

**Borrelia-IgG-ELISA medac**

Deutsch



**HERSTELLER**

**medac**

Gesellschaft für klinische  
Spezialpräparate mbH  
Fehlandtstraße 3  
D-20354 Hamburg

**VERTRIEB**

**medac**

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

Tel. ++49 / 4103 / 80 06-351  
Fax: ++49 / 4103 / 80 06-359

**BESTELLADRESSE**

Tel. ++49 / 4103 / 80 06-111  
Fax: ++49 / 4103 / 80 06-113

## **Borrelia-IgG-ELISA medac**

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Borrelia-IgG-Antikörpern in Serum und Liquor

Katalog-Nr.: 202

ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK

### **EINFÜHRUNG**

Die Lyme Borreliose ist die häufigste durch Zecken übertragene Erkrankung der nördlichen Hemisphäre. Es handelt sich hierbei um eine multisystemische Erkrankung mit unterschiedlicher Symptomatik, in Abhängigkeit vom Stadium der Erkrankung und von den betroffenen Organen (Haut, Nervensystem, Gelenke).

Als Krankheitserreger wurden in Europa im wesentlichen drei Spezies des zu den Spirochäten gehörenden Bakteriums *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*) beschrieben. Die Übertragung der Erreger erfolgt durch den Biss infizierter Zecken.

Die Lyme Borreliose wird in erster Linie klinisch diagnostiziert. Kriterien wie gesicherter Zeckenkontakt und Symptomatik sind entscheidende Faktoren für die Interpretation von Laborergebnissen. Für die Absicherung der Diagnose wird eine serologische Stufen-diagnostik empfohlen. Als erster Schritt (Screening-Methode) erfolgt die Bestimmung von IgM- und IgG-Antikörpern mit Enzymimmunoassays, die eine hohe Sensitivität und Spezifität haben sollten. Bei positiven oder grenzwertigen IgM- und/oder IgG-Ergebnissen erfolgt in einem zweiten Schritt eine Bestätigungsdiagnostik mittels Immunoblots auf der Basis rekombinanter Proteine.

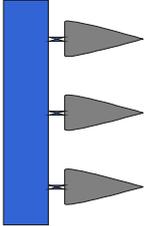
Spezifische Serum-Antikörper sind in 20-50 % der Erkrankungsfälle im Stadium I (Erythema migrans), in 70-90 % der Fälle im Stadium II (Neuroborreliose) und bei nahezu 100 % der Erkrankten im Stadium III (Acrodermatitis, Lyme Arthritis) nachweisbar. Ein negatives serologisches Ergebnis schließt somit in einem frühen Infektionsstadium eine Erkrankung nicht aus. Bei begründetem Verdacht auf eine Borreliose sollten in diesen Fällen serologische Follow-up-Kontrollen durchgeführt werden.

Sowohl Borrelia-IgG- als auch -IgM-Antikörper können nach erfolgreicher Therapie noch längere Zeit persistieren. Ein positives IgM ohne nachweisbares IgG schließt eine späte Manifestation der Erkrankung in der Regel aus.

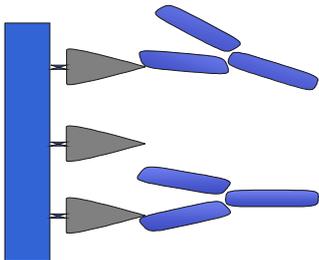
Wesentliches Kriterium für eine akute Neuroborreliose ist ein entzündlich veränderter Liquor. Darüber hinaus dient die Bestimmung einer intrathekalen Antikörpersynthese als differentialdiagnostischer Indikator einer Neuroborreliose. Dies erfolgt über die Ermittlung eines Borrelia-spezifischen Antikörperindex (AI) in Serum-Liquor-Paaren. In Abhängigkeit von der Dauer der neurologischen Symptomatik können intrathekale Antikörper in 80 bis 100 % der Fälle detektiert werden. Pathologische AI können noch Jahre nach erfolgreicher Therapie nachweisbar sein. Außerdem ist bei MS-Patienten eine intrathekale Borrelia-Antikörpersynthese als polyspezifische Mitreaktion beschrieben.

Der Borrelia-IgG-ELISA medac ist ein Nachweissystem zur quantitativen Bestimmung von IgG-Antikörpern auf der Basis eines Borrelia-spezifischen VlsE-Peptid-Antigens. Der Test kann zur Ermittlung eines erregerspezifischen Antikörperindex in Serum-Liquor-Paaren eingesetzt werden.

