

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Verwendung:

Der Viramed® Biotech AG Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit ist ein qualitativer in vitro Protein Microarray zum Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* in humanem Serum. Er wird verwendet, um humanes Serum in einem All-In-One-Testformat auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* zu untersuchen und besteht aus: VlsE als Suchtest (erster Test) und einer multiplen Antigenanalyse zur Bestätigung (zweiter Test). Positive Ergebnisse des Assays liefern einen Verdacht auf eine Infektion mit *B. burgdorferi*, dem Erreger der Borreliose.

Der Viramed® Biotech AG Borrelia All-In-One ViraChip® Test muss mit einem ViraChip® Reader oder Scanner und der ViraChip® Software durchgeführt werden.

Test Kit Information:

| | | | |
|-----------------|---|-----------------|--|
| Best.-Nr.: | V-BTCFOK | Best.-Nr.: | V-BTCFDK (Deca Kit) |
| Packungsgröße: | MTP à 96 einzelbrechbare Kavitäten | Packungsgröße: | 10 MTP à 96 einzelbrechbare Kavitäten |
| Probenmaterial: | 10 µL Serum | Probenmaterial: | 10 µL Serum |
| Testdauer: | ca. 130 Minuten | Testdauer: | ca. 130 Minuten |

Für die *In Vitro* Diagnostik

Nur zur vorschriftsgemäßen Verwendung

(CLIA: Test mit hoher Komplexität)

Zusammenfassung und Erklärung:

Borrelia burgdorferi ist eine Spirochäte, die Borreliose verursacht. Der Erreger wird durch Zecken der Gattung *Ixodes* übertragen. In endemischen Gebieten sind diese Zecken häufig auf Pflanzen und Tieren wie Hirschen, Mäusen, Hunden, Pferden und Vögeln zu finden (3).

Eine *B. burgdorferi* Infektion zeigt Ähnlichkeiten zu anderen Spirochäteninfektionen (Krankheiten, die beim Menschen durch drei Gattungen verursacht werden: *Treponema*, *Borrelia*, und *Leptospira*). Die Haut ist der Zugangspunkt für *B. burgdorferi*, so verursacht der Zeckenstich häufig einen charakteristischen Ausschlag namens Erythema migrans (EM), der sich bei 60% bis 80% der Patienten um den Zeckenstich herum entwickelt. Spirochämie tritt früh auf und breitet sich über Gewebe und Körperflüssigkeiten aus. Die Borreliose tritt in Stadien, oft mit dazwischenliegenden Latenzzeiten und unterschiedlichen klinischen Manifestationen, auf (11).

Bei der Borreliose gibt es im Allgemeinen drei Krankheitsstadien, oft mit sich überschneidenden Symptomen. Die Symptome variieren je nach den von der Infektion betroffenen Stellen wie Gelenke, Haut, Zentralnervensystem, Herz Auge, Knochen, Milz und/oder Niere. Erkrankungen im Spätstadium sind meistens mit Arthritis oder ZNS-Syndromen verbunden. Eine asymptomatische subklinische Infektion ist möglich, wobei diese möglicherweise erst in späteren Stadien klinisch erkennbar ist. Patienten mit früher Infektion produzieren in den ersten Wochen nach Beginn der EM IgM-Antikörper und langsamer IgG-Antikörper (13). Auch falls IgM-Antikörper lediglich im ersten Monat nach Krankheitsbeginn nachgewiesen werden können, entwickeln die meisten Patienten innerhalb eines Monats IgG-Antikörper. Sowohl IgG- als auch IgM-Antikörper können über Jahre nachweisbar bleiben.

Über die Isolierung von *B. burgdorferi* aus Hautbiopsien, Blut und Rückenmarksflüssigkeit wurde berichtet (10). Diese direkten Kulturnachweisverfahren sind jedoch möglicherweise bei der Routinediagnostik der Borreliose nicht praktikabel. Zu den serologischen Testmethoden für Antikörper gegen *B. burgdorferi* gehören die indirekte Fluoreszenz-Antikörper (IFA)-Färbung, der Enzymimmunoassay (EIA) und der Immunoblot.

B. burgdorferi ist in Bezug auf seine Antigene komplex aufgebaut, wobei sich dessen Stämme beträchtlich unterscheiden. Frühe Antikörperreaktionen beziehen sich oft auf Flagellin, das kreuzreaktive Komponenten aufweist. Patienten in frühen Infektionsstadien produzieren möglicherweise keine nachweisbaren Antikörpertiter. Auch eine frühe Antibiotikatherapie nach EM kann eine starke Antikörperantwort verringern oder hemmen. Einige Patienten erzeugen möglicherweise nie nachweisbare Antikörpertiter. So weisen serologische Tests auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* eine geringe Sensitivität und Spezitivität auf und können nicht allein zur Diagnose einer Borreliose herangezogen werden (12,2). 1994 empfahl die Second National Conference on Serological Diagnosis of Lyme disease ein zweistufiges Testsystem zur Standardisierung serologischer Labortests auf *B. burgdorferi* (4). Auch die CDC empfiehlt eine Zwei-Test-Methodik (7).

