

INSTRUCCIONES DE USO



ES

Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM

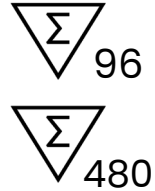
REF

3Z9661
SM3Z9661
3Z9661B

IVD



Rx Only



USO PREVISTO

El objetivo del Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM es la detección cualitativa de anticuerpos de los tipos IgG e IgM para los antígenos VlsE1 y pepC10 frente a *Borrelia burgdorferi* en el suero humano. Se ha ideado este ensayo diseñado para el análisis de muestras de suero de pacientes con síntomas o sospecha de enfermedad de Lyme.

Si los resultados de los análisis realizados con el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM son positivos para los anticuerpos frente a *Borrelia burgdorferi*, deben hacerse análisis confirmatorios adicionales mediante uno de los siguientes métodos:

- (1) Método de análisis confirmatorio estándar (MACE) de IgG o IgM mediante inmunoelectrotransferencia,
- (2) Método de análisis confirmatorio modificado (MACM) mediante uno o más de los siguientes ensayos ELISA:
 - Sistema de análisis de Anti- *B. burgdorferi* IgG/IgM
 - Sistema de análisis de Anti- *B. burgdorferi* IgM
 - Sistema de análisis de Anti- *B. burgdorferi* IgG

Un análisis con resultado positivo de acuerdo con un MACE o un MACM es indicativo de presencia de anticuerpos y exposición a *Borrelia burgdorferi*, que es la bacteria responsable de la enfermedad de Lyme. Para elaborar un diagnóstico de enfermedad de Lyme, deben verificarse la presencia de anticuerpos frente a *Borrelia burgdorferi*, los antecedentes, los síntomas y otros datos analíticos.

RELEVANCIA Y ANTECEDENTES

Borrelia burgdorferi es la espiroqueta que provoca la enfermedad de Lyme. Las garrapatas del género *Ixodes* transmiten este microorganismo. En las regiones endémicas, estas garrapatas suelen vivir en la vegetación y algunos animales, como los ciervos, los ratones, los perros, los caballos y los pájaros. La infección por *B. burgdorferi* comparte ciertas características con otras infecciones por espiroquetas (enfermedades causadas por tres géneros en humanos: *Treponema*, *Borrelia* y *Leptospira*). La piel es el punto de entrada de *B. burgdorferi*; la picadura de la garrapata suele provocar una erupción cutánea característica, denominada *eritema migratorio* (EM). El EM aparece en torno a la picadura de la garrapata en el 60 a 80 % de los pacientes. La espiroquetemia se produce con rapidez y se extiende por todos los tejidos y humores corporales. La enfermedad de Lyme presenta distintas etapas, frecuentemente con períodos de latencia intercalados y distintos signos clínicos.

La enfermedad de Lyme suele dividirse en tres etapas, en las que se producen síntomas mixtos. Los síntomas varían en función de las zonas afectadas por la infección, como las articulaciones, la piel, el sistema nervioso central, el corazón, los ojos, los huesos, el bazo y los riñones. Las fases tardías de la enfermedad suelen vincularse con la artritis y los síndromes del SNC. La infección puede ser asintomática y no tener trascendencia clínica hasta alcanzadas las etapas más tardías. Los pacientes generan anticuerpos del tipo IgM durante las semanas inmediatamente posteriores a la aparición del EM y anticuerpos del tipo IgG con mayor lentitud (1). A pesar de que la IgM solo puede detectarse durante el mes inmediatamente posterior a la infección, la mayor parte de los pacientes genera anticuerpos del tipo IgG a lo largo de dicho primer mes. Los anticuerpos del tipo IgG e IgM pueden detectarse durante años.

Se ha conseguido aislar *B. burgdorferi* de biopsias cutáneas, sangre y líquido cefalorraquídeo. No obstante, estos métodos de detección directos por cultivo no siempre resultan útiles para el diagnóstico general de la borreliosis de Lyme. Algunos de los métodos de análisis de anticuerpos frente a *B. burgdorferi* son el fluoroinmunoanálisis (FIA), la inmunotransferencia y el enzimoimmunoanálisis (EIA). *B. burgdorferi* es una bacteria compleja por lo que respecta a los antígenos, con cepas que varían considerablemente. Al principio, los anticuerpos suelen responder a la flagelina, que presenta componentes de reacción cruzada. Es posible que los pacientes que están en las etapas iniciales de la infección no generen valores detectables de anticuerpos. Por otro lado, el tratamiento antibiótico precoz derivado de la aparición del EM puede disminuir o evitar una buena respuesta. Algunos pacientes no generan nunca niveles detectables de anticuerpos. Por lo tanto, los análisis serológicos de anticuerpos frente a *B. burgdorferi* presentan una sensibilidad y una especificidad bajas. Esta falta de precisión implica que no se pueden usar los análisis de forma exclusiva para determinar el diagnóstico de enfermedad de Lyme (3, 4).

En 1994, el Segundo Congreso Nacional sobre el Diagnóstico Serológico de la Enfermedad de Lyme recomendó un sistema analítico de dos niveles dirigido a normalizar los análisis serológicos de *B. burgdorferi*. Dado que el EIA y el FIA no son lo suficientemente específicos como para respaldar el diagnóstico clínico, se recomendó realizar análisis adicionales de las muestras positivas o dudosas procedentes de EIA y FIA (primera etapa), utilizando análisis basados en inmunoelectrotransferencia (segunda etapa) para la detección de anticuerpos frente a *B. burgdorferi* (los análisis basados en inmunoelectrotransferencia para la detección de anticuerpos frente a *B. burgdorferi* son complementarios en vez de confirmatorios, pues su especificidad no es óptima, en especial para la detección de IgM). Si el resultado del análisis confirmatorio es positivo, se considera que existen signos de exposición a *B. burgdorferi*, lo que podría respaldar el diagnóstico clínico de enfermedad de Lyme. No obstante, esto no debe usarse como criterio único de diagnóstico. A ese supuesto se le suele denominar "método de análisis confirmatorio estándar" (MACE). En ciertos estudios recientes (9, 10, 11) se ha demostrado que el uso de un segundo ensayo ELISA en lugar de la inmunotransferencia de *Borrelia* puede dar lugar a un método de análisis confirmatorio modificado (MACM), comparable con el MACE.

A lo largo de los últimos años, se han analizado varios antígenos con el objetivo de mejorar el diagnóstico serológico de la enfermedad de Lyme. Uno de estos fue el análisis de los anticuerpos para los antígenos VlsE1 y pepC10. Este análisis detecta anticuerpos del tipo IgG e IgM para los antígenos VlsE1 y pepC10.

PRINCIPIO DEL ENSAYO








Se ha ideado el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM para detectar anticuerpos de los tipos IgG e IgM para los antígenos VlsE1 y pepC10 en el suero humano. El procedimiento analítico se divide en tres etapas de incubación:

1. El suero para análisis (bien diluido) se incuba en micropocillos recubiertos del antígeno. Todos los anticuerpos relacionados con el antígeno de la muestra se fijarán al antígeno inmovilizado. Debe lavarse la placa para eliminar los anticuerpos no fijados y otros componentes del suero.
2. Debe añadirse a los pocillos un anticuerpo de cabra frente a IgG e IgM humana conjugado con peroxidasa e incubarse la placa. El conjugado reaccionará con los anticuerpos del tipo IgG o IgM inmovilizados durante la fase sólida, en la 1ª etapa. Deben lavarse los pocillos para eliminar el conjugado que no haya reaccionado.
3. Los micropocillos que contengan conjugado de peroxidasa inmovilizado deben incubarse con una solución de sustrato de peroxidasa. La hidrólisis del sustrato mediante la peroxidasa da lugar a un cambio de color. Transcurrido cierto tiempo, se detiene la reacción y se determina la intensidad del color de la solución por fotometría. La intensidad del color de la solución depende de la concentración de anticuerpos en la muestra para análisis.

COMPONENTES DEL SISTEMA DE ANÁLISIS

Materiales proporcionados:

Cada sistema de análisis contiene una cantidad suficiente de los siguientes componentes para realizar el número de análisis indicados en la etiqueta del envase. **NOTA:** Los siguientes componentes contienen azida sódica como conservante en una concentración < 0,1 % (m/v): control, calibrador y SAVe Diluent*.

Componente del kit	Cantidad 	Cantidad 	Descripción
 PLATE	1	5	Placa: 96 pocillos dispuestos en doce tiras de 1 x 8 pocillos, recubiertos del antígeno VlsE1 y pepC10 inactivado. Las tiras se envían en un soporte para tiras dentro de un sobre con secante.
 CONJ	1	5	Conjugado: anticuerpo de cabra frente a IgG e IgM humana, conjugado (peroxidasa de rábano). Frasco de 15 ml con el tapón blanco. Listo para usar.
 CTRL +	1	2	Control positivo (suero humano): vial de 0,35 ml con el tapón rojo. Concentrado 21X.
 CAL	1	4	Calibrador (suero humano): vial de 0,5 ml con el tapón azul. Concentrado 21X.
 CTRL -	1	2	Control negativo (suero humano): vial de 0,35 ml con el tapón verde. Concentrado 21X.