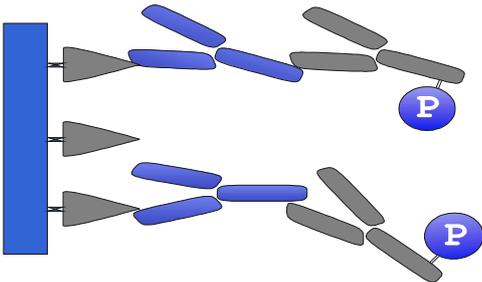
## TESTPRINZIP



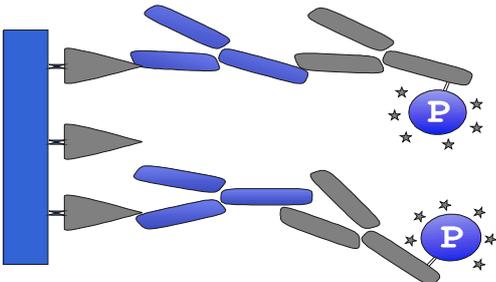
Mit Borrelia-spezifischem VlsE-Peptid beschichtete Mikrotiterplatte.



Borrelia-spezifische Antikörper aus der Patientenprobe binden an das Antigen.



Das Peroxidase-gekoppelte Anti-Human-IgG bindet an die Borrelia-IgG-Antikörper (P = Peroxidase).



Inkubation mit TMB-Substrat (\*). Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure. Die Auswertung erfolgt photometrisch.

### Testvorteile

- ☞ Die brechbaren Mikrotiterstreifen gewährleisten eine optimale Testauslastung.
- ☞ Automatisierbar auf offenen ELISA-Gerätesystemen.
- ☞ Ein-Punkt-Quantifizierung, keine Standardkurve mehr nötig.
- ☞ Keine zusätzliche Kalibrationskurve für Liquordiagnostik erforderlich.

## PACKUNGSINHALT

KAT.-NR.: 202

1. 

<b>MTP</b>
------------

Mikrotiterplatte: 12 Teststreifen à 8 Vertiefungen, grau markiert (mit Halterahmen und Trockenmittelpappe im Aluminiumbeutel vakuumverschweißt), brechbar, Rundboden, beschichtet mit VlsE-Peptid-Antigen und BSA, gebrauchsfertig.
2. 

<b>CONTROL</b>	<b>-</b>
----------------	----------

Negative Kontrolle: 1 Fläschchen à 1,5 ml, humanes Serum, gebrauchsfertig, orange gefärbt, enthält NBCS, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
3. 

<b>CONTROL</b>	<b>+</b>
----------------	----------

Positive Kontrolle: 1 Fläschchen à 1,5 ml, humanes Serum, gebrauchsfertig, orange gefärbt, enthält FKS, BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
4. 

<b>CAL</b>
------------

Kalibrator: 1 Fläschchen à 1,5 ml, humanes Serum, gebrauchsfertig, orange gefärbt, enthält FKS, BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
5. 

<b>WB</b>
-----------

Waschpuffer: 1 Flasche à 100 ml, PBS/Tween (10x), pH 7,2 - 7,4, enthält ProClin™ 300.
6. 

<b>BO-DIL</b>
---------------

Probenverdünnungspuffer: 1 Flasche à 110 ml, PBS/Tween/NBCS, pH 7,0 - 7,2, gebrauchsfertig, orange gefärbt, enthält ProClin™ 300.
7. 

<b>CON</b>
------------

Konjugat: 3 Fläschchen à 4,5 ml, Ziege-Anti-Human-IgG-Antikörper, HRP-konjugiert, gebrauchsfertig, grün gefärbt, enthält BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
8. 

<b>TMB</b>
------------

TMB-Substrat: 1 Fläschchen à 10 ml, gebrauchsfertig.
9. 

<b>STOP</b>
-------------

Stopplösung: 2 Fläschchen à 11 ml, 0,5 M Schwefelsäure (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), gebrauchsfertig.

## **1. LAGERUNG UND HALTBARKEIT**

<b>Material/Reagenz</b>	<b>Zustand</b>	<b>Lagerung</b>	<b>Haltbarkeit</b>
Testkit	ungeöffnet	2...8 °C	bis Verfalldatum
Mikrotiterplatte	geöffnet	2...8 °C im Beutel mit Trockenmittelpappe	6 Wochen
Kontrollen/ Kalibrator	geöffnet	2...8 °C	6 Wochen
Waschpuffer	verdünnt	2...8 °C	6 Wochen
Probenver- dünnungspuffer	geöffnet	2...8 °C	6 Wochen
Konjugat	geöffnet	2...8 °C	6 Wochen
TMB-Substrat	geöffnet	2...8 °C	6 Wochen
Stopplösung	geöffnet	2...8 °C	bis Verfalldatum

Die Reagenzien sind nach Ablauf des angegebenen Verfalldatums nicht mehr zu verwenden.