Positive oder grenzwertige Ergebnisse eines sensitiven EIA (erster Test) sollten nachfolgend weiter untersucht werden, indem ein standardisiertes Immunoblot-Verfahren oder ein anderer EIA (zweiter Test) zum Nachweis von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* verwendet werden. Positive Testergebnisse liefern einen deutlichen Hinweis für eine Exposition gegenüber *B. burgdorferi*, können jedoch nicht als alleiniges Kriterium für die Diagnose verwendet werden.

Der Viramed® Biotech AG Borrelia All-In-One ViraChip® Test ist eine Kombination aus einem ersten Suchtest (unter Verwendung des VlsE-Antigens) und einem zweiten Test zur Bestätigung in einer Multiplex-Methodik. (unter Verwendung von Antigenen mit den Molekülmassen: 93 kd, 58 kd, 45 kd, 39 kd, 30 kd, 23 kd, 21 kd, 19 kd, 18 kd, 17 kd) und kann jederzeit nach Auftreten der Symptome verwendet werden.

Testprinzip:

Der Viramed® Biotech AG Borrelia All-In-One ViraChip® ist ein Protein-Microarray-Assay. Ein Protein-Microarray kann als modifizierter Multiplex-Festphasen-Enzymimmunoassay betrachtet werden. Isolierte Antigene sind an eine Festphasen-Nitrocellulose-Trägermembran gebunden. Es werden gereinigte *B. burgdorferi*-spezifische Antigene mit den folgenden Molekülmassen eingesetzt: **93 kd, 58 kd, 45 kd, 39 kd, 30 kd, 23 kd, 21 kd, 19 kd, 18 kd, 17 kd** und **VlsE**. Die Antigene werden als einzelne Analytspots auf die Nitrocellulosemembran fixiert. Die Positionen der Spots sind genau definiert und können jedem Antigen zuverlässig zugeordnet werden. Auf jedem Microarray werden zudem eine Negativkontrolle, zwei Serumkontrollen, vier Konjugatkontrollen (zwei für IgG, zwei für IgM) und sechs Kalibratorkontrollen angebracht. Am Boden jeder Kavität einer Standard-Mikrotiterplatte (MTP) befindet sich ein Microarray. Kavitäten sind einzelne brechbare Wells auf einem Riegel in einem Halterahmen mit 96 Positionen.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Für jeden durchzuführenden Test wird das verdünnte Patientenserum auf einen Microarray gegeben. Wenn spezifische Antikörper vorhanden sind, binden sie an die spezifischen Antigene auf dem Microarray. Nach der Inkubation wird der Microarray gewaschen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Anschließend wird ein Konjugat auf jeden Microarray gegeben und inkubiert. Wenn Antikörper vorhanden sind, bindet das Konjugat an die Antigen-Antikörper-Komplexe, die als Spots bezeichnet werden. Der Microarray wird gewaschen, um ungebundenes Konjugat zu entfernen. Nach Zugabe der Chromogen/Substratlösung setzt die an den Konjugat-Antikörper gebundene Alkalische Phosphatase das Chromogen / Substrat um und färbt damit den Antigen-Antikörperkomplex auf dem Microarray lila bis schwarz an. Der farbige Niederschlag an verschiedenen Stellen auf dem Microarray ist ein indirektes Maß für *B. burgdorferi*-spezifische Antikörper in der Patientenprobe. Die visualisierten Spots aus der Reaktion werden hinsichtlich ihrer Intensität mit den integrierten Kalibratorkontrollen verglichen und ausgewertet.

Biologische Herkunft der Antigene und Anti-human-Antikörper:

Die für den Borrelia All-In-One ViraChip® verwendeten Antigene sind hoch gereinigte Proteine, aus *Borrelia burgdorferi sensu lato* Stämmen gewonnen werden. Das AP-Anti-human-Konjugat wird durch Konjugation von Anti-humanen-Antikörpern der Ziege mit boviner alkalischer Phosphatase hergestellt.

Benötigtes Material:

| | | |
|------------------------------|---|-----------------------|
| 1 bzw. 10 MTP à 96 Kavitäten | Borrelia All-In-One ViraChip® Antigen Coated Wells Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig | (Prod. Nr.: V-BTCFAC) |
| 1x bzw. 10x 12 mL | Borrelia All-In-One ViraChip® AP-Anti-Human Conjugate Anti-humane Konjugatlösung für Borrelia All-In-One ViraChip® Teste, aus Ziege, mit boviner alkalischer Phosphatase, gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-BTCFKI) |
| 1x bzw. 10x 100 mL | ViraChip® / ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Buffer Waschpuffer-Konzentrat für ViraChip® Teste, mit Detergenzien und Salzen zum Verhindern unspezifischer Bindungen, 10-fach | (Best.-Nr.: V-UVNUWP) |
| 1x bzw. 10x 50 mL | ViraChip® Sample Buffer Gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-UVCUPP) |
| 1x bzw. 10x 12 mL | ViraChip® Chromogen / Substrate Solution Chromogen/Substratlösung für ViraChip® Teste, gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-UVCUCS) |
| 0.11mL | Borrelia All-In-One ViraChip® Positive Control Human, gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-BTCFPK) |
| 0.11mL | Borrelia All-In-One ViraChip® Negative Control Human, gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-BTCFNK) |
| 1 jeweils | Gebrauchsanweisung für Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit | |

