaline phosphatase + 1 g/l sodium azide (400µl).
7	Wash buffer: TRIS buffered saline (50 mmol/l; pH = 7.4) + detergent + 1 g/l sodium azide (600 µl).
8	Wash buffer: DEA buffer (360 mmol/l; pH = 9.2) + 1 g/l sodium azide (600 µl).
9	Sample diluent: TRIS buffered saline (50 mmol/l; pH = 7.4) + protein stabilizers + bovine albumin + 1 g/l sodium azide (300 µl).
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine DEA* (0.62 mol/l or 6.6 %) pH 9.2 + 1 g/l sodium azide (300 µl).

احتیاط و هشدارها

- **فقط برای کاربرد تشخیصی در شرایط *in vitro*.**
- **فقط جهت استفاده حرفه ای توسط کارشناسان آزمایشگاهی واجد صلاحیت.**
- **این کیت حاوی فرآورده های با منشا انسانی می باشد. هیچ روش تجزیه و تحلیل شناخته شده ای نمی تواند بطور کامل عدم وجود و انتقال عوامل بیماری زا را تضمین کند. از این رو توصیه می شود که این محصولات به عنوان عوامل بالقوه عفونی در نظر گرفته شود و اقدامات احتیاطی معمول به کار گرفته شود.**
- این کیت حاوی فرآورده های با منشا حیوانی می باشد. اطمینان از منشا/ یا وضعیت بهداشتی حیوانات تضمین کننده عدم انتقال عوامل پاتوژن نبوده و بنابراین توصیه می شود این محصولات به عنوان عوامل بالقوه عفونی تلقی و موارد ایمنی معمول (عدم بلع یا استنشاق) نیز رعایت شود.
- تمامی نمونه های بیماران را به صورت عوامل بالقوه عفونی در نظر گرفته و اقدامات احتیاطی و ایمنی زیستی رایج را رعایت کنید. تمامی مواد مورد استفاده و سایر مواد آلوده شده با عوامل دارای خطرات زیستی را به روش قابل قبول دفع نمایید(۶، ۷، ۸).
- اگرچه پروتئین های نوترکیب بورلیا بورگدورفری پوشانده شده در سطح SPRها غیر فعال شده است، در صورت عفونی بودن SPRها اقدامات لازم را انجام دهید.
- در صورت سوراخ بودن کیسه یا آسیب به بسته بندی SPR® از آن استفاده نکنید.
- از معرف های تاریخ انقضاء گذشته استفاده نکنید.
- معرف ها (یا مواد یکبار مصرف) با شماره lot مختلف را باهم مخلوط نکنید.
- از **دستکش های بدون پودر** استفاده کنید؛ پودر موجب نتایج کاذب در برخی از آزمون های آنزیمی به روش ایمونواسی می شود (۹).
- معرف های کیت حاوی سدیم آزید ا ست که می تواند با سرب یا مس سیستم لوله کشی واکنش نشان داده و تشکیل آزیدهای فلزی قابل انفجار دهد. اگر هر مایع حاوی سدیم آزید در سیستم لوله کشی دفع شود، باید با آب تخلیه گردد.
- سوبسترای موجود در کووت قرائت (چاهک ۱۰) حاوی عامل محرک (۶,۶٪ دی اتانول امین) است.
- هرگونه نشت مواد شیمیایی باید به طور کامل با مواد شوینده مایع یا محلول سفید کننده های خانگی حاوی حداقل ۰,۵٪ هیپوکلریت سدیم تمیز گردد. کتابچه راهنمای کاربری برای تمیز کردن عوامل نشتی و یا دستگاه را مشاهده کنید. محلول های حاوی سفید کننده را اتوکلاو نکنید.
- دستگاه باید به طور منظم تمیز و پاکسازی شود (کتابچه راهنمای کاربری را ببینید).

شرایط نگهداری

- کیت های IgM و VIDAS Lyme IgG را در ۲ تا ۸ ° C ذخیره کنید.

از منجمد کردن معرف ها اجتناب کنید.

- تمام معرف های استفاده نشده را در ۲-۸ ° C ذخیره کنید.
- پس از باز کردن کیت، بررسی کنید که کیسه SPR به درستی مهر و موم شده و سالم است. در غیر اینصورت از آن استفاده نکنید.

• **برای حفظ پایداری SPR پس از استفاده، کیسه را با قرار دادن خشک کن در داخل آن با دقت مهر و موم کنید و داخل کیت کامل در ۲-۸ °C نگهداری کنید.**

• اگر با توجه به شرایط توصیه شده ذخیره سازی انجام شود، تمام قطعات تا تاریخ انقضای نشان داده شده پایدار است.

نمونه ها

نوع نمونه و نمونه گیری

از سرم های غیر فعال شده توسط حرارت یا آلوده استفاده نکنید. قبل از آزمایش نمونه های حاوی ذرات را توسط سانتریفوژ یا فیلتراسیون آماده کنید. استفاده از پلاسما برای این آزمایش اختصاص داده نشده است.