## **2. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN**

- 2.1. Aqua ad iniectabilia (H<sub>2</sub>O bidest.). Die Verwendung von entionisiertem Wasser kann zu Störungen im Testsystem führen.
- 2.2. Mikroliterpipetten für entsprechende Volumina.
- 2.3. Saubere Glas- oder Kunststoffgefäße zum Verdünnen von Waschpuffer und Proben.
- 2.4. Geeignete Vorrichtung zum Waschen der Mikrotiterplatte (z. B. Multistepper oder ELISA-Waschgerät).
- 2.5. Inkubator für 37 °C.
- 2.6. Mikrotiterplatten-Photometer mit Filtern für 450 nm und 620 - 650 nm.

## **3. ANSETZEN DER REAGENZIEN**

Alle Kitkomponenten müssen vor Testansatz auf Raumtemperatur gebracht werden.

Ermitteln Sie die Anzahl der benötigten Mikrotitervertiefungen.

### 3.1. Mikrotiterplatte

Der Aluminiumbeutel muß nach jeder Entnahme zusammen mit der Trockenmittelpappe wieder fest verschlossen werden. Lagerung und Haltbarkeit der nicht verwendeten Mikrotitervertiefungen siehe unter Punkt 1.

### 3.2. Waschpuffer

1 Teil Waschpuffer (10x) wird mit 9 Teilen Aqua ad iniectabilia angesetzt (z.B. 50 ml Waschpuffer (10x) mit 450 ml Aqua ad iniectabilia). Für acht Vertiefungen werden 10 ml Waschpuffer benötigt.

**Evtl. im Waschpuffer (10x) vorhandene Kristalle sind vor dem Ansetzen durch Erwärmen (max. 37 °C) und/oder Rühren bei RT in Lösung zu bringen.**

**Die testspezifischen Reagenzien (Mikrotiterplatte, Kontrollen, Kalibrator und Konjugat) sind nicht mit denen anderer Chargen zu mischen. Im Gegensatz dazu sind Waschpuffer, TMB-Substrat und Stopplösung für alle serologischen ELISA von medac grundsätzlich austauschbar. Unterschiedliche Chargen des Probenverdünnungspuffers sind nur innerhalb der medac-Borrelia-Teste austauschbar.**

**Reagenzien anderer Hersteller sind generell nicht einzusetzen.**

**Nur bei exakter Einhaltung der Arbeitsvorschrift werden valide und reproduzierbare Ergebnisse erhalten.**

## **4. UNTERSUCHUNGSMATERIAL**

4.1. Der Test ist geeignet zur Untersuchung von Serum und Liquor (zur Untersuchung von Liquor unbedingt Punkt 8. beachten).

4.2. Eine Vorbehandlung der Seren, wie z. B. Inaktivierung, ist nicht erforderlich, sie sollten jedoch nicht mikrobiell kontaminiert und frei von Humanerythrocyten sein.

4.3. Die Seren werden 1:250 mit Probenverdünnungspuffer verdünnt. Wir empfehlen, zunächst eine 1:50 Verdünnung herzustellen (z.B. 10 µl Serum + 490 µl Probenverdünnungspuffer) und dann 1:5 weiterzuverdünnen (z.B. 10 µl 1:50 vorverdünntes Serum + 40 µl Probenverdünnungspuffer). Proben oberhalb des Messbereichs können beliebig weiterverdünnt werden.

4.4. Die Serum-Liquor-Diagnostik ist unter Punkt 8. ausführlich beschrieben.

## **5.A. ARBEITSVORSCHRIFT**

5.1. Die Verpackung der Mikrotiterplatte am ZIP-Verschluß öffnen und die erforderliche Anzahl Mikrotitervertiefungen entnehmen (s. 3.1.).

**Die Mikrotitervertiefungen sind gebrauchsfertig und müssen nicht vorgewaschen werden.**

5.2. Für die Ermittlung des Leerwertes (s. 6.A.) in die Vertiefung A1 50 µl Probenverdünnungspuffer pipettieren. Jeweils 50 µl der negativen Kontrolle, der positiven Kontrolle sowie der Proben in Einfachbestimmung und 50 µl des Kalibrators in Doppelbestimmung in die Vertiefungen der Platte pipettieren.