Zusätzliche Ausrüstung:

1. Für die Waschschritte wird eine 500-ml-Waschflasche oder ein Microarray-Washer benötigt.
2. Verschiedene Messzylinder: 20mL, 100mL und 1000mL.
3. Papiertücher.
4. Pipetten und Mikropipetten mit einem Fassungsvermögen von 10 µl bis 1000 µl.
5. Geeignete Pipettenspitzen.
6. Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
7. 0-60 Minuten-Laboruhr mit einer Genauigkeit von +/- eine Sekunde.
8. Becken oder Entsorgungsbereich mit 0,5%igen Natriumhypochlorit-Lösung zur Desinfektion.
9. Orbitalschüttler mit einer Schüttelfrequenz von ca. 750 U/min oder Linearschüttler mit einer Schüttelfrequenz von ca. 20 Hz.
10. 2D-Barcode-Scanner.

Hinweis: Verwenden Sie sauberes und trockenes Glas- oder Kunststoffgeschirr für den Laborgebrauch.

Vorsichtsmaßnahmen/Sicherheitsvorkehrungen:

1. Alle humanen Serumkomponenten wurden auf HCV-, HIV1,2-Antikörper und HBs-Antigen untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kitkomponenten, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös betrachtet und mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen verwendet werden. Bei Arbeiten mit potentiell gefährlichen oder infektiösen Materialien sind die entsprechenden nationalen / internationalen Gesetze, Verordnungen und Vorschriften zu beachten. Dies gilt ebenfalls für die Lagerung und Entsorgung der verwendeten Chemikalien und Reagenzien.
2. Die Schutzmaßnahmen für das Arbeiten mit Gefahr- und Biostoffen sind gemäß den aktuell gültigen länderspezifischen Richtlinien für Laboratorien zu beachten. Maßnahmen sind unter anderem:
 - Nicht mit dem Mund pipettieren.
 - Einweg-Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
 - Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken oder rauchen.
3. Die Berührung von Haut und Schleimhäuten mit Chromogen / Substratlösung vermeiden. Bei Berührung mit Haut und Augen sofort mit viel Wasser nachwaschen.
4. Proben und alle möglicherweise kontaminierten Materialien sowie flüssige infektiöse Abfälle sind gemäß allgemein anerkannter Laborrichtlinien zu dekontaminieren, z.B. durch ein mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C. Zur Entsorgung flüssiger Abfälle können diese z.B. mit Natriumhypochlorit in einem Volumenverhältnis gemischt werden, so dass das Endgemisch 1% Natriumhypochlorit enthält. Zur vollständigen Desinfektion 30 Minuten einwirken lassen.
5. Angaben über mögliche Gefahren, Erste-Hilfe-Maßnahmen, Maßnahmen bei unbeabsichtigter Freisetzung von größeren Mengen, Handhabung und Lagerung, persönliche Schutzausrüstung, Hinweise zur Entsorgung sowie Angaben zur Toxikologie sind in den Sicherheitsdatenblättern dokumentiert.
6. Der Eintritt von Staub und anderen Verschmutzungen in die Kavitäten der MTP ist zu vermeiden, da daraus ungültige Ergebnisse resultieren können.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien:

- ViraChip® Microarrays:** Verschlossen in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** Bei 2-8°C ca. 2 Wochen haltbar. Bei längerer Aufbewahrung kann die Gebrauchsverdünnung aliquotiert bei -20°C eingefroren werden.
- Probenpuffer:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Konjugatlösung:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Positiv-Kontrolle:** Bei 2-8°C Lagerung haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Negativ-Kontrolle:** Bei 2-8°C Lagerung haltbar bis zum Verfallsdatum.

Gewinnung, Handhabung und Lagerung der Patientenprobe:

- Der **Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit** ist mit humanem Serum als Probenmaterial durchzuführen.
- Die Probengewinnung sollte durch medizinisches Fachpersonal nach den geltenden Standards aus Vollblut erfolgen (15).
- Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu ungünstigen Ergebnissen führen.
- Proben dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein.
- In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für eine Lagerung bis zu 24 Monaten sind die Proben in Aliquots bei mindestens -20°C einzufrieren.
- Vor Beginn der Testdurchführung sollten die Proben auf Raumtemperatur gebracht werden. Proben nach dem Auftauen vorsichtig mischen und bei Bedarf sichtbare Partikel durch Zentrifugation entfernen.
- Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben:

Alle Reagenzien und die verpackte Mikrotiterplatte vor Gebrauch auf Raumtemperatur (RT: 20-23°C) bringen. Alle Reagenzien vor Gebrauch gut durchmischen.