توصیه می شود از نمونه هایی که به وضوح دارای همولیز، لیپمی یا ایکتروس باشد در صورت امکان نمونه جدیدی دریافت نمایید.

هیچ یک از عوامل زیر به طور قابل توجهی این روش را تحت تاثیر قرار نمی دهد:

- همولیز (پس از مخلوط کردن نمونه با هموگلوبین: ۵ گرم در لیتر (مونومر))،
- لیپمی (پس از مخلوط کردن نمونه با چربی: معادل ۰ تا ۲ گرم در لیتر تری گلیسیرید)،
- بیلی روبینمی (پس از مخلوط کردن نمونه ها با بیلی روبین: ۰ تا ۳۰ گرم در لیتر).

پایداری نمونه

اگر قادر به آزمایش نمونه سرم در روز نمونه گیری نمی باشید، در ۲-۸ درجه سانتی گراد تا ۵ روز قابل نگهداری است. اگر ذخیره سازی طولانی تر مورد نیاز است، سرم را در ۶ ± ۲۵- درجه سانتی گراد تا ۲ ماه منجمد کنید. از انجماد/ذوب متناوب اجتناب کنید.

دستورالعمل استفاده

برای دستورالعمل کامل، کتابچه راهنمای کاربری دستگاه را ببینید.

خوانش داده های Master lot

قبل از استفاده معرف های جدید VIDAS Lyme، مشخصات (یا داده های اصلی کارخانه) باید با استفاده از ورودی Master lot (MLE) به دستگاه وارد شود . اگر این عملیات **قبل از شروع آزمایش** انجام نشود، دستگاه قادر به چاپ نتایج نخواهد بود.

توجه: داده های Master lot برای هر lot تنها نیاز به یک بار وارد نمودن دارند.

وارد کردن داده ها MLE براساس دستگاه مورد استفاده ممکن است به صورت **خودکار یا دستی** انجام گردد (به کتابچه راهنمای کاربری مراجعه کنید).

کالیبراسیون

کالیبراسیون، با استفاده از استانداردهای ارائه شده در کیت، باید با هر دفعه استفاده از معرف با lot جدید که به تازگی باز می شوند پس از وارد نمودن داده ورودی اصلی، و پس از آن هر ۱۴ روز انجام شود. این عملیات منحنی های کالیبراسیون ویژه دستگاه را فراهم کرده و تغییرات جزئی احتمالی در کیت را جبران می کند.

استاندارد مشخص شده S1 باید به **صورت دوپلیکه** (دوتایی) در یک واکنش انجام شود (کتابچه راهنمای کاربری را ببینید). مقادیر کالیبراسیون باید در محدوده RFV (ارزش نسبی فلورسانس) باشد. اگر در این محدوده نباشد، کالیبراسیون را تکرار کنید.

ارزش مورد انتظار برای استاندارد نیز با استفاده از داده های MLE ذخیره می شود. اگر مقادیر استاندارد از مقادیر مورد انتظار انحراف داشته باشد آنها را بر روی برگه نتیجه علامت زده و نباید گزارش شود.

فرآیند

۱. **معرف های مورد نیاز را از یخچال خارج نمایید. آنها را می توان بلافاصله استفاده نمود.**

۲. برای هر نمونه یک نوار "LYT " ، یک SPR "LYT"، کنترل و یا استاندارد استفاده کنید. **پس از اینکه SPR® مورد نیاز برداشته شد اطمینان حاصل کنید که کیسه نگهداری با دقت مسدود شده است.**

۳. تست توسط کد "LYT" بر روی دستگاه مشخص شده است. تعداد تست های قابل بررسی را تعیین کنید. استاندارد باید بر اساس "S1" شناخته و آزمایش باید به صورت دوپلیکه انجام گردد. اگر کنترل مثبت آزمایش می شود، باید آن را با "C1" تعیین و اگر کنترل منفی آزمایش می شود باید با "C2" شناخته شود.

۴. استاندارد، کنترل ها و نمونه ها را با استفاده از ورتکس (برای سرم جداشده از رسوب) مخلوط کنید.

۵. **برای این آزمایش، سهم استاندارد، کنترل ها و نمونه ها ۱۰۰ میکرو لیتر است. توجه**: وقتی که نمونه برداری بطور دستی انجام شود، چاهک های نمونه را از لحاظ حباب بررسی کنید. در صورت لزوم، برای حذف هر گونه حباب موجود به نوار به آرامی ضربه بزنید.

۶.SPRهای "LYT" VIDAS و نوارهای "LYT" را داخل دستگاه قرار دهید. بررسی کنید تا مطمئن شوید برچسب های رنگی با کد سنجش در SPR® و نوارهای معرف منطبق باشد.

۷. سنجش را بلافاصله بر اساس راهنمای کاربری آغاز کنید. تمام مراحل سنجش به صورت خودکار توسط دستگاه انجام می شود.