**Ggf. kann die Platte bis zur weiteren Bearbeitung für max. 30 min bei RT gelagert werden.**

5.3. Die Mikrotitervertiefungen 60 min ( $\pm 5$  min) bei 37 °C ( $\pm 1$  °C) inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt).

5.4. Nach Inkubation die Mikrotitervertiefungen dreimal mit jeweils 200 µl Waschpuffer waschen. Darauf achten, daß alle Vertiefungen beim Waschen gefüllt werden. Nach Beendigung des Waschvorganges Mikrotitervertiefungen auf Filterpapier ausklopfen.

**Nicht austrocknen lassen! Umgehend weiterverwenden!**

5.5. Konjugat (grün gefärbt) in alle Vertiefungen pipettieren.

**Beim manuellen Abarbeiten des Tests werden 50 µl Konjugat pro Vertiefung pipettiert.**

### **Bitte beachten:**

**Beim Arbeiten mit automatisierten Gerätesystemen ist auf Grund der höheren Verdunstung in den Inkubationskammern die Zugabe von 60 µl Konjugat pro Vertiefung zu programmieren.**

**Die grundsätzliche Eignung des Testes für die automatisierte Abarbeitung konnte im Rahmen der Validierung gezeigt werden. Dennoch empfehlen wir, die Kompatibilität mit den zum Einsatz kommenden Gerätesystemen zu verifizieren.**

5.6. Erneut 60 min ( $\pm 5$  min) bei 37 °C ( $\pm 1$  °C) inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt).

5.7. Nach Inkubation die Mikrotitervertiefungen erneut waschen (s. 5.4.).

5.8. 50 µl TMB-Substrat in jede Vertiefung pipettieren und 30 min (± 2 min) bei 37 °C (± 1 °C) im Dunkeln inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt). Positive Proben erscheinen blau gefärbt.

5.9. Durch Zugabe von 100 µl Stopplösung in jede Vertiefung wird die Reaktion gestoppt. Es erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb.

**Mikrotitervertiefungen vor photometrischer Messung von unten abwischen und darauf achten, daß keine Luftblasen in den Vertiefungen vorhanden sind.**

**Die Messung ist innerhalb von 15 min nach dem Stoppen durchzuführen.**

**5.B. TABELLE ZUR ARBEITSVORSCHRIFT**

	Leerwert (A1)	Negative Kontrolle	Positive Kontrolle	Kalibrator	Probe
Probenverdünnungspuffer	50 µl	-	-	-	-
Negative Kontrolle	-	50 µl	-	-	-
Positive Kontrolle	-	-	50 µl	-	-
Kalibrator	-	-	-	50 µl	-
Probe	-	-	-	-	50 µl
60 min bei 37 °C inkubieren, 3x mit 200 µl Waschpuffer waschen					
Konjugat	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)
60 min bei 37 °C inkubieren, 3x mit 200 µl Waschpuffer waschen					
TMB-Substrat	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
30 min bei 37 °C im Dunkeln inkubieren					
Stopplösung	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Photometrische Auswertung bei 450 nm (Ref. 620-650 nm)					

\*) manuelle/automatisierte Abarbeitung (s. 5.5.)

## **6.A. TESTBEURTEILUNG (VALIDITÄT)**

- \* Die Auswertung erfolgt quantitativ in willkürlichen Einheiten (AU).
- \* Die photometrische Auswertung erfolgt bei einer Wellenlänge von 450 nm (Referenzwellenlänge 620 - 650 nm).
- \* Die OD des Leerwertes (Vertiefung A1) wird von allen OD-Werten subtrahiert.

### \* Chargenspezifische Daten

Dem Test liegt ein chargenspezifisches Datenblatt bei. Diesem können folgende Angaben entnommen werden:

- chargenspezifische Standardkurve
- Kurvenparameter a und b
- OD-Sollwert des Kalibrators
- unterer Grenzwert für die OD des Kalibrators
- Sollbereich in AU/ml für die positive Kontrolle

### \* Validitätskriterien

- Der OD-Wert des **Leerwertes** muß **< 0,100** betragen.
- Der OD-Wert der **negativen Kontrolle** muß **< 0,150** betragen.
- Der Unit-Wert der **positiven Kontrolle** muß innerhalb des Sollwertbereiches gemäß chargenspezifischem Datenblatt liegen.
- Der OD-Mittelwert des Kalibrators muß oberhalb des Grenzwertes gemäß chargenspezifischem Datenblatt liegen.
- Zusätzliche Validitätskriterien für Serum-Liquor-Bestimmungen s. Punkt 8.