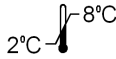
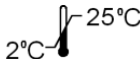
DIL SPE	1	4	SAVe Diluent®: frasco de 30 ml con el tapón verde, que contiene Tween 20, albúmina de suero bovino y solución salina amortiguada con fosfato. Listo para usar. NOTA: SAVe Diluent® cambiará de color cuando se combine con el suero.
SOLN TMB	1	5	TMB: frasco de color topacio de 15 ml con el tapón de color topacio, que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.
SOLN STOP	1	3	Solución de detención: frasco de 15 ml con el tapón rojo que contiene H2SO4 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.
WASH 10X	1	5	Solución amortiguadora de lavado (10X): diluya 1 parte de la solución + 9 partes de agua desionizada o destilada. Frasco de 100 ml con tapón transparente que contiene una solución salina amortiguada con fosfato en una concentración de 10X y una solución Tween 20 (solución de color azul). NOTA: El pH de la solución 1X será de 7,2 ± 0,2.

NOTA: Los siguientes componentes son independientes del número de lote del sistema de análisis y pueden intercambiarse con los del sistema de análisis ZEUS ELISA: TMB, solución de detención y solución amortiguadora de lavado. El SAVe Diluent® puede intercambiarse por cualquier sistema de análisis ZEUS ELISA que utilice el producto número 005CC.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Evaluador de micropocillos para ELISA, capaz de evaluar de acuerdo con una longitud de onda de 450 nm. **NOTA: Puede usarse un evaluador de longitud de onda única (450 nm) o doble (450/620 - 650 nm). Es preferible una longitud de onda doble, puesto que el filtro de referencia adicional está configurado para disminuir posibles interferencias derivadas de anomalías capaces de absorber luz.**
2. Pipetas de precisión con una capacidad de 10 - 200 µl.
3. Pipetas multicanal de precisión con una capacidad de 50 - 200 µl.
4. Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
5. Piseta o sistema de lavado de micropocillos.
6. Agua destilada o desionizada.
7. Probeta graduada de 1 litro.
8. Pipetas serológicas.
9. Puntas de pipeta desechables.
10. Papel absorbente.
11. Temporizador de laboratorio para controlar la incubación.
12. Recipiente de desechos y desinfectante (es decir: lejía doméstica al 10 % o hipoclorito sódico al 0,5 %).

CONDICIONES DE CONSERVACIÓN

	Tiras de micropocillos recubiertos: Vuelva a sellar las tiras adicionales con secante y almacénelas correctamente. Una vez abiertas, las tiras se mantienen estables durante 60 días y pueden usarse siempre que la tira indicadora de la bolsa de secante sea de color azul.
	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de análisis, calibrador, control positivo, control negativo, TMB y SAVe Diluent® sin abrir.
	Solución de detención: 2 - 25°C. Solución amortiguadora de lavado (1X): 20 - 25°C durante siete días y 2-8°C durante 30 días. Solución amortiguadora de lavado (10X): 2 - 25°C.

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Siga las precauciones normales empleadas al manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con agua abundante y busque atención médica. Lleve ropa protectora adecuada, guantes y protección ocular o para la cara. No respire los vapores. Elimine los desechos de acuerdo con la legislación local, estatal y federal aplicable.

3. Los pocillos de la placa para ELISA no contienen microorganismos viables. No obstante, deben considerarse como **materiales con posible riesgo biológico**, por lo que debe manipularse como tales.
4. Los controles son **materiales con posible riesgo biológico**. Los materiales de los que se derivan estos productos dieron un resultado negativo para el antígeno del VIH-1, HBSAg y para los anticuerpos frente al VHC y al VIH mediante métodos de análisis aprobados. No obstante, puesto que ningún método de análisis puede ofrecer una garantía total de ausencia de agentes infecciosos, estos productos deben manipularse de acuerdo con un nivel de bioseguridad 2, según lo recomendado para cualquier muestra de suero o sangre de origen humano potencialmente infecciosa en el manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", de los Centros para el Control de las Enfermedades y los Institutos Nacionales de Salud (edición actual) y la norma de la OSHA para patógenos transmitidos por la sangre (5).
5. Para obtener resultados precisos, es esencial que se ajuste a las condiciones de tiempo y temperatura de incubación especificadas. **Se debe dejar que todos los reactivos se estabilicen a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de iniciar el análisis.** Devuelva los reactivos sin usar a un lugar con la temperatura de refrigeración inmediatamente después de usarlos.
6. Un lavado inadecuado puede dar lugar a resultados falsos positivos o falsos negativos. Asegúrese de reducir al mínimo la cantidad residual de la solución de lavado (p. ej., mediante secado o aspirado) antes de añadir el conjugado o sustrato. No deje que los pocillos se sequen entre incubaciones.
7. El SAVe Diluent[®], los controles y el calibrador contienen azida sódica en una concentración < 0,1 % (m/v). Se ha indicado que la azida sódica genera azida de plomo o cobre en las tuberías del laboratorio, que podrían explotar al golpearlas con un martillo. Para evitar este riesgo, aclare bien el lavabo con agua tras eliminar la solución que contenga azida sódica.
8. La solución de detención resulta TÓXICA si se inhala, se traga o entra en contacto con la piel. Además, puede provocar quemaduras. Si tuviera un accidente o se sintiera indispuesto, busque atención médica de inmediato.
9. La solución de TMB es NOCIVA. Resulta irritante para los ojos, el aparato respiratorio y la piel.
10. La solución amortiguadora de lavado es IRRITANTE. Resulta irritante para los ojos, el aparato respiratorio y la piel.
11. Limpie el fondo de la placa, de modo que quede exenta de líquidos residuales y huellas, ya que estos pueden alterar la lectura de la densidad óptica (DO).
12. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
13. No utilice reactivos procedentes de otras fuentes o fabricantes.
14. Durante su uso, la solución de TMB debe ser incolora o presentar un tono amarillo, verde o azul muy claros. Si el TMB se contamina con el conjugado u otros oxidantes, la solución cambiará de color de forma prematura. No utilice el TMB si presenta un color azul evidente.
15. No pipetee nunca con la boca. Evite el contacto de los reactivos y de las muestras de los pacientes con la piel y las mucosas.
16. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Se pueden obtener resultados incorrectos.
17. La contaminación cruzada de los reactivos y/o de las muestras podría provocar resultados erróneos.
18. Los utensilios de vidrio reutilizables se deben lavar bien sin usar detergentes.
19. Evite las salpicaduras o la generación de aerosoles.
20. No exponga los reactivos a una luz potente durante su conservación o incubación.
21. Deje que el soporte y las tiras de micropocillos alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlos. La cubierta de protección evitará la condensación en los pocillos.
22. Recoja la solución de lavado en un recipiente de desecho. Trate la solución residual con desinfectante (es decir, lejía de uso doméstico al 10 % o hipoclorito sódico al 0,5 %). Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
23. Atención: Neutralice cualquier solución residual con un pH ácido antes de añadirla a la solución de lejía.
24. No utilice la placa para ELISA si la tira indicadora de la bolsa de secante ha pasado de ser de color azul a ser de color rosa.
25. No deje que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que puedan haber contenido previamente una solución que utilice la azida sódica como conservante. Las cantidades residuales de azida sódica pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
26. No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía ni a ningún olor fuerte, procedente de soluciones que contengan lejía. Cualquier resto de lejía (hipoclorito sódico) puede destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos del sistema de análisis.

RECOGIDA DE MUESTRAS

1. ZEUS Scientific recomienda que el usuario recoja las muestras de acuerdo con el documento M29 de la CLSI, [Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease](#) (edición actual).
2. Ningún método de análisis conocido ofrece una garantía total de que las muestras de sangre humana no transmitan infecciones. Por tanto, considere que todos los hemoderivados son potencialmente infecciosos.

- En este análisis, utilice solamente suero recién extraído y refrigerado de forma adecuada, obtenido mediante procedimientos de venopunción aprobados (6, 7). No lo utilice si contiene anticoagulantes o conservantes añadidos. Evite el uso de sueros hemolizados, lipémicos o bacteriológicamente contaminados.
- Conserve la muestra a temperatura ambiente durante un máximo de 8 horas. Si el análisis no se realiza en un plazo de 8 horas, el suero puede conservarse a una temperatura entre 2 – 8 °C, durante un máximo de diez días. Si se espera un retraso en la realización del análisis, conserve el suero que se vaya a analizar a –20 °C o a una temperatura inferior. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación, que podrían provocar la pérdida de actividad de los anticuerpos y arrojar resultados erróneos. Es responsabilidad de cada laboratorio utilizar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para dicho laboratorio (8).