۸. پس از انتقال نمونه به وسیله پیپت، درب ویال را مجددا بسته و به دمای ۲-۸ درجه سانتی گراد بازگردانید.

۹. این سنجش در حدود **۳۵ دقیقه** به پایان خواهد رسید. پس از اتمام سنجش، SPR و نوارها را از دستگاه خارج نمایید.

۱۳. SPRها و نوارهای استفاده شده را در یک محفظه مناسب دفع کنید.

نتایج و تفسیر

هنگامی که سنجش تکمیل ،گردید، نتایج به صورت خودکار توسط رایانه تجزیه و تحلیل می شود. شدت فلورسانس برای هر نوار معرف دو بار در کووت اندازه گیری می شود. خوانش اول خوانش زمینه ای از کووت سوبسترا است که قبل از ورود SPR به سوبسترا انجام می شود. قرائت دوم پس از انکوباسیون سوبسترا با آنزیم باقی مانده در داخل SPR انجام می شود. RFV (ارزش نسبی فلورسانس) با کم کردن خوانش زمینه ای از نتیجه نهایی محاسبه می شود. RFV در برگه نتیجه ظاهر می شود.

نتیجه RFV بیمار توسط دستگاه به صورت ذیل تفسیر می شود:

i = index = patient RFV / standard RFV

این شاخص همراه با تفسیر در یک برگه گزارش چاپ می شود. تفسیر شاخص به شرح زیر است:

Test value	Interpretation
TV < 0.75	Negative
0.75 ≤ TV < 1.00	Equivocal *
TV ≥ 1.00	Positive

* کنترل نتایج مشابه را بهتر است با انجام آزمایش جدید و با استفاده از یک نمونه دوم انجام شود.

یک گزارش چاپ شده دارای موارد زیر است:

- نوع آزمایش انجام شده،
- شناسایی نمونه،
- تاریخ و زمان،
- شماره lot و تاریخ انقضاء کیت معرف مورد استفاده،
- RFVهر نمونه، مقادیر تست و نتیجه تفسیر شده.

عدم دقت ذاتی در هر روش به معنی فقدان اطمینان در نمونه هایی است که دارای مقادیر آزمایش بسیار نزدیک به آستانه می باشند. در نتیجه، منطقه مبهم بین آستانه بر اساس درک آماری این عدم دقت است.

نمونه هایی که از مقادیر آستانه بالا بزرگتر یا برابر هستند به عنوان مثبت تفسیر می شوند. نتایجی که مقادیر کمتر از حد آستانه پایین نشان داشته باشند نشان دهنده آن است که بیمار آنتی بادی قابل تشخیص علیه بورلیا بورگدورفری ندارد.

در صورت امکان نمونه های مبهم باید با نمونه اصلی تکرار شود. اگر نمونه اصلی در دسترس نیست، نمونه تازه تهیه کرده و آزمایش را تکرار کنید. اگر نتیجه نمونه تکرار شده نیز مبهم باشد اطلاعات بالینی و سایر آزمایشات باید در نظر گرفته شود.

توجه: در حال حاضر CDC توصیه می کند که تمام نمونه هایی که با EIAیا IFA مبهم یا مثبت در نظر گرفته شود توسط ایمنوبلاتینگ بررسی شود (۱۰). نتایج مثبت باید تنها به عنوان شواهد اولیه تشخیص آنتی بادی علیه بورلیا بورگدورفری با توجه به توصیه های مرحله دوم آزمایش قبل از ارائه گزارش نتایج به پزشک تفسیر شود.

نتایج نا معتبر هنگامی گزارش می شود که خوانش زمینه ای بالاتر از نقطه بحرانی از پیش تعیین شده باشد (که نشان دهنده آلودگی سطح پایین سوبسترا است). در این مورد، سنجش را با نمونه اصلی تکرار کنید.

همچنین اگر هیچگونه استانداردی برای شماره lot نوار تست موجود نباشد نتیجه نا معتبر نیز دیده می شود. در این مورد، استاندارد را بصورت دوپلیکه در نوار با شماره lot یکسان استفاده کنید. سپس نتیجه با استفاده از استاندارد جدید مجددا محاسبه و ذخیره می شود. برای کسب اطلاعات کامل به کتابچه راهنمای کاربری مراجعه کنید.

کنترل کیفیت

یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی در هر کیت VIDAS Lyme IgM و VIDAS Lyme IgG قرار داده شده است. این کنترل ها باید بلافاصله پس از بازگشایی کیت جدید برای اطمینان از عملکرد آن انجام شود. هر بار کالیبراسیون نیز باید توسط این کنترل ها انجام شود. دستگاه تنها در صورتی قادر به بررسی مقادیر کنترل است که به صورت C1 و C2 تعیین شود.

مقادیر مورد انتظار برای روش های VIDAS Lyme IgM و IgG با استفاده از ورودی master lot (MLE) وارد دستگاه شده است. اگر مقادیر کنترل خارج از طیف مقادیر مورد انتظار باشد قابل استناد نمی باشد.