| | |
|---|--|
| Waschpuffer Gebrauchsverdünnung: | Waschpuffer-Konzentrat 1:10 in destilliertem oder deionisiertem Wasser (H ₂ O) verdünnen: 100mL Waschpuffer-Konzentrat + 900 ml H ₂ O. |
| MTP-Kavitäten: | Die Mikrotiterplatte (MTP) vorsichtig aus der Verpackung entnehmen und die benötigte Anzahl an Kavitäten in einen leeren Mikrotiterplattenrahmen stecken (Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes, Punkt 3). Nach Entnahme aus der Verpackung Kavitäten sofort verwenden. Nicht benötigte Kavitäten sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8°C lagern. |
| Patientenproben: | Die Patientenproben werden in einer 1:76 Verdünnung eingesetzt, z.B. 10 µl Patientenprobe + 750 µl Probenpuffer . Von der verdünnten Probe werden bei der Prozessierung 100 µl benötigt. |
| Kontrollen: | Bei Bedarf wird das positive und das negative Kontrollserum in einer 1:16 Verdünnung eingesetzt, z.B.: 10 µl Kontrollserum + 150 µl Probenpuffer . Von der verdünnten Kontrolle werden bei der Prozessierung 100 µl eingesetzt. |
| Konjugatlösung: | Gebrauchsfertig |
| Chromogen / Substratlösung: | Gebrauchsfertig |

Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes

Bei automatisierter Prozessierung können sich Inkubationszeiten, Volumina und die Reihenfolge der einzelnen Arbeitsschritte von der im Folgenden aufgeführten Arbeitsvorschrift unterscheiden. Eine detaillierte Schritt-für-Schritt Anleitung für die verwendete Automationslösung sowie eine Anleitung für die Benutzung der ViraChip® Software wird bei der Einrichtung der Geräte und Schulung durch die Viramed Biotech AG zur Verfügung gestellt. Siehe auch Abschnitt „Hinweise zu Geräten und Software“.

1. Belegen

Testauswahl und Eintrag der Probanden in den Belegungs-plan der ViraChip® Software.

2. Bestücken

Scannen der 2D-Barcodes auf den Etiketten des Test Kits und der Mikrotiterplatte, zur Übertragung der Chargennummern und der chargen-spezifischen Faktoren (lot specific factors).

3. Prozessieren

Alle Schritte der Prozessierung bei RT durchführen.

3.1 Vorbereitung

- Die gemäß der Belegung definierte Anzahl an Kavitäten in den Halterahmen setzen.
- Leere Positionen eines Riegels der Mikrotiterplatte im Halterahmen mit Leerkavitäten auffüllen. Die Riegel sind auf der Mikrotiterplatte mit 1-12 gekennzeichnet.

Darauf achten, dass beim Brechen der Riegel keine Kunststoffpartikel in die Kavitäten fallen.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

3.2 Vorinkubation

- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.3 Seruminkubation

- Gemäß dem Belegungsplan 100 µl verdünnte Patientenprobe bzw. 100 µl verdünntes Kontrollserum der entsprechenden Kavität zugeben.
- 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.4 3 x waschen

- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.5 Konjugatinkubation

- Je Kavität 100 µl Konjugatlösung zugeben.
- 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.6 3 x waschen

- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.7 1 x waschen

- Je Kavität 300 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- 1 Minute bei RT inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.8 Substratinkubation

- Je Kavität 100 µl Chromogen/Substratlösung zugeben.
- 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Stoppen: Flüssigkeit absaugen.

3.9 3 x waschen

- Je Kavität 300 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- Keine Zwischeninkubation.
- Flüssigkeit absaugen.

3.10 Kavitäten trocknen

- 20 Minuten bei maximal 60% Luftfeuchtigkeit unter kontinuierlichem Luftstrom trocknen lassen.

4. Scannen

ViraChip® Microarrays mit dem ViraChip® Scanner oder dem ViraChip® Reader messen.

5. Analysieren

5.1 Zuordnung der Antigen-Spottriplets und der Kontrollspots überprüfen (Technisch validieren)

Jeder Spot wird aufgrund seiner Position von der ViraChip® Software automatisch dem entsprechenden Antigen-Spottriolett bzw. dem entsprechendem Kontrollspot zugeordnet.

Die automatische Zuordnung muss visuell mit dem Muster entsprechend Abb. 1 überprüft werden. Zuordnungen, die nicht dem dargestellten Muster entsprechen im Feld „QC“ auf „nicht gültig“ setzen. Die entsprechende Probe muss wiederholt werden.

Absaugnadeln so einstellen bzw. Pipetten so verwenden, dass die Kavitätenböden nicht beschädigt werden.

Die Kavitätenböden müssen während der Inkubationsschritte vollständig mit Flüssigkeit bedeckt sein.

Während der Inkubations- und Waschschrte einen Orbitalschüttler, einstellbar auf eine Frequenz von ca. 750 rpm, oder einen Linearschüttler, einstellbar auf eine Frequenz von ca. 20 Hz, verwenden.

Bei höherer Luftfeuchtigkeit kann sich die Trockenzeit verlängern. Alternativ 12 Stunden lichtgeschützt bei RT trocknen lassen.

Messungen der ViraChip® Microarrays sind innerhalb von 24 Stunden nach Prozessierung durchzuführen (Mikrotiterplatte lichtgeschützt aufbewahren). Die genaue Durchführung bitte dem Geräte-Handbuch entnehmen.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

5.2 Gültigkeitsprüfung

Die Gültigkeitsprüfung wird von der ViraChip® Software automatisch durchgeführt.