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Extraiga los componentes del lugar de conservación y deje que se estabilicen a temperatura ambiente (20 – 25 °C).
- Determine la cantidad de micropocillos necesarios. Reserve seis espacios para control/calibrado (un blanco de reactivos, un control negativo, tres calibradores y un control positivo) por desarrollo. Introduzca un blanco de reactivos en cada análisis. Revise los requisitos del software y el evaluador para conocer la configuración correcta de los controles/calibradores. Guarde las tiras que no haya utilizado en la bolsa de cierre hermético que contiene el secante, ciérrela y almacénela a una temperatura entre 2 y 8 °C.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Blanco	Paciente 3
B	Control negativo	Paciente 4
C	Calibrador	Etc.
D	Calibrador	
E	Calibrador	
F	Control positivo	
G	Paciente 1	
H	Paciente 2	

- Prepare una dilución 1:21 (p. ej., 10 µl de suero + 200 µl de SAVe Diluent*) que contenga el control negativo, el calibrador, el control positivo y el suero de cada paciente. Asegúrese de que las muestras estén bien mezcladas. **NOTA: El SAVe Diluent® cambiará de color para confirmar que la muestra se ha combinado con el diluyente.**
- Pipetee 100 µl de cada control, calibrador y muestra del paciente diluidos en cada pocillo. Utilice una punta de pipeta distinta para cada muestra.
- Pipetee 100 µl del SAVe Diluent® en el pocillo A1, a modo de blanco de reactivos. Revise los requisitos del software y el evaluador para conocer la configuración correcta del blanco de reactivos.
- Incube la placa a temperatura ambiente (20-25 °C) durante 30 minutos.
- Lave las tiras de micropocillos cinco veces.
 - Procedimiento de lavado manual:**
 - Agite enérgicamente los pocillos hasta que no quede líquido.
 - Llene los micropocillos de la solución amortiguadora de lavado. Asegúrese de que no queden burbujas de aire en los pocillos.
 - Repita los pasos 1 y 2 cinco veces.
 - Extraiga la solución de lavado de todos los pocillos. Dé la vuelta a la placa, colóquela sobre papel absorbente y golpéela suavemente para eliminar cualquier resto de solución de lavado de los pocillos. Revise la placa de forma visual para asegurarse de que no queden restos de la solución de lavado. Vierta toda la solución de lavado en un recipiente de desechos y trátela con desinfectante al final del día.
 - Procedimiento de lavado automático:**
Si va a utilizar un sistema de lavado automático de micropocillos, ajuste el volumen de dispensación a 300-350 µl/pocillo. Programe cinco ciclos de lavado sin pausa entre lavados. Si es necesario, extraiga la placa de micropocillos de la lavadora, colóquela del revés sobre papel absorbente y golpéela suavemente para extraer cualquier resto de la solución de lavado de los micropocillos.
- Pipetee 100 µl del conjugado en cada pocillo, incluido el pocillo del blanco de reactivos, a la misma velocidad y en el mismo orden que las muestras.
- Incube la placa a temperatura ambiente (20 – 25 °C) durante 30 minutos.
- Lave los micropocillos de acuerdo con el procedimiento que se indica en el apartado 7.

11. Pipetee 100 µl del TMB en cada pocillo, incluido el pocillo del blanco de reactivos, a la misma velocidad y en el mismo orden que las muestras.
12. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 10 - 15 minutos.
13. Detenga la reacción pipeteando 50 µl de la solución de detención en cada pocillo, incluido el pocillo del blanco de reactivos, a la misma velocidad y en el mismo orden que el TMB. Las muestras positivas pasarán de ser de color azul a ser de color amarillo. Tras pipetear la solución de detención, golpee la placa suavemente varias veces para asegurarse de que las muestras se mezclen bien.
14. Configure el evaluador de micropocillos para que evalúe de acuerdo con una longitud de ondas de 450 nm y determine la densidad óptica (DO) de cada pocillo frente al blanco de reactivos. Evalúe la placa menos de 30 minutos después de añadir la solución de detención.

RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Diluya el suero en 1:21.
2. Pipetee la muestra diluida en el micropocillo: 100 µl/pocillo.
3. \longrightarrow *Incube durante 25 ± 5 minutos.*
4. Lave.
5. Pipetee el conjugado: 100 µl/pocillo.
6. \longrightarrow *Incube durante 25 ± 5 minutos.*
7. Lave.
8. Pipetee el TMB: 100 µl/pocillo.
9. \longrightarrow *Incube durante 10-15 minutos.*
10. Pipetee la solución de detención: 50 µl/pocillo. Mezcle.
11. EVALÚE en un plazo de 30 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

1. Cada vez que se realice un análisis, debe introducirse tres veces el calibrador. También debe incluirse un blanco de reactivos, un control negativo y un control positivo.
2. Calcule la media de los tres pocillos del calibrador. Si alguno de los tres valores se desvía más de un 15 % de la media, elimine dicho valor y calcule la media usando los dos pocillos restantes.
3. El valor medio de la DO del calibrador, el control positivo y el control negativo debe ajustarse a los siguientes intervalos:

	<u>Intervalo de la DO</u>
Control negativo	$\leq 0,250$
Calibrador	$\geq 0,300$
Control positivo	$\geq 0,500$

- a. La DO del control negativo dividida entre la media de la DO del calibrador debe ser $\leq 0,9$.
- b. La DO del control positivo dividida entre la media de la DO del calibrador debe ser $\geq 1,25$.
- c. Si no se reúnen las condiciones antedichas, debe considerarse que el análisis no es válido, por lo que debe repetirse.
4. El objetivo del control positivo y el control negativo es controlar que no se cometa un error importante con los reactivos. No obstante, estos no garantizan la precisión del valor de corte del análisis.
5. Pueden analizarse controles adicionales de acuerdo con las directrices o requisitos de la normativa local, estatal o federal o las organizaciones de acreditación.
6. Consulte el documento C24 de la CLSI, Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures, para saber más sobre las prácticas óptimas de CC.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. Cálculos:

- a. *Factor de corrección:* El fabricante ha determinado un valor de corte de la DO para las muestras positivas y lo ha correlacionado con el calibrador. El factor de corrección (FC) permite determinar el valor de corte para las muestras positivas. Además, corrige la variabilidad cotidiana leve de los resultados de los análisis. Se determina un factor de corrección para cada lote de componentes; este aparece en la etiqueta del componente, que se encuentra en la caja del sistema de análisis.
- b. *Valor de corte de la DO:* Para obtener el valor de corte de la DO, multiplique el FC por la media de la DO del calibrador, que ya debe haber determinado ($FC \times \text{media de la DO del calibrador} = \text{valor de corte de la DO}$).
- c. *Cociente valor índice/DO:* Calcule el cociente valor índice/DO de cada muestra dividiendo el valor de la DO entre el valor de corte de la DO, determinado en el apartado b.

Ejemplo: Media de la DO del calibrador	=	0,793
Factor de corrección (FC)	=	0,25
Valor de corte de la DO	=	$0,793 \times 0,25 = 0,198$
DO de muestra desconocida	=	0,432

$$\text{Cociente valor índice/DO de la muestra} = 0,432/0,198 = 2,18$$

2. **Interpretación:** Los cocientes valor índice/DO se interpretan del siguiente modo.

	Cociente valor índice/DO
Muestras negativas	$\leq 0,90$
Muestras dudosas	$0,91 - 1,09$
Muestras positivas	$\geq 1,10$

- Un cociente de $DO \leq 0,90$ indica que no se han detectado cantidades significativas de anticuerpos para VlsE1 y pepC10. Si hay motivos para sospechar de exposición a *B. burgdorferi*, debe recogerse y analizarse una nueva muestra de dos a cuatro semanas después.
 - Un cociente de $DO \geq 1,10$ indica que se han detectado anticuerpos frente a *B. burgdorferi*. Esto quiere decir que hay datos que respaldan una exposición probable. La muestra debe exponerse a un análisis confirmatorio de detección de IgG o IgM mediante inmunoelectrotransferencia.
 - Las muestras que presentan un cociente de DO dudoso (0,91-1,09) indica que se han detectado anticuerpos frente a *B. burgdorferi*. Esto quiere decir que hay datos que respaldan una exposición probable. La muestra debe exponerse a un análisis confirmatorio de detección de IgG o IgM mediante inmunoelectrotransferencia.
3. **Interpretación de MACM (2-EIA) para la detección de IgG/IgM:**

Además de usarse en el método de análisis confirmatorio estándar (MACE), este dispositivo puede usarse en el protocolo 2-EIA o el método de análisis confirmatorio modificado (MACM) para la detección de anticuerpos de IgG/IgM frente a *B. burgdorferi* del siguiente modo.

- Las muestras deben analizarse con el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM.
- A continuación, deben analizarse todas las muestras positivas y dudosas con el Anti- *B. burgdorferi* IgG/IgM.
- Los resultados positivos y dudosos de los análisis confirmatorios mediante EIA deben considerarse positivos e interpretarse como análisis complementario de la presencia de anticuerpos del tipo IgG/IgM y de exposición a *B. burgdorferi*.

4. **Uso e interpretación de MACM (2-EIA) para la detección de anticuerpos del tipo IgM:**

Además de usarse en el método de análisis confirmatorio estándar (MACE), este dispositivo puede usarse en el protocolo 2-EIA o el método de análisis confirmatorio modificado (MACM) para la detección de anticuerpos de IgM frente a *B. burgdorferi* del siguiente modo.

- Las muestras deben analizarse con el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM.
- A continuación, deben analizarse todas las muestras positivas y dudosas con el Anti- *B. burgdorferi* IgM.
- Los resultados positivos y dudosos de los análisis confirmatorios mediante EIA deben considerarse positivos e interpretarse como análisis complementario de la presencia de anticuerpos del tipo IgM y de exposición a *B. burgdorferi*.