**Sind die genannten Validitätskriterien nicht erfüllt, muß der Test wiederholt werden.**

### \* Korrektur der Meßergebnisse

Die OD-Werte für die positive Kontrolle und die Patientenproben werden wie folgt korrigiert:

$$OD_{\text{korrigiert}} = \frac{OD\text{-Sollwert des Kalibrators}}{OD\text{-Meßwert des Kalibrators}} \times OD_{\text{gemessen}}$$

\* Quantifizierung der Meßergebnisse

Für die korrigierten OD-Werte sind die korrespondierenden Konzentrationen in AU/ml aus der Standardkurve auf dem chargenspezifischen Datenblatt zu ermitteln.

Alternativ lassen sich die Konzentrationen auch mit der folgenden Formel berechnen:

$$\text{Konzentration [AU/ml]} = b / \left( \frac{a}{\text{OD}_{\text{korrigiert}}} - 1 \right)$$

Die meisten ELISA-Photometer neuerer Bauart gestatten die Eingabe dieser Formel, so daß eine direkte Auswertung mittels Photometer möglich ist.

Der Meßbereich für Seren erstreckt sich von 10,8 bis 200 AU/ml. Proben mit Unit-Werten unterhalb des Meßbereiches sind als < 10,8 AU/ml zu bewerten, solche oberhalb als > 200 AU/ml. Diese dürfen nicht extrapoliert werden.

**Der Cut-off liegt bei 12 AU/ml.**

**Grenzbereich = 10,8 - 13,2 AU/ml**

**6.B. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE/GRENZEN DER METHODE**

\* Proben mit Unit-Werten unterhalb des Grenzbereiches werden als **NEGATIV** bewertet.

\* Proben mit Unit-Werten innerhalb des Grenzbereiches werden als **GRENZWERTIG** bewertet.

Diese Werte sollten kontrolliert werden, indem nach 14 Tagen eine zusätzliche Patientenprobe entnommen wird, die zusammen mit der ersten Probe auf eine Titerbewegung untersucht wird.

\* Proben mit Unit-Werten oberhalb des Grenzbereiches werden als **POSITIV** bewertet.

\* Die Testergebnisse sollten stets im Zusammenhang mit dem klinischen Bild der Patienten, den Borrelia-IgM-Ergebnissen und ggf. weiteren diagnostischen Parametern interpretiert werden.

- \* Gemäß den Qualitätsstandards zur mikrobiologischen Diagnose der Lyme Borreliose (MiQ 12) sind grenzwertige und positive ELISA-Ergebnisse durch einen Western-Blot zu bestätigen.
- \* Hohe Hämoglobinkonzentrationen und erhöhte Lipidwerte im Serum beeinflussen die Testergebnisse nicht.
- \* Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen **T. pallidum** sind in Einzelfällen nicht auszuschließen (s. 7.B.).

## 7. LEISTUNGSMERKMALE

Die nachfolgenden Leistungsmerkmale wurden von uns im Rahmen der diagnostischen Evaluierung ermittelt.

### 7.A. SEROPRÄVALENZ

Es wurden 100 Seren von Blutspendern im Vergleich zu einem Mitbewerber-ELISA untersucht. Dabei wurde eine Prävalenz von 7 % ermittelt (Mitbewerberbest 5 %).

		<b>Mitbewerber-ELISA</b>			
		<b>negativ</b>	<b>grenzwertig</b>	<b>positiv</b>	<b>Summe</b>
<b>Borrelia-IgG-ELISA medac</b>	<b>negativ</b>	90	2	0	92
	<b>grenzwertig</b>	1	0	0	1
	<b>positiv</b>	1	1	5	7
	<b>Summe</b>	92	3	5	100

### 7.B. KREUZREAKTIVITÄT

Es wurden 75 Seren von **T. pallidum** Antikörper-positiven Patienten im Vergleich zu einem Mitbewerber-ELISA untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Neun-Felder-Tafel dargestellt.

		<b>Mitbewerber-ELISA</b>			
		<b>negativ</b>	<b>grenzwertig</b>	<b>positiv</b>	<b>Summe</b>
<b>Borrelia-IgG-ELISA medac</b>	<b>negativ</b>	68	3	1	72
	<b>grenzwertig</b>	0	0	0	0
	<b>positiv</b>	2	0	1	3
	<b>Summe</b>	70	3	2	75

## 7.C. SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Im Rahmen der diagnostischen Erprobung wurden 290 Proben von Patienten mit Verdacht auf eine Borrelia-Infektion untersucht. Die Festlegung der Sollbewertung erfolgte in Anlehnung an die MiQ-Standards zur Diagnose der Lyme Borreliose (MiQ 12) durch Kombination eines Mitarbeiter-ELISA und eines Western-Blots.