توجه: انجام کنترل کیفی بر اساس قوانین کاربردی منطقه ای از وظایف هر کاربر است.

محدودیت ها

- روش های تشخیص آنتی بادی نتایج قطعی برای تایید و یا رد تشخیص لایم ناشی از بورلیا ارائه نمی دهد.

- نتیجه منفی در سنجش های VIDAS Lyme IgM و VIDAS Lyme IgG احتمال عفونت بورلیا بورگدورفری در بیمار را رد نمی کند. بیماران در مراحل اولیه عفونت یا افرادی که تحت درمان آنتی بیوتیکی می باشند ممکن است مقادیر قابل اندازه گیری IgM و IgG تولید نکنند. بیماران با سابقه یا علائم مطرح کننده بیماری لایم، اما با نتایج آزمایش منفی، باید به صورت "عدم شنا سایی آنتی بادی قابل تشخیص علیه بورلیا بورگدورفری" گزارش گردند. نمونه دوم باید طی ۴-۶ هفته جمع آوری گردد.

توجه: تخمین زده شده است که در ۵۰٪ از افراد، سطوح آنتی بادی در خون در مرحله اولیه بیماری زیر آستانه قابل تشخیص باقی می ماند(۱۰).

- نتایج مثبت در سنجش های VIDAS Lyme IgM و IgG باید با احتیاط تفسیر شود. ممکن است هنگام شناسایی عفونت های بورلیا بورگدورفری واکنش متقاطع با بیماران مبتلا به سفلیس مشاهده شود (۱۱). علائم بالینی، اطلاعات اپیدمیولوژیک و سایر نتایج آزمایشگاهی (مانند RPR, VDRL یا TPHA) همگی باید در کنار نتایج VIDAS Lyme IgM و IgG نظر گرفته شود.
- واکنش متقاطع نیز ممکن است در بیماران مبتلا به تب راجعه، تب منقوط کوه های راکی، سایر بیماری های اسپیروکتال (۱۱)، بیماری خود ایمنی، آرتریت روماتوئید، لوپوس اریتماتوی سیستمیک حاد، عفونت سیتومگالوویروس، یا عفونت اپستین- بار مشاهده شود (۱۲).
- علاوه بر نتایج اختصاصی آزمایش، ممکن است یافته های آزمایشگاهی غیر اختصاصی شامل افزایش IgM تام سرم، حضور کمپلکسهای ایمنی در گردش و کرایوگلوبولین ها یا افزایش تعداد گلبول سفید خون و ترانس آمیناز های کبدی مشاهده شود (۴).
- تداخل ممکن است با سرم حاوی آنتی بادی های موجود علیه اجزای معرف ایجاد شود. به همین دلیل، نتایج سنجش باید با در نظر گرفتن تاریخچه بیماری و نتایج حاصل از هر آزمون دیگر تفسیر شود.
- این آزمایش برای استفاده در نظارت درمانی در نظر گرفته نشده است.
- آزمایش باید تنها در صورتی انجام شود که سابقه مواجهه، اپیدمیولوژی و علائم بالینی پیشنهاد کننده بیماری لایم باشد (۱۲).

طیف مقادیر مورد انتظار

سنجش های VIDAS Lyme IgG و IgM برای تشخیص آنتی بادی های تولید شده پس از مواجهه با بورلیا بورگدورفری در نظر گرفته شده است. نتایج حاصل از این آزمون باید به عنوان کمک در تشخیص بیماری لایم که شامل سابقه مواجهه بالقوه در منطقه آندمیک و شناخت علائم بالینی است استفاده شود (۱۳، ۱۴).

شیوع در اروپا، به ویژه در کشورهای شرق و شمالی بالا است (۱۵). جدول زیر را ببینید.

Country	Incidence on a population of 100,000	Number of estimated cases per year
United Kingdom	0.3	200
Republic of Ireland	0.6	30
France	16.0	7,200
Germany	25.0	20,000
Switzerland	30.4	2,000
Czech Republic	39.0	3,500
Bulgaria	55.0	3,500
Sweden (North)	69.0	7,120
Slovenia	120.0	2,000
Austria	130.0	14,000

- این داده ها ممکن است از نظر پیشرفت های اخیر در تعاریف و تشخیص سرولوژی تکامل یافته باشد.
- بین سالهای ۱۹۹۲ و ۱۹۹۸، CDC ۸۸۹۶۷ مورد بیماری لایم در ۴۹ ایالت و ناحیه کلمبیا گزارش نمود که در آن تعداد موارد جدید از ۹۸۹۶ در سال ۱۹۹۲ به ۱۶۸۰۲ در سال ۱۹۹۸افزایش یافته بود. ۹۲ درصد از موارد گزارش شده در هشت ایالت ساحل شرقی و دو کشور در غرب میانه پیدا شد. بالاترین میانگین بروز سالانه مربوط کودکان ۵-۹ ساله و بزرگسالان ۴۵-۵۴ ساله بود (۱۶).
- درصد نتایج مثبت برای IgG و VIDAS Lyme IgM برای هر دو جمعیت اندمیک و غیر اندمیک محاسبه شد. سایت ۱) جمعیت اندمیک ۳٫۵٪ مثبت و در سایت ۲) ۴٫۰٪ جمعیت اندمیک مثبت بودند. جمعیت غیر اندمیک آزمایش شده در سایت ۲ ۲٫۰٪ مثبت بود. برای کسب اطلاعات بیشتر، به بخش **عملکرد** در این راهنما مراجعه کنید.