5. **Uso e interpretación de MACM (2-EIA) para la detección de anticuerpos del tipo IgG:**

Además de usarse en el método de análisis confirmatorio estándar (MACE), este dispositivo puede usarse en el protocolo 2-EIA o el método de análisis confirmatorio modificado (MACM) para la detección de anticuerpos de IgG frente a *B. burgdorferi* del siguiente modo.

- Las muestras deben analizarse con el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM.
- A continuación, deben analizarse todas las muestras positivas y dudosas con el Anti- *B. burgdorferi* IgG.
- Los resultados positivos y dudosos de los análisis confirmatorios mediante EIA deben considerarse positivos e interpretarse como análisis complementario de la presencia de anticuerpos del tipo IgG y de exposición a *B. burgdorferi*.

LIMITACIONES DEL ENSAYO

- Para realizar el estudio mediante MACM, se utilizó el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM como análisis inicial y el Anti- *B. burgdorferi* IgG/IgM, el Anti- *B. burgdorferi* IgM o el Anti- *B. burgdorferi* IgG como análisis confirmatorios; los análisis se realizaron en dicho orden. No se ha establecido la eficacia diagnóstica del dispositivo en caso de modificación del orden del análisis o de uso de otros análisis mediante EIA en el MACM (2-EIA).
- Interprete los resultados de los análisis teniendo en cuenta la evaluación clínica y los resultados de los demás procedimientos de diagnóstico.
- No haga exámenes colectivos de la población general. El valor pronóstico de un resultado positivo o negativo depende de la prevalencia del analito (anticuerpos frente a los antígenos VlsE1 y pepC10) en la población de pacientes que corresponda. Realice los análisis solo si los datos clínicos sugieren una posible infección por *Borrelia* o si los médicos observan motivos relacionados.
- Las muestras de suero hemolizado, icterico y lipémico que contengan concentraciones anómalas de los anticuerpos del tipo IgG y RF podrían interferir en los resultados del análisis. Evite utilizar dichos tipos de muestras.
- Interprete con cautela los resultados de los análisis de las muestras de los pacientes inmunodeprimidos.
- No se ha establecido la eficacia diagnóstica de este dispositivo en matrices distintas del suero.

7. No se ha establecido la eficacia diagnóstica de este dispositivo en presencia de muestras que contengan anticuerpos heterófilos, pues estos dan lugar a resultados falsos positivos en ciertos inmunoanálisis.
8. No se han analizado muestras compuestas por anticuerpos con posibilidad de reacción cruzada frente a *B. burgdorferi* ante infecciones que dan lugar a borreliosis transmitida por garrapatas, rickettsiosis, ehrlichiosis, babesiosis y leptospirosis. Por lo tanto, se desconoce la eficacia del dispositivo en caso de reacción cruzada con estos anticuerpos.
9. En los estudios prospectivos no se analizaron muestras recientes.
10. Este análisis no distingue los resultados positivos para IgG e IgM de los resultados positivos para IgG o IgM.

RESULTADOS PREVISTOS

Datos demográficos y distribución etaria:

Para evaluar la eficacia del dispositivo, los investigadores, tanto internos como externos, utilizaron 775 muestras ocultas, recogidas de forma prospectiva, de pacientes de entre 3 y 105 años que necesitaban un análisis de anticuerpos frente a *Borrelia*. El primer centro, el laboratorio del fabricante, analizó las 575 muestras recogidas en Nueva York. El segundo centro, el laboratorio de un hospital del noreste de los EE. UU., analizó las 100 muestras recogidas en California. El tercer centro, un laboratorio de referencia del noreste de los EE. UU., analizó las 100 muestras recogidas en Pensilvania. Los investigadores, tanto internos como externos, también evaluaron la eficacia del dispositivo en distintas poblaciones. La tabla 1 recoge los datos demográficos de los pacientes, el número de muestras analizado y el número de muestras con resultados positivos por cada población.

Tabla 1: Datos demográficos de los pacientes analizados con el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM

Población	Cantidad analizada	Sexo		Intervalo etario	Positivo/analizado
		Hombre	Mujer		
Prospectiva	775	297	474	3 - 105	63/775
Caracterizada	100	58	42	3 - 91	92/100
Controles: zonas endémicas	200	78	122	5 - 99	10/198
Controles: zonas no endémicas	200	100	100	18 - 88	3/200

EFICACIA DIAGNÓSTICA

1. Ensayos clínicos y comparación del método con el de un dispositivo comparable comercial para ELISA:

Como parte de los ensayos clínicos, se evaluaron 1314 muestras de suero en tres centros distintos de los Estados Unidos. Para evaluar la concordancia, se evaluaron las muestras de suero con un sistema de referencia: el sistema de análisis de IgG/IgM para VlsE1/pepC10 Multi-Lyte. Se evaluaron las siguientes poblaciones en tres centros clínicos en total: el primer centro fue el laboratorio del fabricante; el segundo centro fue el laboratorio de un hospital situado en el noreste de los EE. UU.; y el tercer centro fue un laboratorio de referencia también situado en el noreste de los EE. UU.

a. Muestras caracterizadas (100 muestras):

Se recogieron y analizaron 100 muestras caracterizadas. Todas las muestras correspondían a pacientes con antecedentes de borreliosis. Algunos de los síntomas fueron exposición a las garrapatas, presencia de EM, mialgia, artralgia, fiebre, cefalea y rigidez de nuca.

Tabla 2: Muestras caracterizadas. Resumen de los resultados de los análisis comparativos

Diagnóstico clínico	Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM				Dispositivo comparable Multi-Lyte® de AtheNA VlsE1/pepC10 frente a <i>Borrelia</i>				Inmunoelctrotransferencia (IgG o IgM)			
	+	-	Total	Concordancia con el diagnóstico clínico	+	-	Total	Concordancia con el diagnóstico clínico	+	-	Total	Concordancia con el diagnóstico clínico
Localizado agudo	68	8	76	89,5 % (68/76)	67	9	76	88,2 % (67/76)	54	22	76	71,1 % (54/76)
IC del 95 %				80,5 - 95,3 %				78,7 - 94,4 %				59,5 - 80,9
Diseminación inicial	3	0	3	100 % (3/3)	3	0	3	100 % (3/3)	3	0	3	100 % (3/3)
IC del 95 %				36,8 - 100 %				36,8 - 100 %				36,8 - 100 %
Diseminación tardía	21	0	21	100 % (21/21)	21	0	21	100 % (21/21)	20	1	21	95,2 % (20/21)

IC del 95 %				86,7 - 100 %				86,7 - 100 %				76,2 - 99,9 %
Total	92	8	100	92,0 % (92/100)	91	9	100	91,0 % (91/100)	77	23	100	77,0 % (77/100)
				84,8 - 96,5 %				83,6 - 95,8 %				67,5 - 84,8 %

NOTA 1: 7/8 muestras que dieron negativo mediante el ZEUS ELISA también dieron negativo mediante inmunoelectrotransferencia.

NOTA 2: 21/23 muestras que dieron negativo mediante inmunoelectrotransferencia contenían bandas, pero no reunían los criterios para arrojar un resultado positivo.

b. Población de muestras recogida de forma prospectiva (775 muestras):

Se analizaron 300 muestras recogidas de forma prospectiva de pacientes para quienes se había solicitado un análisis de anticuerpos frente a la enfermedad de Lyme. Dichas muestras se enviaron para el análisis de anticuerpos frente a la enfermedad de Lyme; a continuación, se enumeraron, se anonimizaron y se archivaron. Tras la recogida, el primer centro, el laboratorio del fabricante, analizó las 100 muestras recogidas en Nueva York. El segundo centro, el laboratorio de un hospital del noreste de los EE. UU., analizó las 100 muestras recogidas en California. El tercer centro, un laboratorio de referencia del noreste de los EE. UU., analizó las 100 muestras recogidas en Pensilvania. Las muestras del primer, segundo y tercer centros conforman el estudio prospectivo I. El primer centro analizó 475 muestras prospectivas adicionales y comparó los resultados con los obtenidos mediante el dispositivo comparable. Estas muestras conforman el estudio prospectivo II.