Ein ViraChip® Microarray ist gültig, wenn folgende Kontrollspots die in der ViraChip® Software hinterlegten Kriterien erfüllen:

- **Serumkontrollen** (sc) über Grenzwert
- **Konjugatkontrollen IgG und IgM** (ccG und ccM) über Grenzwert.
- **Kalibratorkontrollen** (cal) über Grenzwert
- **Negativkontrolle** (nc) unter Grenzwert

Falls eines der genannten Kriterien nicht erfüllt ist, wird der ViraChip® Microarray als „nicht gültig“ klassifiziert. Nicht gültige ViraChip® Microarrays dürfen nicht ausgewertet werden und müssen wiederholt werden.

5.3 Auswertung der ViraChip® Microarrays

Die Bewertung der Patientenproben wird von der ViraChip® Software automatisch nach den im Folgenden definierten Auswertekriterien durchgeführt:

Die ViraChip® Einheiten jedes Spottriplets werden unter Berücksichtigung der chargen-spezifischen Faktoren relativ zu den Kalibratorkontrollen durch die ViraChip® Software berechnet.

Aufbau des Borrelia All-In-One ViraChip® Microarrays

Antigene:

Jedes Borrelia-spezifische Antigen, **93, 58, 45, 39, 30, 23, 21, 19, 18, 17** und **VisE**, ist drei Mal in identischer Konzentration als Spottriolett aufgetragen. Jedes Spottriolett entspricht einer Bande im Western Blot / Immunoblot.

Kontrollen:

Jede ViraChip® Kavität enthält folgende integrierten Kontrollen:

Zwei Serumkontrollen (sc), eine Negativkontrolle (nc), zwei IgG Konjugatkontrollen (ccG), zwei IgM Konjugatkontrollen (ccM) und sechs Kalibratorkontrollen (cal).

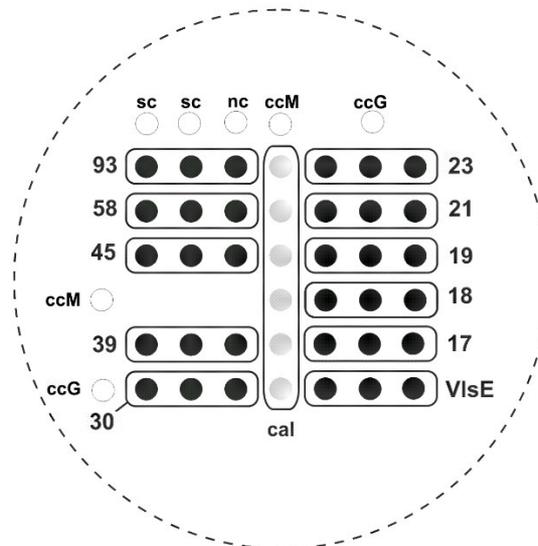


Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem Borrelia All In One ViraChip® Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottriolets für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

Cut off: Bekannte positive Proben mit unterschiedlichen Werten und bekannte negative Proben wurden getestet, um die Cut-off-Werte für jeden Antigen-Spot zu bestimmen. Spot-Triplets werden von der ViraChip® Software in Bezug auf den Cut-off-Wert berechnet.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Interpretation der Ergebnisse:

| Erster Test | | Zweiter Test | | Zwei-Test-Ergebnis |
|---|-------------|---|-------------------------|--------------------|
| Spottriplett | Ergebnis | Spottriplett | Ergebnis | |
| VisE Spottriplett ≥ 100 ViraChip® Einheiten | Positiv | Mindestens ein Spottriplett ≥ 100 ViraChip® Einheiten aus: 93, 58, 45, 39, 30, 23, 21, 19, 17 <u>oder</u> Spottriplett 18 ≥ 90 ViraChip® Einheiten | Positiv | Positiv |
| | | Kein Spottriplett ≥ 100 ViraChip® Einheiten aus: 93, 58, 45, 39, 30, 23, 21, 19, 17 <u>und</u> No spot triplet 18 ≥ 90 ViraChip® units | Negativ | Negativ |
| VisE Spottriplett ≥ 60 und < 100 ViraChip® Einheiten | Grenzwertig | Mindestens ein Spottriplett ≥ 100 ViraChip® Einheiten aus: 93, 58, 45, 39, 23, 21, 19, 17 <u>oder</u> Spottriplett 18 ≥ 90 ViraChip® Einheiten | Positiv | Positiv |
| | | Kein Spottriplett ≥ 100 ViraChip® Einheiten aus: 93, 58, 45, 39, 23, 21, 19, 17 <u>und</u> kein Spottriplett 18 ≥ 90 ViraChip® Einheiten | Negativ | Negativ |
| VisE Spottriplett < 60 ViraChip® Einheiten | Negativ | Nicht zu interpretieren | Nicht zu interpretieren | Negativ |

Einschränkungen des Untersuchungsverfahrens:

- Ein positives Testergebnis der jeweiligen Patientenprobe ist als Symptom zu werten. Interpretation und Beurteilung von Testergebnissen dürfen nur durch medizinisches Fachpersonal unter Wertung aller relevanten Daten erfolgen (14).
- Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.
- Der Nachweis von spezifischen Antikörpern kann bei Untersuchungen mit verschiedenen Testen bzw. mit verschiedenen Herstellern aufgrund von unterschiedlichen Sensitivitäten, Spezifitäten und Testmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.
- Bei Immunsuppression gilt eine eingeschränkte Beurteilbarkeit (14).
- Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (14).
- In vitro*-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.
- Präzises Befolgen der Arbeitsvorschrift ist essentiell für exakte Testergebnisse. Ungenügendes Durchführen der Waschstreps kann falsche Ergebnisse verursachen.
- Der Ansatz von Poolproben, bei denen mehrere Seren gemeinsam untersucht werden, ist unzulässig, da bei derartigen Ansätzen die Testsensitivität und -spezifität beeinträchtigt werden können.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Erwartungswerte

Die Häufigkeit von Antikörpern gegen B. burgdorferi-Antigene in verschiedenen Patientenpopulationen, die mit dem Borrelia All-In-One ViraChip® Test getestet wurden, ist in Tabelle 1 aufgeführt. Die relative Intensität jedes Antigens (Antigen:Kalibrator-Verhältnis) wurde als deutliches Signal mit den Grenzwerten (ViraChip® Einheiten ≥ 60 für VisE, ViraChip® Einheiten ≥ 90 für 18, ViraChip® Einheiten ≥ 100 für alle anderen Antigene) eingestuft. Dann wurde der Prozentsatz für jedes Antigen pro Ansatzgruppe für die deutlichen Signale berechnet.

| Borrelia All-In-One ViraChip® Spots | Antigene (Häufigkeit) | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | VisE | 93 | 58 | 45 | 39 | 30 | 23 | 21 | 19 | 18 | 17 |
| Frühe Borreliose/EM | 89.2% | 0.0% | 3.1% | 7.7% | 24.6% | 47.7% | 84.6% | 15.4% | 0.0% | 30.8% | 7.7% |
| Kardiale Borreliose | 100.0% | 0.0% | 0.0% | 33.3% | 66.7% | 66.7% | 66.7% | 66.7% | 0.0% | 66.7% | 0.0% |
| Disseminierte Borreliose | 100.0% | 0.0% | 10.5% | 31.6% | 36.8% | 63.2% | 100.0% | 36.8% | 0.0% | 68.4% | 31.6% |
| Neurologische Borreliose | 100.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 28.6% | 71.4% | 100.0% | 42.9% | 0.0% | 57.1% | 0.0% |
| Lyme Arthritis | 98.2% | 43.9% | 77.2% | 10.5% | 94.7% | 63.2% | 75.4% | 86.0% | 26.3% | 93.0% | 14.0% |
| Endemische Blutspender | 12.0%* | 0.0% | 4.0% | 1.0% | 1.0% | 42.0%* | 32.0% | 2.0% | 0.0% | 1.0% | 4.0% |
| Nicht-endemische Blutspender | 1.0% | 1.0% | 2.0% | 2.0% | 2.0% | 49.0%* | 23.0% | 0.0% | 0.0% | 1.0% | 3.0% |

* nach den Interpretationskriterien gilt p30 nur bei VisE ≥ 100 ViraChip®-Einheiten, d. h. positiver erster Test (nicht grenzwertig)

Tabelle 1: Zu erwartende Werte/Häufigkeiten deutlicher Signale für die verschiedenen Antigene in den Sensitivitäts- und Spezifitätspanels.

Leistungsdaten

Sensitivität

151 Seren wurden aus Patienten mit klinisch definierter und in Zellkultur nachgewiesene Borreliose entnommen; von diesen 151 Seren stammten 65 von Patienten mit Erythema migrans (EM), einem Frühstadium der Borreliose, 3 von Patienten mit kardialer Borreliose, 19 von Patienten mit disseminierter Borreliose, 7 von Patienten mit neurologischer Borreliose und 57 von Patienten mit Lyme-Arthritis. Die Ergebnisse des Borrelia All-In-One ViraChip® sind in Tabelle 2a/b dargestellt. Vergleiche mit dem Prädikat Borrelia STTT befinden sich in den Tabellen 2c/d.

| Stadium | Borrelia All-In-One ViraChip® Zwei-Test Ergebnis | | | | |
|--------------------------|--|-----------|-----------|----------------------|------------------------|
| | Negativ | Positiv | Total | Sensitivität | 95% Konfidenzintervall |
| Frühe Borreliose / EM | 6 | 54 | 60 | (54/60) 90.0% | (79.9-95.3%) |
| Kardiale Borreliose | 0 | 3 | 3 | (3/3) 100% | (43.9-100%) |
| Neurologische Borreliose | 0 | 7 | 7 | (7/7) 100% | (64.6-100%) |
| Lyme Arthritis | 0 | 20 | 20 | (20/20) 100% | (83.9-100%) |
| Total | 6 | 84 | 90 | (84/90) 93.3% | (86.2-96.9%) |

Tabelle 2a: Sensitivität mit klinisch definierten Borreliose-Proben (CDC-Premarketing-Panel. (8)).

| Stadium | Borrelia All-In-One ViraChip® Zwei-Test-Ergebnis | | | | |
|--------------------------|--|-----------|-----------|----------------------|------------------------|
| | Negativ | Positiv | Total | Sensitivität | 95% Konfidenzintervall |
| Frühe Borreliose / EM | 3 | 2 | 5 | (2/5) 40.0% | (11.8-76.9%) |
| Disseminierte Borreliose | 0 | 19 | 19 | (19/19) 100% | (83.2-100%) |
| Lyme Arthritis | 2* | 35 | 37 | (35/37) 94.6% | (82.3-98.5%) |
| Total | 5 | 56 | 61 | (56/61) 91.8% | (82.2-96.4%) |

Tabelle 2b: Sensitivität mit klinisch definierten Borreliose-Proben.