عملکرد

مطالعات انجام شده با استفاده از VIDAS Lyme IgGو IgM ارائه کننده نتایج زیر است:

الف. حساسیت / ویژگی (سایت ۱) (بیمارستان لوتری، ایالات متحده آمریکا)

IgG و VIDAS Lyme IgM در مقایسه با EIA:

۲۵۶ نمونه سرم در یک مرکز تحقیقات بالینی مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه ها از یک جمعیت اندمیک به دست آمد. با توجه به بروز اندک بیماری لایم، برای کمک به برآورد دقیق از حساسیت سنجش ۶۵ نمونه ذخیره شده به مجموعه داده اضافه شد. هر نمونه با استفاده از روش IgG و VIDAS Lyme IgM و روش تجاری در دسترس EIA مورد آزمایش قرار گرفت. در ابتدا ۵ نتایج مبهم VIDAS ارائه شد. سپس ۴ نمونه به عنوان مبهم و ۱ نمونه مثبت کاذب گزارش شد.

جداول زیر روش IgG و VIDAS Lyme IgM را در مقایسه با روش تجاری در دسترس EIA نشان می دهد.

۲۰۰ نمونه سرم تازه

۴ نتیجه مبهم (در محاسبات ارائه نشده است)

VIDAS Lyme IgG and IgM	EIA		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	5	1	1
Negative	6	184	0
Equivocal	1	2	0

حساسیت نسبی محاسبه نشده است: تعداد ناکافی موارد مثبت

ویژگی نسبی: ۹۹,۵٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۶/۹٪-۹۹/۹٪

توافق: ۹۶,۴٪

۶۵ نمونه ذخیره شده

۱ نتیجه مبهم (در محاسبات ارائه نشده است)

VIDAS Lyme IgG and IgM	EIA		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	55	3	0
Negative	1	5	0
Equivocal	0	1	0

حساسیت نسبی: ۹۹,۵٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۰/۵٪-۹۹/۹٪

توافق: ۹۳,۸٪

نمونه ترکیبی (سایت ۱)

۲۶۵ نمونه آزمایش شده

۵ نتیجه مبهم (در محاسبات ارائه نشده است)

VIDAS Lyme IgG and IgM	EIA		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	60	4	1
Negative	7	189	0
Equivocal	1	3	0

حساسیت نسبی: ۹۹,۵٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۷۹/۷٪-۹۵/۷٪

ویژگی نسبی: ۹۷,۹٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۹/۲٪-۹۴/۷٪

توافق: ۹۵,۸٪

مقایسه وسترن بلات (نمونه های ترکیبی سایت ۱)

یک روش وسترن بلات تغییریافته برای همه نمونه ها توسط VIDAS Lyme IgG و IgM و روش تجاری در د سترس EIA ا ستفاده شد. معیارهای مورد استفاده برای شناسایی مثبت نمونه ها برای این وسترن بلات در دومین همایش ملی تشخیص سرولوژیک بیماری لایم ارائه شد و مشابه دستورالعمل CDC می باشد (۱۰، ۱۷).

جداول زیر نشان دهنده آنالیز وسترن بلات در مقایسه با روش های VIDAS Lyme IgG و IgM و روش تجاری در دسترس EIA است.

۲۶۵ نمونه آزمایش شده

۲۲ نتیجه مبهم (در محاسبات ارائه نشده است)

VIDAS Lyme IgG and IgM	Western Blot		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	53	4	8
Negative	2	184	10
Equivocal	2	1	1

حساسیت نسبی: ۹۶,۴٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۹/۶٪-۸۷/۵٪

ویژگی نسبی: ۹۷,۹٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۹/۲٪-۹۴/۶٪

توافق: ۹۷,۵٪

نمونه ترکیبی (سایت ۱)

۲۶۵ نمونه آزمایش شده

۲۰ نتیجه مبهم (در محاسبات ارائه نشده است)

EIA	Western Blot		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	54	3	11
Negative	3	185	8
Equivocal	0	1	0

حساسیت نسبی: ۹۴,۷٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۸/۹٪-۸۵/۴٪

ویژگی نسبی: ۹۸,۴٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۹/۵٪-۹۵/۳٪

توافق: ۹۷,۶٪

داده های وسترن بلات مثبت و مبهم (سایت ۱)

جدول زیر نشان دهنده نتایج VIDAS Lyme IgG و IgM و نتایج EIA تجاری مثبت و مبهم در مقایسه با روش وسترن بلات است.