Tabla 3: Muestras del estudio prospectivo I		Dispositivo comparable: VlsE1/pepC10 frente a <i>Borrelia</i> Multi-Lyte® de Athena				
		Positivo	Negativo	Total	VPP o VPN	IC del 95 %
Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM	Positivo	2	1	3	22,2 % (2/9)	2,8 - 60,0 %
	Dudoso	0	1	1		
	Negativo	7	289	296	99,3 % (289/291)	97,5 - 99,9 %
	Total	9	291	300		

Tabla 4: Análisis confirmatorio del estudio prospectivo I: se realizó un análisis por inmunoelectrotransferencia de las muestras positivas o dudosas de acuerdo con el dispositivo de prueba y el dispositivo comparable. Se obtuvieron los siguientes resultados:

	Resultados	Tamaño de la muestra (n)	Inmunoelectrotransferencia (IgG o IgM)	
			Positivo	Negativo
Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG-IgM	Positivo	3	2	1
	Dudoso	1	0	1
Dispositivo comparable	Positivo	9	1	8

Tabla 5: Muestras del estudio prospectivo II

Tabla 5: Muestras del estudio prospectivo II		Dispositivo comparable: VlsE1/pepC10 frente a <i>Borrelia</i> Multi-Lyte® de Athena				
		Positivo	Negativo	Total	VPP o VPN	IC del 95 %
Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM	Positivo	40	20	60	93,0 % (40/43)	80,9 - 98,6 %
	Dudoso	2	0	2		
	Negativo	1	412	413	95,3 % (412/432)	92,4 - 96,8 %
	Total del centro	43	432	475		

Tabla 6: Análisis confirmatorio del estudio prospectivo II: se realizó un análisis por inmunoelectrotransferencia de las muestras positivas o dudosas de acuerdo con el dispositivo de prueba y el dispositivo comparable. Se obtuvieron los siguientes resultados:

	Resultados	Tamaño de la muestra (n)	Inmunoelectrotransferencia (IgG o IgM)	
			Positivo	Negativo
Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM	Positivo	60	36	24
	Dudoso	2	2	0
Dispositivo comparable	Positivo	43	30	13

c. Conjunto de muestras de enfermedad de Lyme caracterizadas de los CDC (39 muestras):

Se obtuvieron 42 muestras con distinta reactividad de los CDC, que se evaluaron de forma interna en el laboratorio del fabricante. Tres de las muestras eran insuficientes o estaban deterioradas, por lo que se excluyeron de los cálculos. De las 39 muestras restantes, cuatro correspondían a donantes de sangre normal y las 35 restantes correspondían a pacientes con diagnóstico de borreliosis. El

objetivo de la presentación de los resultados de los análisis es ofrecer información adicional sobre la eficacia del análisis con un grupo de sueros caracterizado y enmascarado. Esto no significa que los CDC respalden este análisis.

Tabla 7: Conjunto de muestras de enfermedad de Lyme caracterizadas de los CDC. Resumen de los resultados de los análisis comparativos

Tiempo desde la aparición	Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM				Dispositivo VlsE1/pepC10 frente a Borrelia Multi-Lyte® de AtheNA				Inmunoelctrotransferencia (IgG o IgM)			
	+	-	Total	Concordancia con el diagnóstico clínico	+	-	Total	Concordancia con el diagnóstico clínico	+	-	Total	Concordancia con el diagnóstico clínico
Valor de referencia	0	4	4	100 % (4/4)	0	4	4	100 % (4/4)	0	4	4	100 % (4/4)
< 1 mes	5	1	6	83,3 % (5/6)	6	0	6	100 % (6/6)	4	2	6	66,7 % (4/6)
1 - 2 meses	5	1	6	83,3 % (5/6)	6	0	6	100 % (6/6)	5	1	6	83,3 % (5/6)
3 - 12 meses	9	7	16	56,3 % (9/16)	13	3	16	81,3 % (13/16)	11	5	16	68,8 % (11/16)
1 - 5 años	4	0	4	100 % (4/4)	1	3	4	25,0 % (1/4)	4	0	4	100 % (4/4)
> 10 años	3	0	3	100 % (3/3)	1	2	3	33,3 % (1/3)	3	0	3	100 % (3/3)
Total	26	13	39	74,3 % (26/35)	27	12	39	77,1 % (27/35)	27	12	39	77,1 % (27/35)

d. **Especificidad analítica:**

Para los análisis de la población de muestras normales se utilizaron 200 muestras de sujetos expuestos a análisis de rutina de naturaleza no infecciosa de la zona endémica de Nueva Jersey y 200 muestras de sujetos expuestos a análisis de rutina de naturaleza no infecciosa de la zona no endémica de Nuevo México.

Tabla 8: Especificidad analítica

Tipo de muestra	Tamaño de la muestra (n)	Negativo	Dudoso	Positivo	Positividad*
Endémica	200	189	1	10	5,0 %
No endémica	200	197	0	3	1,5 %

*De acuerdo con el dispositivo comparable, se detectaron los siguientes resultados positivos: zonas endémicas = 4,2 %; zonas no endémicas = 1,5 %.

e. **Precisión y reproducibilidad:**

Se hicieron dos estudios independientes de evaluación de la reproducibilidad: uno fue un estudio de reproducibilidad de cinco días en tres centros y el otro fue un estudio de repetibilidad monocéntrico de 20 días. Estos estudios se llevaron a cabo del siguiente modo: ZEUS Scientific identificó y preparó 12 muestras para utilizarlas en los dos estudios antedichos en función de su actividad con respecto al sistema de análisis de IgG/IgM para VlsE1/pepC10 frente a *Borrelia*. Las muestras seleccionadas fueron:

- Negativas:** una muestra carente del analito; los resultados del segundo análisis de la muestra fueron negativos el 100 % del tiempo.
- Bastante negativas** (concentración C5): una muestra con una concentración del analito inferior al valor de corte clínico; los resultados del segundo análisis de la muestra fueron negativos aproximadamente el 95 % del tiempo.
- Bastante positivas** (concentración C95): una muestra con una concentración del analito superior al valor de corte clínico; los resultados del segundo análisis de la muestra fueron positivos aproximadamente el 95 % del tiempo.
- Muy positivas:** una muestra con una concentración tal del analito que los resultados del segundo análisis de la muestra fueron positivos el 100 % del tiempo.

Se evaluó la reproducibilidad del análisis en tres centros clínicos externos. Para evaluar la reproducibilidad, se diluyeron dos veces las muestras el mismo día del análisis; a continuación, se analizaron dichas diluciones por triplicado. Dos técnicos distintos hicieron todo esto dos veces al día durante cinco días. Los resultados del estudio de reproducibilidad se recogen en la tabla 9. Se evaluó la repetibilidad del análisis en el laboratorio del fabricante. Los días de los análisis, las muestras se diluyeron dos veces y se analizaron. Otro técnico repitió el proceso en un segundo desarrollo durante 20 días. Los resultados del estudio de repetibilidad se recogen en la tabla 10.

Tabla 9: Resultados del estudio de reproducibilidad

Componente del grupo	Muestra Tamaño (n)	Media VI	Intradesarrollo		Intradía		Entre desarrollos		Entre centros		Total	
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)

Muestra 1	Moderada +	180	2,33	0,12	5,0	0,14	6,0	0,09	4,0	0,15	6,3	0,15	6,5
Muestra 2	Moderada +	180	2,23	0,16	6,9	0,18	8,2	0,10	4,6	0,19	8,6	0,19	8,6
Muestra 3	Moderada +	180	2,56	0,14	5,3	0,17	6,4	0,11	4,3	0,19	7,3	0,19	7,4
Muestra 4	Baja +	180	1,29	0,09	6,7	0,11	8,4	0,07	5,7	0,11	8,6	0,11	8,7
Muestra 5	Baja +	180	1,35	0,09	6,5	0,11	8,2	0,08	6,2	0,11	8,4	0,12	8,7
Muestra 6	Baja +	180	1,36	0,09	6,6	0,11	8,2	0,08	6,1	0,12	8,7	0,12	8,9
Muestra 7	Alta -	180	0,74	0,05	6,6	0,06	7,8	0,04	4,9	0,06	8,1	0,06	8,1
Muestra 8	Alta	180	0,61	0,05	7,6	0,05	9,0	0,04	5,8	0,05	9,0	0,06	9,1
Muestra 9	Alta	180	0,60	0,04	7,5	0,06	9,3	0,04	6,2	0,06	9,6	0,06	10,2
Muestra 10	Negativa	180	0,25	0,03	11,5	0,04	14,6	0,03	10,1	0,04	15,2	0,04	15,8
Muestra 11	Negativa	180	0,40	0,03	6,8	0,03	8,3	0,02	5,8	0,04	9,1	0,04	10,5
Muestra 12	Negativo	180	0,30	0,02	7,7	0,03	9,7	0,02	7,4	0,03	10,3	0,03	10,9
Control	Negativo	180	0,16	0,01	7,9	0,02	10,7	0,01	8,7	0,02	11,5	0,02	11,7
Calibrador	Positivo	180	2,34	0,12	5,3	0,13	5,5	0,03	1,4	0,13	5,6	0,13	5,6
Control	Positivo	180	4,23	0,26	6,0	0,28	6,6	0,12	2,8	0,34	8,0	0,34	8,1