Im ELISA und Western-Blot grenzwertig bestimmte Proben wurden eliminiert und bei der folgenden Korrelation nicht berücksichtigt.

		Sollbewertung			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
Borrelia-IgG-ELISA medac	negativ	116	0	5	121
	grenzwertig	0	0	2	2
	positiv	18	0	149	167
	Summe	134	0	156	290

Spezifität = 87 %

Sensitivität = 96 %

Übereinstimmung: 91 %

Die Kombination von IgG- und IgM-Ergebnissen im Vergleich zu den oben definierten Sollbewertungen ergab folgende Ergebnisse:

		Sollbewertung			Summe
		negativ	grenzwertig	positiv	
Borrelia-IgG/IgM- ELISA medac	negativ	48	0	5	53
	grenzwertig	1	0	0	1
	positiv	11	0	232	243
	Summe	60	0	237	297

Spezifität = 80 %

Sensitivität = 98 %

Übereinstimmung: 94 %

## 7.D. PRÄZISION

Probe	Intraassay-Varianz				Probe	Interassay-Varianz			
	MW AU	S	VK (%)	n		MW AU	S	VK (%)	n
PK	24,8	1,2	4,8	22	PK	23,8	0,7	2,9	11
Nr. 1	50,9	1,5	3,0	22	Nr. 4	44,8	2,1	4,7	11
Nr. 2	99,9	2,8	2,8	22	Nr. 5	100,3	5,6	5,6	11
Nr. 3	147,5	2,5	1,7	22	Nr. 6	43,7	2,3	5,3	11
					Nr. 7	86,3	4,5	5,2	11
					Nr. 8	108,3	8,4	7,8	11

PK = Positive Kontrolle

## 8. LIQUORDIAGNOSTIK

Der Nachweis einer Borrelia-spezifischen Antikörpersynthese im ZNS im Rahmen der Liquordiagnostik ist Bestandteil der differentialdiagnostischen Abklärung einer Neuroborreliose.

Die Bestimmung einer Borrelia-spezifischen intrathekalen Antikörpersynthese erfolgt durch die Ermittlung des Antikörperindex (AI) nach Reiber (Reiber 1987, 1999). Für die Berechnung des AI müssen die folgenden Voraussetzungen erfüllt sein:

- Ermittlung des Albuminquotienten ( $Q_{alb}$ ) zur Beurteilung der Schrankenfunktion und Berechnung des Limes-Wertes bei erhöhtem Gesamt-IgG-Quotienten ( $Q_{ges} > Q_{lim}$ )
- Ermittlung des Gesamt-IgG-Quotienten ( $Q_{ges}$ )

### 8.1. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

8.1.1. Der Test ist geeignet zur Untersuchung von Serum-Liquor-Paaren.

8.1.2. Eine zusätzliche Vorbehandlung der Seren und Liquores, wie z.B. Inaktivierung, ist nicht erforderlich, sie sollten jedoch nicht mikrobiell kontaminiert und frei von humanen Erythrozyten sein.

8.1.3. Serum

Die Seren werden standardmäßig 1:250 mit Probenverdünnungspuffer verdünnt. Liegt die gemessene Antikörperkonzentration oberhalb von 200 AU/ml, muss die Probe ggf. in 10fach Schritten weiter verdünnt werden (vgl. 8.4.).

#### 8.1.4. Liquor

Die Liquores werden standardmäßig 1:5 mit Probenverdünnungspuffer verdünnt. Liegt die gemessene Antikörperkonzentration oberhalb von 200 AU/ml, muss die Probe ggf. in 10fachen Schritten weiter verdünnt werden (vgl. 8.4.).

**Serum und Liquor immer parallel im gleichen Testlauf bestimmen (auch bei Wiederholungsmessungen).**

### **8.2. ARBEITSVORSCHRIFT**

Der weitere Testansatz für die Borrelia-IgG-Bestimmung in Serum-Liquor-Paaren erfolgt gemäß Punkt 5.A.

### **8.3. BESTIMMUNG VON GESAMT-IgG UND ALBUMIN-GEHALT**

Zusätzlich zu den Borrelia-spezifischen IgG-Bestimmungen sind der jeweils korrespondierende Gesamt-IgG-Gehalt und der Albumin-Gehalt in Serum und Liquor zu bestimmen.

### **8.4. TESTBEURTEILUNG/VALIDITÄT**

#### \* Validität

Es gelten die unter Punkt 6.A. angegebenen Validitätskriterien.