	Number of samples	Western Blot		
		Positive	Negative	Equivo-cal
VIDAS Positives	65	53	4	8
Equivocals	4	2	1	1
EIA Positives	68	54	3	11
Equivocals	1	0	1	0

ب. حساسیت / ویژگی (سایت ۲) (Biomerieux ، راکلند، ایالات متحده آمریکا)

VIDAS Lyme IgG و IgM در مقایسه به EIA

۲۳۳ نمونه در Biomerieux مورد آزمایش قرار گرفتند. ۱۰۰ نمونه از جمعیت اندمیک و ۹۹ نفر از جمعیت غیر اندمیک بودند. هر جمعیت شامل نمونه هایی از بیماران کودک و سالمند بود. با توجه به بروز پایین بیماری لایم، برای برآورد دقیق از حساسیت سنجش ۳۴ نمونه مثبت به مجموعه داده اضافه شد.

جمعیت اندمیک

۱۰۰ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت

۳ نتیجه مبهم را (در محاسبات ارائه نشده است)

VIDAS Lyme IgG and IgM	EIA		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	0	4	0
Negative	4	89	1
Equivocal	0	2	0

حساسیت نسبی محاسبه نشده است: تعداد ناکافی از موارد مثبت

حساسیت نسبی: ۹۵,۷٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۸/۸٪-۸۹/۴٪

توافق: ۹۱,۸٪

جمعیت غیر اندمیک

۹۹ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت

۱ نتیجه مبهم را (در محاسبات ارائه نشده است)

VIDAS Lyme IgG and IgM	EIA		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	0	2	0
Negative	0	96	0
Equivocal	0	1	0

حساسیت نسبی محاسبه نشده است: تعداد ناکافی از موارد مثبت

حساسیت نسبی: ۹۸,۰٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۹/۸٪-۹۲/۸٪

توافق: ۹۸,۰٪

۳۴ نمونه لایم مثبت

۳۴ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت

VIDAS Lyme IgG and IgM	EIA		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	34	0	0
Negative	0	0	0
Equivocal	0	0	0

حساسیت نسبی: ۱۰۰,۰٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۱۰۰/۰٪-۸۹/۷٪

ویژگی نسبی محاسبه نشده است: تعداد ناکافی از موارد منفی

توافق: ۱۰۰,۰٪

نمونه ترکیبی (سایت ۲)

۲۳۳ نمونه آزمایش شده

۴ نتیجه مبهم (در محاسبات ارائه نشده است)

VIDAS Lyme IgG and IgM	EIA		
	Positive	Negative	Equivocal
Positive	34	6	0
Negative	4	185	1
Equivocal	0	3	0

حساسیت نسبی: ۸۹,۵٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۷/۱٪-۷۵/۵٪

ویژگی نسبی: ۹۶,۹٪

فاصله اطمینان ۹۵٪: ۹۸/۶٪-۹۳/۲٪

توافق: ۹۵,۶٪

مقایسه وسترن بلات (نمونه های ترکیبی سایت ۲)

یک روش و سترن بلات برای همه نمونه های مثبت یا مبهم VIDAS Lyme IgG و IgM و روش تجاری در د سترس EIA ا ستفاده شد. معیارهای مورد استفاده برای شناسایی مثبت نمونه ها برای این وسترن بلات در دومین همایش ملی تشخیص سرولوژیک بیماری لایم ارائه شد و مشابه دستورالعمل CDC می باشد (۱۰، ۱۱).

۴۸ نمونه با روش وســترن بلات مورد آزمایش قرار گرفتند. از این ۴۸ نمونه:

۳۳ نمونه مثبت با VIDAS و EIA تایید شد،

۵ نمونه EIA مثبت، وسترن بلات منفی،

۱ نمونه EIA مبهم، وسترن بلات منفی،

۷ نمونه VIDAS مثبت، وسترن بلات منفی،

۱ نمونه VIDAS مبهم، وسترن بلات مثبت،

۲ نمونه VIDAS مبهم، وسترن بلات منفی بود.

داده های وسترن بلات مثبت و مبهم

جداول زیر نشان دهنده VIDAS Lyme IgG و IgM و نتایج مثبت و مبهم روش تجاری در دسترس EIA نسبت به روش Western blot می باشد.