Tabla 10: Resultados del estudio de repetibilidad

Componente del grupo		Muestra Tamaño (n)	Mediana VI	Mismo desarrollo		Mismo día		Entre desarrollos		Total	
				DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Muestra 1	Moderada +	80	2,34	0,09	4,1	0,18	7,5	0,17	7,3	0,22	9,3
Muestra 2	Moderada +	80	2,38	0,10	4,2	0,17	7,0	0,16	6,8	0,22	9,3
Muestra 3	Moderada +	80	2,28	0,09	4,1	0,17	7,4	0,16	7,0	0,22	9,5
Muestra 4	Baja +	80	1,32	0,07	5,2	0,12	8,9	0,11	8,3	0,13	9,5
Muestra 5	Baja +	80	1,38	0,07	5,4	0,10	7,1	0,07	5,3	0,13	9,1
Muestra 6	Baja +	80	1,32	0,08	5,8	0,11	8,1	0,08	6,1	0,12	9,3
Muestra 7	Alta -	80	0,72	0,04	5,2	0,05	7,2	0,04	5,7	0,08	10,9
Muestra 8	Alta	80	0,65	0,03	4,2	0,05	7,3	0,04	6,8	0,08	12,3
Muestra 9	Alta	80	0,61	0,05	7,3	0,07	11,0	0,06	9,2	0,09	14,5
Muestra 10	Negativa	80	0,26	0,02	7,2	0,03	13,4	0,03	13,1	0,05	18,7
Muestra 11	Negativa	80	0,42	0,02	3,8	0,03	6,4	0,02	6,1	0,06	13,2
Muestra 12	Negativo	80	0,32	0,03	7,9	0,04	11,5	0,03	8,7	0,06	20,0
Control	Negativo	80	0,18	0,02	11,6	0,03	14,9	0,02	10,0	0,03	18,0
Calibrador	Positivo	80	2,34	0,19	7,9	0,20	8,5	0,09	4,0	0,23	9,8
Control	Positivo	80	4,41	0,15	3,4	0,31	6,9	0,31	6,9	0,34	7,7

f. Reactividad cruzada:

Se llevó a cabo un estudio de evaluación de la reactividad cruzada con el Anti-Borreliia VisE1-pepC10 IgG/IgM usando sueros seropositivos para IgG de VCA del VEB, ANA, sífilis, IgG del CMV, IgM frente al CMV, IgG de la rubéola, IgM frente al VVZ, IgG

toxoplasmático y FR. Para determinar la seropositividad de las muestras, se utilizaron sistemas de inmunoanálisis por micropartículas y ELISA comerciales de distintas empresas. Además, se adquirieron las muestras necesarias de pacientes con AR, parvovirus, fibromialgia, esclerosis múltiple e infección por H. pylori. Se analizaron 10 muestras de cada sustancia con posibilidad de reactividad cruzada. La tabla II recoge los datos sobre reactividad cruzada. En total, se analizaron 140 muestras con posibilidad de reactividad cruzada con 14 analitos. De las 140 muestras, tres dieron positivo. Los análisis mediante inmunoelectrotransferencia revelaron que una de las muestras positivas para H. pylori fue positiva de acuerdo con la inmunoelectrotransferencia (IgM débiles) y que la otra fue negativa. La muestra que dio positivo para el parvovirus dio negativo en el análisis por inmunoelectrotransferencia. Se observó cierta actividad frente a Borrelia, pero 2/3 muestras no reunieron los criterios confirmatorios de positividad.

Tabla II: Resultados del estudio de reactividad cruzada

Sustancias con posibilidad de reacción cruzada	Resultados positivos/Número analizado
IgG de VCA del VEB	0/10
ANA	0/10
Sífilis	0/10
IgG del CMV	0/10
IgM del CMV	0/10
IgG de la rubéola	0/10
IgG toxoplasmático	0/10
IgM frente al VVZ	0/10
FR	0/10
AR	0/10
Parvovirus	0/10
Fibromialgia	0/10
Esclerosis múltiple	0/10
H. pylori	2/10

g. Sustancias interferentes:

Se determinó la repercusión de las sustancias posiblemente interferentes mediante el dispositivo en fase de investigación y usando muestras de albúmina, bilirrubina, colesterol, hemoglobina, triglicéridos e intralípidos. La cantidad de analito de cada sustancia posiblemente interferente es la siguiente:

- Bilirrubina: 1 mg/dl (inferior), 15 mg/dl (superior)
- Albúmina: 3,5 g/dl (inferior), 5 g/dl (superior)
- Colesterol: 150 mg/dl (inferior), 250 mg/dl (superior)
- Triglicéridos: 150 mg/dl (inferior), 500 mg/dl (superior)
- Hemoglobina: 10 g/dl (inferior), 20 g/dl (superior)
- Intralípidos: 300 mg/dl (inferior), 750 mg/dl (superior)

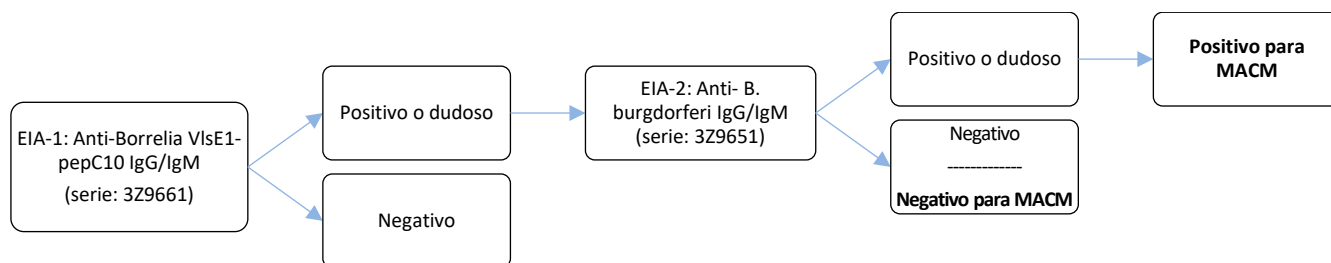
Se seleccionaron tres muestras en función de su rendimiento en el Anti-Borrelia VIsE1-pepC10 IgG/IgM: positiva, dudosa y negativa. Se expuso a dichas muestras a las sustancias posiblemente interferentes y se analizaron. Todas las muestras positivas presentaron un cambio de señal < 15 %. Todas las muestras dudosas presentaron un cambio de señal inferior al 15 %, excepto las muestras con picos bajos y altos de hemoglobina, que presentaron una disminución de la señal superior al 15 % (16,5 % y 17,3 %, respectivamente). Todas las muestras negativas presentaron un cambio de señal inferior al 15 %, excepto una muestra con un pico bajo de hemoglobina, que presentó una disminución de la señal del 22,2 %.

2. Eficacia diagnóstica del MACM (2-EIA)

Se llevaron a cabo los siguientes estudios con el fin de determinar la eficacia diagnóstica del Anti-Borrelia VIsE1-pepC10 IgG/IgM como análisis inicial del método de análisis confirmatorio modificado (MACM) o el protocolo 2-EIA.

- a. **Comparación del método MACM-IgG/IgM:** Se usó el Anti-Borrelia VIsE1-pepC10 IgG/IgM como análisis inicial en un protocolo MACM, según se indica en el siguiente diagrama de flujo. El EIA que se usó como análisis confirmatorio fue el Anti- B. burgdorferi IgG/IgM. Se evaluó la eficacia del MACM-IgG/IgM frente a la del MACE a través de dos cohortes independientes: una cohorte retrospectiva y una cohorte prospectiva.

Diagrama de flujo: protocolo del MACM IgG/IgM



Análisis de la cohorte retrospectiva: La cohorte retrospectiva, conformada por 356 muestras, estuvo compuesta por las 280 muestras del grupo de muestras de los CDC, que se completaron con 46 muestras adicionales de enfermedad de Lyme (EL) de estadio II y 30 muestras adicionales de EL de estadio III. Por lo tanto, el grupo retrospectivo estuvo compuesto por 166 muestras de EL (60 en fase I, 56 de estadio II y 50 de estadio III), 90 muestras de enfermedades distintas de la EL y 100 muestras de voluntarios sanos (50 endémicas y 50 no endémicas).

Para empezar, se analizaron las 356 muestras retrospectivas con el sistema de análisis inicial, el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Hubo 160 resultados positivos y 6 resultados dudosos. De acuerdo con el protocolo MACE, las muestras que arrojaron resultados positivos y dudosos ($n = 166$) se analizaron mediante inmunoelectrotransferencia de IgG o IgM frente a *B. burgdorferi*. De acuerdo con el protocolo MACM-IgG/IgM, estas muestras ($n = 166$) se analizaron usando un EIA confirmatorio: el Anti- *B. burgdorferi* IgG/IgM. Se consideró que los resultados tanto dudosos como positivos del EIA confirmatorio eran positivos. Se sumaron los resultados dudosos a los positivos y se comparó el resultado con los resultados positivos del protocolo MACE. La tabla 12 recoge los resultados del protocolo MACM-IgG/IgM frente a los del MACE-IgM.

Tabla 12: Comparación de los resultados de los protocolos MACM-IgG/IgM y MACE (IgG o IgM) para la cohorte retrospectiva

	Estadio I (n = 60)		Estadio II (n = 56)		Estadio III (n = 50)		Voluntarios sanos (n = 100)		Voluntarios enfermos (n = 90)	
	MACE-IgG/IgM	MACM-IgG/IgM	MACE-IgG/IgM	MACM-IgG/IgM	MACE-IgG/IgM	MACM-IgG/IgM	MACE-IgG/IgM	MACM-IgG/IgM	MACE-IgG/IgM	MACM-IgG/IgM
Positivo	38	47	34	37	50	50	0	0	0	2
Negativo	22	13	22	19	0	0	100	100	90	88
Sensibilidad o VPP	63,3 %	78,3 %	60,7 %	66,1 %	100 %	100 %	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.
Especificidad o VPN	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	100 %	100 %	100 %	97,8 %

Análisis de la cohorte prospectiva: Se utilizó una cohorte prospectiva de muestras de suero, que se envió a un laboratorio para que se realizara un análisis serológico de *Borrelia*. Dichas muestras se recogieron en tres localizaciones distintas de los EE. UU., todas ellas situadas en zonas endémicas para la EL. Dos de las tres localizaciones (Massachusetts y Minnesota) recogieron las muestras y realizaron los análisis correspondientes mediante ELISA. Una de las localizaciones (Wisconsin) recogió las muestras y las envió al fabricante para que este realizara los análisis correspondientes mediante ELISA. La tabla 13 indica cuáles son las tres localizaciones y el número correspondiente de muestras.