*Diese beiden Lyme-Arthritis-Proben VM3241-63 und VM3241-90 zeigen negative Ergebnisse als Konsens der getesteten FDA-zugelassenen IVD-Tests. Beide Proben wurden auch im Rahmen der 510(k)-Einreichung des Borrelia B31 ViraChip® IgG negativ getestet, siehe K163504, Anhang A.12.6/A.12.7

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung



| Borrelia STTT | Borrelia All-In-One ViraChip® Zwei-Test-Ergebnis | | | | |
|---------------------------------|--|-----------|-----------|----------------------|------------------------|
| | Negativ | Positiv | Total | Übereinstimmung | 95% Konfidenzintervall |
| Frühe Borreliose / EM | 6 | 54 | 60 | (43/60) 71.7% | (59.2-81.5%) |
| Negativ | 6 | 17 | 23 | (6/23) 26.1% | (12.5-46.5%) |
| Positiv | 0 | 37 | 37 | (37/37) 100% | (90.6-100%) |
| Kardiale Borreliose | 0 | 3 | 3 | (3/3) 100% | (43.9-100%) |
| Negativ | 0 | 0 | 0 | - | - |
| Positiv | 0 | 3 | 3 | (3/3) 100% | (43.9-100%) |
| Neurologische Borreliose | 0 | 7 | 7 | (6/7) 85.7% | (48.7-97.4%) |
| Negativ | 0 | 1 | 1 | (0/1) 0% | (0-79.3%) |
| Positiv | 0 | 6 | 6 | (6/6) 100% | (61.0-100%) |
| Lyme Arthritis | 0 | 20 | 20 | (20/20) 100% | (83.9-100%) |
| Negativ | 0 | 0 | 0 | - | - |
| Positiv | 0 | 20 | 20 | (20/20) 100% | (83.9-100%) |
| Total | 6 | 84 | 90 | (72/90) 80.0% | (70.6-87.0%) |

Tablelle 2c: Korrelation und prozentuale Übereinstimmung mit dem Prädikatsalgorithmus (CDC Premarketing Panel. (8)).

| Borrelia STTT | Borrelia All-In-One ViraChip® Zwei-Test-Ergebnis | | | | |
|---------------------------------|--|-----------|-----------|----------------------|------------------------|
| | Negativ | Positiv | Total | Übereinstimmung | 95% Konfidenzintervall |
| Frühe Borreliose / EM | 3 | 2 | 5 | (3/5) 60.0% | (23.1-88.2%) |
| Negativ | 1 | 0 | 1 | (1/1) 100% | (20.7-100%) |
| Positiv | 2 | 2 | 4 | (2/4) 50% | (15.0-85.0%) |
| Disseminierte Borreliose | 0 | 19 | 19 | (19/19) 100% | (83.0-100%) |
| Negativ | 0 | 0 | 0 | - | - |
| Positiv | 0 | 19 | 19 | (19/19) 100% | (83.0-100%) |
| Lyme Arthritis | 2 | 35 | 37 | (37/37) 100% | (90.6-100%) |
| Negativ | 2 | 0 | 2 | (2/2) 100% | (34.2-100%) |
| Positiv | 0 | 35 | 35 | (35/35) 100% | (90.1-100%) |
| Total | 5 | 56 | 61 | (59/61) 96.7% | (88.8-99.1%) |

Tablelle 2d: Korrelation und prozentuale Übereinstimmung mit dem Prädikatsalgorithmus (Proben mit bestätigter Borreliose).

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Leistungsdaten mit Routineproben

113 Proben aus drei kommerziellen und unabhängigen klinischen Testlabors wurden mit dem Borrelia STTT und dem Viramed Biotech AG Borrelia All-In-One ViraChip® getestet. Bei diesen Proben handelte es sich um Routineproben, die den Labors zur Untersuchung auf Borreliose zugesandt wurden. Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse für alle diese Proben.

| Borrelia STTT | Borrelia All-In-One ViraChip® Zwei-Test-Ergebnis | | | | |
|---------------|--|-----------|------------|-----------------------|------------------------|
| | Negativ | Positiv | Total | Übereinstimmung | 95% Konfidenzintervall |
| Negativ | 53 | 16 | 69 | (53/69) 76.8% | (65.6-85.2%) |
| Positiv | 3 | 41 | 44 | (41/44) 93.2% | (81.8-97.7%) |
| Total | 56 | 57 | 113 | (94/113) 83.2% | (75.2-89.0%) |

Tabelle 5: Korrelation und prozentuale Übereinstimmung mit dem Prädikatsalgorithmus