	Number of samples	Western Blot Positive	Negative
VIDAS Positives	40	33	7
Equivocals	3	1	2
EIA Positives	38	33	5
Equivocals	1	0	1

ج. چالش پانل

یک پانل حاوی ۳۴ نمونه از CDC مورد آزمایش قرار گرفت. این پانل متشکل از پنج سرم بیماران بدون سابقه مواجهه شناخته شده با بیماری لایم و ۲۹ نمونه ســرم بیماران مبتلا به عفونت بورلیا بورگدورفری بود. نتایج در زیر ارائه شده است:

Time after onset of illness	Number of samples	Number of positives with VIDAS
1-2 months	12	9
3-12 months	10	7
Greater than 12 months	7	7
Negative sera	5	0
Total	34	23

تکرارپذیری

تکرار پذیری با استفاده از کنترل مثبت، کنترل منفی و ۶ نمونه سرم (دو منفی، دو مثبت ضــعیف، دو مثبت قوی) مورد بررســی قرار گرفت. محاسـبات داخلی (تمام سـایت) و دقت تام با اسـتفاده از دسـتورالعمل NCCLS EP5-T2 محا سبه شد. هر سرم بصورت دوپلیکه به مدت

Sample	N =	Mean test value	Std dev.	% CV
Standard (in RFV)	18	331	18.97	5.7
Control 1	18	2.51	0.17	6.9
Control 2	18	0.12	0.01	8.6
Neg. serum 1	18	0.11	0.01	8.6
Neg. serum 2	18	0.28	0.03	11.4
Low pos. serum 1	18	1.48	0.11	7.3
Low pos. serum 1	18	1.75	0.11	6.3
High pos. serum 1	18	2.72	0.17	6.1
High pos. serum 2	18	3.91	0.24	6.1

سه روز در سه سایت مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج سایت با هم ادغام و در جداول زیر آورده شده است:

دقت داخلی

Sample	N =	Mean test value	Std dev.	% CV
Standard (in RFV)	18	331	13.32	4.0
Control 1	18	2.51	0.06	2.4
Control 2	18	0.12	0.01	7.8
Neg. serum 1	18	0.11	0.01	6.9
Neg. serum 2	18	0.28	0.01	4,.9
Low pos. serum 1	18	1.48	0.05	3.6
Low pos. serum 1	18	1.75	0.05	2.9
High pos. serum 1	18	2.72	0.09	3.5
High pos. serum 2	18	3.91	0.09	2.2

دقت تام (تمامی سایت ها)

Sample	N =	Mean test value	Std dev.	% CV
Standard (in RFV)	18	331	18.97	5.7
Control 1	18	2.51	0.17	6.9
Control 2	18	0.12	0.01	8.6
Neg. serum 1	18	0.11	0.01	8.6
Neg. serum 2	18	0.28	0.03	11.4
Low pos. serum 1	18	1.48	0.11	7.3
Low pos. serum 1	18	1.75	0.11	6.3
High pos. serum 1	18	2.72	0.17	6.1
High pos. serum 2	18	3.91	0.24	6.1

دقت بیشتر

مطالعات دیگری برای برر سی دقت با ا ستفاده از کنترل مثبت و منفی و شــش ســرم (دو منفی، دو مثبت ضــعیف و دو مثبت قوی) در

Biomerieux مورد ارزیابی قرار گرفت. هر نمونه ۲۸ بار در در همان سری کاری آزمایش گردید. نتایج به دست آمده در زیر آورده شده است:

	n =	Mean test value	Std dev.	% CV
Positive control (C1)	28	2.86	0.12	4.2
Negative control (C2)	28	0.09	0.01	11.1
Negative serum 1	28	0.28	0.03	9.0
Negative serum 2	28	0.13	0.01	6.9
Low positive serum 1	28	1.44	0.07	4.7
Low positive serum 2	28	1.64	0.07	4.3
High positive serum 1	28	2.85	0.11	4.0
High positive serum 2	28	3.83	0.10	2.7

واکنش متقاطع

نمونه های بیماران مثبت برای سـفلیس، فاکتور روماتوئید، آنتی بادی ضد هسته، لوپوس اریتماتوی سیستمیک، CMV، EBV، HIV، تب منقوط کوه های راکی با روش VIDAS Lyme IgG و IgM مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج به د ست آمده در جدول زیر خلاصه شده است:

Disease state	Number of patients	VIDAS positive results
Syphillis Stage 1*	5	1
Syphillis Stage 2*	5	5
Syphillis Stage 3*	5	4
Rheumatoid factor/ 4 positive for rheumatoid arthritis	10	0
Antinuclear antibody	3	0
Systemic Lupus Erythematosus	7	0
Epstein-Barr virus	5	0
CMVG	10	0
HIV	10	0
Rocky Mt Spotted Fever	3	0

۱۵ نمونه سفلیس مثبت (در مراحل مختلف)، ۱۰ تست مثبت و ۵ تست منفی با ا ستفاده از روش VIDAS Lyme IgGو IgM مورد آزمایش قرار گرفتند.

توجه: نتایج مثبت کاذب می تواند در روش VIDAS Lyme IgGو IgM با سرم از بیماران سفلیس رخ دهد. اطلاعات بالینی و نتایج آزمایش مثبت RPR ، VDRL یا TPHA در رد بیماران مبتلا به سفلیس کمک کننده می باشند.