**Sind die genannten Validitätskriterien nicht erfüllt, muss der Test wiederholt werden.**

Zusätzlich gilt für die Liquordiagnostik:

- Der Messbereich für Seren erstreckt sich von 10,8 - 200 AU/ml.
- Seren mit einem Antikörpergehalt < 10,8 AU/ml in der 1:250-Verdünnung werden als seronegativ betrachtet. In diesem Fall kann kein Antikörperindex bestimmt werden.
- In Einzelfällen sind bei seronegativen Patienten intrathekale Borrelia-IgG-Antikörper nachweisbar. Ein damit verbundener Verdacht auf eine Neuroborreliose ist jedoch durch weitere differentialdiagnostische Parameter zu bestätigen.
- Der Messbereich für Liquor erstreckt sich von 6,25 - 200 AU/ml.
- Liquores, die in der Verdünnung von 1:5 unterhalb des Messbereichs liegen, können nicht berechnet werden. Auch bei positivem Serostatus ist bei diesen Proben eine intrathekale Anti-Borrelia-IgG-Synthese höchst unwahrscheinlich.

- \* Bewertung
- Berechnung der AU-Werte s. 6.A.
- Berechnung des erregerspezifischen IgG-Quotienten ( $Q_{spez}$ )

$$Q_{spez} = \frac{AU \text{ Liquor} \times \text{Verdünnung Liquor}}{AU \text{ Serum} \times \text{Verdünnung Serum}}$$

- Berechnung des Antikörperindex

Der erregerspezifische Index errechnet sich dann nach den Formeln:

1.  $AI = Q_{spez}/Q_{ges}$  (für  $Q_{ges} < Q_{lim}$ )
2.  $AI = Q_{spez}/Q_{lim}$  (für  $Q_{ges} > Q_{lim}$ )
3.  $Q_{lim} = 0,93 \times \sqrt{Q_{alb}^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1,7 \times 10^{-3}$

## 8.5. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

- \* AI-Werte von 0,6 - 1,3 gelten als Normalbereich.
- \* AI-Werte  $> 1,3$  und  $\leq 1,5$  gelten als grenzwertig.
- \* **Der pathologische Bereich ist festgelegt mit  $AI > 1,5$ .**
- \* AI-Werte  $< 0,6$  weisen auf analytische Fehler hin und sind nicht interpretierbar.
- \* Liquordiagnostische Entscheidungskriterien für eine akute, aktive Erkrankung des ZNS sind ein entzündlich veränderter Liquor und ein erhöhter Albumin-Quotient als Ausdruck einer entzündlich bedingten Liquorflußbehinderung.
- \* Erhöhte Antikörperindizes sind allein kein sicherer Beweis für die akute Phase einer infektiösen ZNS-Erkrankung, da Antikörper auch intrathekal über längere Zeiträume persistieren und polyspezifische ZNS-eigene Antikörpersynthesen vorkommen können. Gegebenenfalls ist eine signifikante Änderung des AI-Wertes über Zweitbestimmungen von Serum-Liquor-Paaren für die Beurteilung einer ZNS-Infektion angezeigt. Dazu ist ggf. eine weitere in einem sinnvollen zeitlichen Abstand erfolgende Probenentnahme erforderlich, die auf Grund klinischer Gesichtspunkte entschieden werden muss.

## **ALLGEMEINE HANDHABUNGSHINWEISE**

- \* Reagenzienflaschen und deren Verschlüsse nicht vertauschen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
- \* Sofort nach Gebrauch die Reagenzflaschen wieder fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- \* Nach Gebrauch sind die Reagenzien sofort wieder, entsprechend den vorgeschriebenen Lagerungsbedingungen, zu lagern, um die angegebene Haltbarkeit zu gewährleisten.
- \* Um Verwechslungen mit Reagenzien anderer Testsysteme oder Chargen zu vermeiden, sollten alle Kitkomponenten einer Testpackung nach dem Gebrauch zusammen in der Originalpackung gelagert werden (siehe auch 3.).

## **SICHERHEITSHINWEISE**

- \* Die national verbindlichen Arbeitsschutzvorschriften sind zu beachten.
- \* Die Reagenzien humanen Ursprungs wurden auf HBsAg, Anti-HIV 1/2 und Anti-HCV untersucht und für nicht reaktiv befunden. Dennoch sollten diese Reagenzien wie auch jene, die Bestandteile tierischer Herkunft enthalten (siehe Packungsinhalt), als potentiell infektiös behandelt werden, um das Risiko einer Ansteckung zu vermeiden.