Tabla 13: Resumen de la cohorte prospectiva de muestras

Localización geográfica	Tamaño de la muestra (n)
Massachusetts	900
Wisconsin	990
Minnesota	1042
Total	2932

Para empezar, se analizaron las 2932 muestras prospectivas con el sistema de análisis inicial, el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Hubo 363 resultados positivos y 58 resultados dudosos. De acuerdo con el protocolo MACE, las muestras que arrojaron resultados positivos y dudosos ($n = 421$) se analizaron mediante inmunoelectrotransferencia de IgM o IgG frente a *B. burgdorferi*. De acuerdo con el protocolo MACE-IgG/IgM, estas muestras ($n = 421$) se analizaron usando un análisis ELISA confirmatorio: Anti- *B. burgdorferi* IgG/IgM. Se consideró que los resultados tanto dudosos como positivos del EIA confirmatorio eran positivos. Se sumaron los resultados dudosos a los positivos y se comparó el resultado con los resultados positivos del protocolo MACE. La tabla 14 recoge un resumen de los resultados del MACE frente a los del MACM-IgG/IgM:

Tabla 14: MACE-IgG/IgM frente a MACM (IgM o IgG) en la cohorte prospectiva

	MACE (IgG o IgM)		
	Positivo	Negativo	Total

MACM-IgG/IgM	Positivo	167	63**	230
	Negativo	12*	2690	2702
	Total	179	2753	2932

Concordancia positiva: 93,3 % (167/179) IC del 95 %: 88,6 - 91,6 %

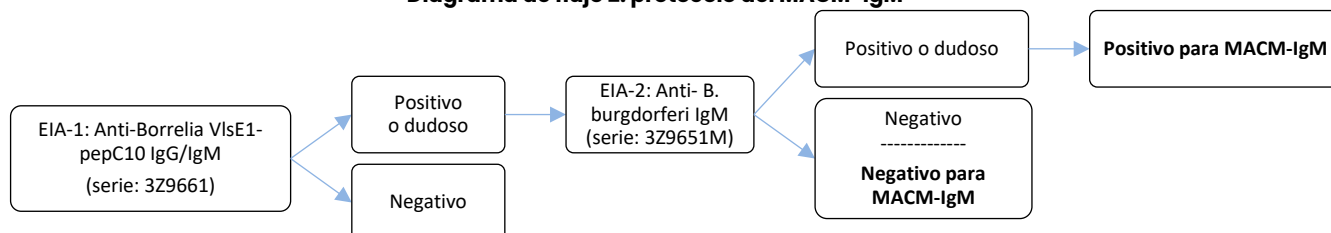
Concordancia negativa: 97,7 % (2690/2753) IC del 95 %: 97,1 - 98,2 %

*De las 12 muestras positivas para el MACE/negativas para el MACM, se confirmó que una de las 12 correspondía a la enfermedad de Lyme de estadio I. Una muestra no presentó información clínica y las 10 restantes no presentaron información clínica congruente con la enfermedad de Lyme.

**De las 63 muestras positivas para el MACM/negativas para el MACE, se confirmó que cuatro muestras correspondían a la enfermedad de Lyme (tres de estadio I y una en fase terminal). Treinta y dos muestras no presentaron información clínica y las 27 muestras restantes no presentaron información clínica congruente con la enfermedad de Lyme.

- b. **Comparación del método MACM-IgM:** El Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM se utilizó como análisis inicial en un protocolo MACM, según se indica en el siguiente diagrama de flujo. El EIA que se usó como análisis confirmatorio fue el Anti- B. burgdorferi IgM. Se evaluó la eficacia del MACM-IgM frente a la del MACE por medio de dos cohortes independientes: una cohorte retrospectiva y una cohorte prospectiva.

Diagrama de flujo 2: protocolo del MACM-IgM



Análisis de la cohorte retrospectiva: La cohorte retrospectiva, conformada por 356 muestras, estuvo compuesta por las 280 muestras del grupo de muestras de los CDC, que se completaron con 46 muestras adicionales de enfermedad de Lyme (EL) de estadio II y 30 muestras adicionales de EL de estadio III. Por lo tanto, el grupo retrospectivo estuvo compuesto por 166 muestras de EL (60 de estadio I, 56 de estadio II y 50 de estadio III), 90 muestras de enfermedades distintas de la EL y 100 muestras de voluntarios sanos (50 endémicas y 50 no endémicas).

Para empezar, se analizaron las 356 muestras retrospectivas con el sistema de análisis inicial, el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Hubo 160 resultados positivos y 6 resultados dudosos. De acuerdo con el protocolo MACE, las muestras que arrojaron resultados positivos y dudosos (n = 166) se analizaron mediante inmunoelectrotransferencia de IgM frente a B. burgdorferi. De acuerdo con el protocolo MACM-IgM, estas muestras (n = 166) se analizaron usando un EIA confirmatorio: el Anti- B. burgdorferi IgM. Se consideró que los resultados tanto dudosos como positivos del EIA confirmatorio eran positivos. Se sumaron los resultados dudosos a los positivos y se comparó el resultado con los resultados positivos del protocolo MACE. La tabla 15 recoge los resultados del protocolo MACM-IgM frente a los del MACE-IgM.

Tabla 15: Comparación de los resultados de los protocolos MACM-IgM y MACE-IgM para la cohorte retrospectiva

	Estadio I (n = 60)		Estadio II (n = 56)		Fase III (n = 50)		Voluntarios sanos (n = 100)		Voluntarios enfermos (n = 90)	
	MACE-IgM	MACM-IgM	MACE-IgM	MACM-IgM	MACE-IgM	MACM-IgM	MACE-IgM	MACM-IgM	MACE-IgM	MACM-IgM
Positivo	28	46	28	42	8	36	0	0	0	2
Negativo	32	14	28	14	42	14	100	100	90	88
Sensibilidad o VPP	46,7 %	76,7 %	50,0 %	75,0 %	16,0 %	72,0 %	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.
Especificidad o VPN	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	100 %	100 %	100 %	97,8 %

Análisis de la cohorte prospectiva: Se utilizó una cohorte prospectiva de muestras de suero, que se envió a un laboratorio para que se realizara un análisis serológico de *Borrelia*. Dichas muestras se recogieron en tres localizaciones distintas de los EE. UU., todas ellas situadas en zonas endémicas para la EL. La tabla 13 indica cuáles son las tres localizaciones y el número correspondiente de muestras.

Para empezar, se analizaron las 2932 muestras prospectivas con el sistema de análisis inicial, el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Hubo 363 resultados positivos y 58 resultados dudosos. De acuerdo con el protocolo MACE, las muestras que arrojaron resultados positivos y dudosos (n = 421) se analizaron mediante inmunoelectrotransferencia de IgM frente a B. burgdorferi. De acuerdo con el protocolo MACM-IgM, estas muestras (n = 421) se analizaron usando un análisis ELISA

confirmatorio: el Anti- B. burgdorferi IgM. Se consideró que los resultados tanto dudosos como positivos del EIA confirmatorio eran positivos. Se sumaron los resultados dudosos a los positivos y se comparó el resultado con los resultados positivos del protocolo MACE (IgM). La tabla 16 recoge un resumen de los resultados del MACE (IgM) frente a los del MACM-IgM:

Tabla 16: MACE-IgM frente a MACM-IgM en la cohorte prospectiva

		MACE-IgM		
		Positivo	Negativo	Total
MACM-IgM	Positivo	101	126**	227
	Negativo	4*	2701	2705
	Total	105	2872	2932

Concordancia positiva: 96,2 % (101/105) IC del 95 %: 90,6 - 98,5 %

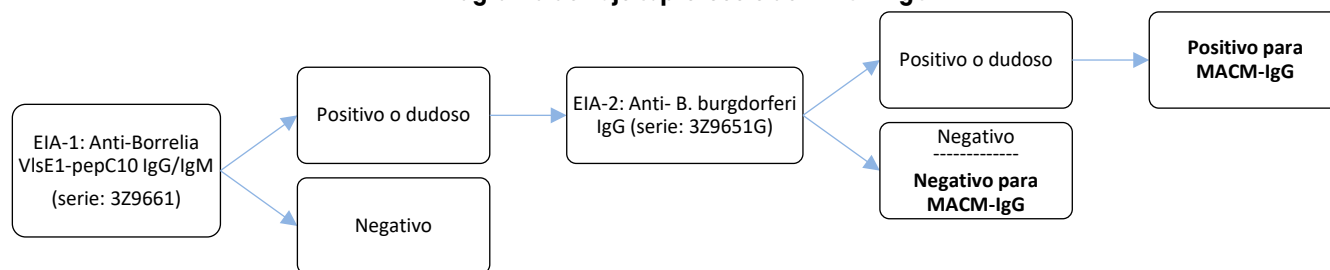
Concordancia negativa: 95,5 % (2701/2827) IC del 95 %: 94,7 - 96,2 %

*De las cuatro muestras positivas para el MACE-IgM y negativas para el MACM-IgM, tres no presentaron información clínica congruente con la enfermedad de Lyme y una no presentó información clínica.