واکنش متقاطع نیز ممکن اسـت در بیماران مبتلا به تب راجعه، تب منقوط کوه های راکی ، سـایر بیماری های اسـپیروکتال، بیمـاری خود ایمنی، آرتریـت روماتوئیـد، لوپوس اریتمـاتوی سیستمیک، عفونت EBV، یا CMV عفونت دیده شود. علائم بالینی، اپیدمیولوژی و سـایر آزمایشـات مانند خصـوصـیات باند و سترن بلات باید امکان تمایز این شرایط از بیماری لایم را فراهم کند.

مطالعات تداخلی

هموگلوبین

به ترتیب سـه ذخیره از سـرم انسـان با مقادیر بالای هموگلوبین، بیلی روبین و چربی مشخصی شد.

		Amount of hemoglobin spiked (g/l)			
		0 g/l	1.5 g/l	3 g/l	5 g/l
VIDAS Lyme IgG and IgM Results (Test value)	Pool 1	1.97	1.74	1.64	1.65
	Pool 2	0.07	0.07	0.07	0.07
	Pool 3	2.49	2.68	2.42	2.35

		Amount of bilirubin spiked (g/l)			
		0 g/l	10 g/l	20 g/l	30 g/l
VIDAS Lyme IgG and IgM Results (Test value)	Pool 1	1.61	1.95	1.74	1.75
	Pool 2	0.09	0.07	0.08	0.07
	Pool 3	3.45	3.72	3.64	3.31

		Amount of hemoglobin spiked (g/l)			
		0 g/l	1.5 g/l	3 g/l	5 g/l
VIDAS Lyme IgG and IgM Results (Test value)	Pool 1	1.97	1.74	1.64	1.65
	Pool 2	0.07	0.07	0.07	0.07
	Pool 3	2.49	2.68	2.42	2.35

دفع زباله

معرف های مورد استفاده یا استفاده نشده و همچنین سایر مواد یکبار مصرف آلوده را به دنبال فرآیندهای محصولات عفونی و یا بالقوه عفونی دور بیندازید. مدیریت ضایعات و فاضلاب ایجاد شده بر اساس نوع و میزان خطرات، مقابله و دفع آنها از مسئولیت های هر آزمایشگاه است که باید مطابق با مقررات مربوطه صورت بگیرد.

ضمانت

bioMérieux هرگونه ضمانت صریح یا ضمنی شامل ضمانت خرید و فروش و مناسب بودن آن برای یک کاربرد ویژه را رد می کند. bioMérieux در قبال هر گونه خسارت اتفاقی یا تبعی مسئول نخواهد بود. همچنین، bioMérieux در هیچ شرایط تعهدی نسبت به هر گونه ادعای مشتری مبنی بر استرداد مبلغ پرداخت شده به شرکت برای محصول یا خدماتی که موضوع این ادعا است ندارد.

معنی	نماد
شماره بروشور	REF
خدمات تشخیصی پزشکی	IVD
سازنده	
محدودیت دما	
طرز استفاده	
کد دسته	LOT
دستورالعمل استفاده	
محتوی تعداد کافی برای تست<n>	Σ
تاریخ تولید	

منابع

1. BURGDORFER W. Discovery of the Lyme disease spirochete and its relation to tick vectors. Yale Jrnl. Biol. Med. 1984, 57: 515-520.
2. TROCK, D., et al. Clinical manifestations of Lym disease in the United States. Connecticut Medicine. 1989, 53:327-330.
3. CRIBIER B., LIPSKER D. Lyme Borreliosis: clinical review. Nouv. Dermatol. 1993, 12: 622-638.
4. BARBOUR, A. Laboratory aspects of Lyme borreliosis. Clin. Micro. 1988, Rev. 1: 399-414.
5. CDC. Recommendation for test performance and interpretation from the Second National Conference on Serological Diagnosis of Lyme Disease. MMWR, 1995; 44; 590-591.
6. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
7. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
8. 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.
9. 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.
10. CDC Recommendations Standardizations and Interpretation, CDC Conference 10/28/94.
11. MAGNARELLI L., et al. Cross reactivity in serologic tests for Lyme disease and other spirochetal infections. J. Infec. Dis. 1987, 156: 183-188.
12. GOLIGHTLY, M., THOMAS J., and VICIANA A. The laboratory diagnosis of Lyme borreliosis. Laboratory Medicine. 1990, 21: 299-304.
13. MAGNARELLI, L. Laboratory analyses for Lyme disease. Connecticut Medicine. 1989, 53: 331-333.
14. CALLISTER S.M., CASE K.L. and SCHELL R.F. Diagnostic testing for Lyme disease. Labmedica Feb/March. 1990, 11- 14.
15. O'CONNELL, et al. Epidemiology of European Lyme Borreliosis - Zent. Bl. Bakteriol. 1998, 287, 229-240
16. CDC. Surveillance for Lyme Disease - US 1998 – MMWR Surveillance Summaries, 2000; 49, 1-11.
17. CASE, K.L., 1994. Western Blot Standardization, Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease 10/28/9

BIOMÉRIEUX

bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

CE