## **ENTSORGUNGSHINWEISE**

Die in diesem Produkt enthaltenen Chemikalien und Zubereitungen sowie die bei der Anwendung dieses Produktes anfallenden Reste sind in der Regel Abfälle, die einer ordnungsgemäßen Entsorgung zugeführt werden müssen.

Die Entsorgung solcher Abfälle unterliegt den nationalen abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen. Die zuständige Behörde oder Abfallentsorgungsunternehmen informieren über die Entsorgungsmöglichkeiten.

**Ausgabedatum: 01.06.2010**

## **LITERATUR**

Aguero-Rosenfeld, M.E., Wang, G., Schwartz, I., Wormser, G. P.:  
Diagnosis of Lyme Borreliosis. Clin Microbiol Rev 18 (3), 484-509  
(2005)

Aguero-Rosenfeld, M.E.: Lyme Disease: Laboratory Issues. Infect Dis  
Clin N Am 22, 301-313 (2008)

Goettner, G., Schulte-Spechtel, U., Hillermann, R., et al.:  
Improvement of Lyme Borreliosis Serodiagnosis by Newly Developed  
Recombinant Immunoglobulin G (IgG) and IgM Line Immunoblot Assay and  
Addition of VlsE and DbpA Homologues. J Clin Microbiol 43 (8), 3602-  
3609 (2005)

Hofmann, H.: Lyme Borreliose. Kutane Manifestationen. Hautarzt 56 (8),  
783-796 (2005)

Jobe, D.A., Lovrich, S.D., Asp, K.E. et al.: Significantly Improved  
Accuracy of Diagnosis of Early Lyme Disease by Peptide Enzyme-Linked  
Immunosorbent Assay Based on the Borreliacidal Antibody Epitope of  
*Borrelia burgdorferi* OspC. Clin Vaccine Immunol 15 (6), 981-985 (2008)

Kaiser, R., Fingerle, V.: Neuroborreliose. Nervenarzt 80 (10), 1239-  
1251 (2009)

Krause, A., Fingerle, V.: Lyme Borreliose. Z Rheumatol 68 (3), 239-254  
(2009)

Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie zur Neuro-  
borreliose, 2008

Mathiesen, M.J., Christiansen, M., Hansen, K. et al.: Peptide-Based  
OspC Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Serodiagnosis of Lyme  
Borreliosis. J Clin Microbiol 36 (12), 3474-3479 (1998)

Mathiesen, M.J., Holm, A., Christiansen, M. et al.: The Dominant  
Epitope of *Borrelia garinii* Outer Surface Protein C Recognized by Sera  
from Patients with Neuroborreliosis Has a Surface-Exposed Conserved  
Structural Motif. Infect Immun 66 (9), 4073-4079 (1998)

Nau, R., Christen, H.-J., Eiffert, H.: Lyme Disease-Current State of  
Knowledge. Dtsch Arztebl Int 106 (5), 72-82 (2009)

Reiber, H., Felgenhauer, K.: Protein transfer at the blood  
cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune  
response within the central nervous system. Clin Chim Acta. 319-328  
(1987)

Reiber, H.: Liquordiagnostik, in: Klinische Neurologie, Berlitz, P.(Hrsg.): Springer Verlag, Heidelberg, 148-177 (1999)

Stanek, G., Strle, F.: Lyme borreliosis: a European perspective on diagnosis and clinical management. *Curr Opin Infect Dis* 22, 450-454 (2009)

Strle, F., Stanek, G.: Clinical Manifestations and Diagnosis of Lyme Borreliosis, in: Lyme Borreliosis. *Curr Probl Dermatol* 37, Lipsker, D., Jaulhac, B. (eds.): Karger Basel, 51-110 (2009)

Wildemann, B., Oschmann, P., Reiber, H. (Hrsg.): Neurologische Labordiagnostik: Liquordiagnostik. 30-73, Georg Thieme Verlag Stuttgart New York (2006)

Wilske, B., Zöller, L., Brade, H., Eiffert, U.B., Stanek, G., Pfister, H.-W.: Quality Standards for the Microbiological Diagnosis of Infectious Diseases.: Lyme Borreliosis. (MIQ 12) Urban und Fischer München (2000)

Wilske, B.: Epidemiology and diagnosis of Lyme borreliosis. *Annals of Medicine* 37, 568-579 (2005)

Wormser, G.P., Nowakowski, J., Nadelmann, R.B. et al.: Impact of Clinical Variables on *Borrelia burgdorferi*-Specific Antibody Seropositivity in Acute Phase Sera from Patients in North America with Culture-Confirmed Early Lyme Disease. *Clin Vaccine Immunol* 15 (10), 1519-1522 (2008)