**De las 126 muestras positivas para el MACM-IgM y negativas para el MACE-IgM, 28 no presentaron información clínica congruente con la enfermedad de Lyme, dos presentaron signos clínicos de infección previa, cinco presentaron datos clínicos congruentes con la EL de fase I y 91 no presentaron información clínica.

- c. Comparación del método MACM-IgG:** El Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM se utilizó como análisis inicial en un protocolo MACM, según se indica en el siguiente diagrama de flujo. El EIA que se usó como análisis confirmatorio fue el Anti- B. burgdorferi IgG. Se evaluó la eficacia del MACM-IgG frente a la del MACE por medio de dos cohortes independientes: una cohorte retrospectiva y una cohorte prospectiva.

Diagrama de flujo 3: protocolo del MACM-IgG



Análisis de la cohorte retrospectiva: La cohorte retrospectiva, conformada por 356 muestras, estuvo compuesta por las 280 muestras del grupo de muestras de los CDC, que se completaron con 46 muestras adicionales de enfermedad de Lyme (EL) de estadio II y 30 muestras adicionales de EL de estadio III. Por lo tanto, el grupo retrospectivo estuvo compuesto por 166 muestras de EL (60 de estadio I, 56 de estadio II y 50 de estadio III), 90 muestras de enfermedades distintas de la EL y 100 muestras de voluntarios sanos (50 endémicas y 50 no endémicas).

Para empezar, se analizaron las 356 muestras retrospectivas con el sistema de análisis inicial, el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Hubo 160 resultados positivos y 6 resultados dudosos. De acuerdo con el protocolo MACE-IgG, las muestras que arrojaron resultados positivos y dudosos (n = 166) se analizaron mediante inmunoelectrotransferencia de IgG frente a B. burgdorferi. De acuerdo con el protocolo MACM-IgG, estas muestras (n = 166) se analizaron usando un EIA confirmatorio: Anti- B. burgdorferi IgG. Se consideró que los resultados tanto dudosos como positivos del EIA confirmatorio eran positivos. Se sumaron los resultados dudosos a los positivos y se comparó el resultado con los resultados positivos del protocolo MACE. La tabla 17 recoge los resultados del protocolo MACM-IgG frente a los del MACE-IgG.

Tabla 17: Comparación de los resultados de los protocolos MACM-IgG y MACE-IgG para la cohorte retrospectiva

	Estadio I (n = 60)		Estadio II (n = 56)		Estadio III (n = 50)		Voluntarios sanos (n = 100)		Voluntarios enfermos (n = 90)	
	MACE: IgG	MACM: IgG	MACE: IgG	MACM: IgG	MACE: IgG	MACM: IgG	MACE: IgG	MACM: IgG	MACE: IgG	MACM: IgG
Positivo	19	36	24	35	50	50	0	0	0	0
Negativo	41	24	32	21	0	0	100	100	90	90
Sensibilidad o VPP	31,7 %	60,0 %	42,9 %	62,5 %	100 %	100 %	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.
Especificidad o VPN	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	N. P.	100 %	100 %	100 %	100 %

Análisis de la cohorte prospectiva: Se utilizó una cohorte prospectiva de muestras de suero, que se envió a un laboratorio para que se realizara un análisis serológico de Borrelia. Dichas muestras se recogieron en tres localizaciones distintas de los EE. UU., todas ellas situadas en zonas endémicas para la EL. La tabla 13 indica cuáles son las tres localizaciones y el número correspondiente de muestras.

Para empezar, se analizaron las 2932 muestras prospectivas con el sistema de análisis inicial, el Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Hubo 363 resultados positivos y 58 resultados dudosos. De acuerdo con el protocolo MACE, las muestras que arrojaron resultados positivos y dudosos (n = 421) se analizaron mediante inmunoelectrotransferencia de IgG frente a B. burgdorferi. De acuerdo con el protocolo MACC-IgG, estas muestras (n = 421) se analizaron usando un análisis ELISA confirmatorio: el Anti- B. burgdorferi IgG. Se consideró que los resultados tanto dudosos como positivos del EIA confirmatorio eran positivos. Se sumaron los resultados dudosos a los positivos y se comparó el resultado con los resultados positivos del protocolo MACE (IgG). La tabla 18 recoge un resumen de los resultados del MACE-IgG frente a los del MACM-IgG:

Tabla 18: MACE-IgG frente a MACM-IgG en la cohorte prospectiva

		MACE (IgG)		
		Positivo	Negativo	Total
MACM: IgG	Positivo	115	77**	192
	Negativo	10*	2730	2740
	Total	125	2807	2932

Concordancia positiva: 92,0 % (115/125) IC del 95 %: 85,9 - 95,6 %

Concordancia negativa: 97,3 % (2730/2807) IC del 95 %: 96,6 - 97,8 %

*De las 10 muestras positivas para el MACE-IgG y negativas para el MACM-IgG, cinco no presentaron información clínica congruente con la enfermedad de Lyme, una presentó signos clínicos de infección previa, tres presentaron datos clínicos congruentes con la EL de fase I y una no presentó información clínica.










*De las 10 muestras positivas para el MACM-IgG y negativas para el MACE-IgG, 24 no presentaron información clínica congruente con la enfermedad de Lyme, tres presentaron signos clínicos de infección previa, dos presentaron datos clínicos congruentes con la EL de fase I y 48 no presentaron información clínica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Steere AC, Taylor E, Willson ML, Levine JF, Spielman A. Longitudinal assessment of the clinical and epidemiological features of Lyme Disease in a defined population. *J Infect Dis* **1986**; 154:295-300.
2. Rosenfeld ME, Nowakowski J, McKenna DF, Carbonaro CA, Wormser GP. Serodiagnosis in early Lyme disease. *J Clin Microbiol* **1993**; 31:3090-3095
3. Steere AC, Grodzicki RL, Komblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorfer W, Schmid GP, Johnson E, Malawista SE. The spirochetal etiology of Lyme disease. *N Engl J Med* **1983**;308:733-740.
4. Bakken LL, Callister SM, Wand PJ, and Schell RF. Interlaboratory Comparison of Test Results for Detection of Lyme Disease by 516 Patients in the Wisconsin State Laboratory of Hygiene/College of American Pathologists Proficiency Testing Program. *J. Clin. Microbiol.* **1997**;35:537-543.
5. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens. Final Rule. Register 56:64175-64182, 1991.
6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Second Edition; Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
7. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990. Approved Guideline 1990.
8. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.
9. Branda JA, Linskey K, Kim YA, Steere AC, Ferrano MJ. Two-Tiered Antibody Testing for Lyme Disease With Use of 2 Enzyme Immunoassays, a Whole-Cell Sonicate Enzyme Immunoassay Followed by a VlsE C6 Peptide Enzyme Immunoassay. *Clin Infect Dis* **2011**; 53:541-547.
10. Mollins CR, Delorey MJ, Sexton C, Schriefer ME. Lyme Boreliosis Serology: Performance of Several Commonly Used Laboratory Diagnostic Tests and a Large Resource Panel of Well Characterized Patient Specimens. *J Clin Microbiol* **2016**; 54:2726-2734.
11. Branda JA, *et al.* Advances in Serodiagnostic Testing for Lyme Disease Are at Hand. *Clin Infect Dis* **2018** Mar 19;66(7):1133-1139

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos pueden haber sido utilizados en el etiquetado de este producto.

Símbolo	Descripción	Símbolo	Descripción
	Fabricante		Mantener alejado de la luz solar
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	PLATE	Placa
REF	Número de catálogo	CONJ	Conjugado
Σ_n	Suficiente para n pruebas	CTRL +	Control positivo
LOT	Código de lote	CTRL -	Control negativo
	Usar antes de	CAL	Calibrador
	Limitaciones de temperatura de almacenamiento	DIL SPE	Diluyente de la muestra
CONT	Contenido	SOLN TMB	TMB
UDI	Identificador único de dispositivo	SOLN STOP	Solución de detención
	Consulte las advertencias y precauciones	WASH 10X	Solución amortiguadora de lavado (10X)
	Consulte las instrucciones electrónicas de uso	ES	Español
	Guardar en posición vertical	Made in the USA	Fabricado en EE. UU.
RX Only	Aplicable en Estados Unidos: Producto de diagnóstico in vitro de prescripción		Corrosivo
	Comunicación de riesgos	EC REP	Representante autorizado de la Comisión Europea
CE	Conformidad con la Directiva 98/79		



ZEUS Scientific

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA

Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2

International: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Website: www.zeusscientific.com

EC **REP**

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

Para atención al cliente en EE. UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Para soporte técnico en EE. UU., póngase en contacto con ZEUS Scientific, llame al número gratuito o envíe un correo electrónico a support@zeusscientific.com.

Para consultas de atención al cliente y soporte técnico fuera de EE. UU., póngase en contacto con su filial o distribuidor autorizado de Sebia.

©2025 ZEUS Scientific. Todos los derechos reservados.