Analytische Spezifität:

Zur Bestimmung der analytischen Spezifität wurden 200 Seren von normalen Blutspendern, die endemische und nicht endemische geografische Regionen der Vereinigten Staaten repräsentieren, mit dem Borrelia All-In-One ViraChip® auf IgG- und IgM-Borrelia burgdorferi-Antikörper getestet - Tabelle 3a und Tabelle 3b:

| Panel | Borrelia All-In-One ViraChip® Zwei-Test-Ergebnis | | | | |
|------------------------------|--|----------|------------|------------------------|------------------------|
| | Negativ | Positiv | Total | Spezifität | 95% Konfidenzintervall |
| Endemische Blutspender | 95 | 5 | 100 | (95/100) 95.0% | (88.8-97.8%) |
| Nicht-endemische Blutspender | 99 | 1 | 100 | (99/100) 99.0% | (94.6-99.8%) |
| Total | 194 | 6 | 200 | (194/200) 97.0% | (93.6-98.6%) |

Table 3a: Spezifität.

| Borrelia STTT | Borrelia All-In-One ViraChip® Zwei-Test-Ergebnis | | | | |
|-------------------------------------|--|----------|------------|------------------------|------------------------|
| | Negativ | Positiv | Total | Übereinstimmung | 95% Konfidenzintervall |
| Endemische Blutspender | 95 | 5 | 100 | (95/100) 95.0% | (88.8-97.8%) |
| Negativ | 95 | 5 | 100 | (95/100) 95.0% | (88.8-97.8%) |
| Positiv | 0 | 0 | 0 | - | - |
| Nicht-endemische Blutspender | 99 | 1 | 100 | (99/100) 99.0% | (94.6-99.8%) |
| Negativ | 99 | 1 | 100 | (99/100) 99.0% | (94.6-99.8%) |
| Positiv | 0 | 0 | 0 | - | - |
| Total | 194 | 6 | 200 | (194/200) 97.0% | (93.6-98.6%) |

Tabelle 3b: Korrelation und prozentuale Übereinstimmung mit dem Prädikatsalgorithmus.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Kreuzreaktivität:

293 Seren, bei denen Antikörper gegen andere Erreger oder atypische immunologische / symptomatische Aktivitäten festgestellt wurden, sind in Tabelle 4 aufgeführt. Die Kreuzreaktivitätsdaten für Ehrlichia chaffeensis, Babesia microti, Rickettsia spp. und Borrelia hermsii könnten eine Koinfektion mit B. burgdorferi darstellen. Alle drei von Zecken übertragenen Organismen wurden an dem geografischen Ort nachgewiesen, an dem die klinischen Proben entnommen wurden. Siehe Einschränkungen für die Liste der nicht getesteten, potenziell kreuzreaktiven Organismen.

| Krankheitszustand/Seren | Borrelia All-In-One ViraChip® Zwei-Test-Ergebnis | | | |
|-------------------------|--|-----------|------------|----------------------|
| | Negativ | Positiv | Total | Kreuzreaktivität |
| Autoimmune# | 10 | 0 | 10 | (0/10) 0% |
| Babesia microti | 5 | 4 | 9 | (4/9) 44.4% |
| Borrelia hermsii* | 6 | 0 | 6 | (0/6) 0% |
| Celiac disease | 10 | 0 | 10 | (0/10) 0% |
| Chlamydia trachomatis | 14 | 1 | 15 | (1/15) 6.7% |
| CMV | 8 | 3 | 11 | (3/11) 27.3% |
| EBV | 25 | 0 | 25 | (0/25) 0% |
| Ehrlichia chaffeensis | 9 | 2 | 11 | (2/11) 18.2% |
| Fibromyalgia | 17 | 0 | 17 | (0/17) 0% |
| Helicobacter pylori | 10 | 0 | 10 | (0/10) 0% |
| HSV | 10 | 0 | 10 | (0/10) 0% |
| Influenza A | 9 | 1 | 10 | (1/10) 10.0% |
| Multiple Sklerose | 15 | 0 | 15 | (0/15) 0% |
| Leptospira interrogans | 10 | 0 | 10 | (0/10) 0% |
| Lupus | 10 | 0 | 10 | (0/10) 0% |
| Parvovirus B19 | 10 | 0 | 10 | (0/10) 0% |
| Periodontitis | 15 | 0 | 15 | (0/15) 0% |
| Rheumatoide Arthritis | 25 | 0 | 25 | (0/25) 0% |
| Rickettsia spp.* | 8 | 2 | 10 | (2/10) 20.0% |
| Rubella virus | 9 | 1 | 10 | (1/10) 10.0% |
| Toxoplasma gondii | 9 | 1 | 10 | (1/10) 10.0% |
| Treponema pallidum | 23 | 2 | 25 | (2/25) 8.0% |
| VZV | 8 | 1 | 9 | (1/9) 11.1% |
| Total | 275 | 18 | 293 | (18/293) 6.1% |

*) Mögliche Koinfektion mit B. burgdorferi.

#) Extractable Nuclear Antigens (ENA) ist keine Infektionskrankheit, kann aber Autoimmunantikörper mit unterschiedlicher bekannter und unbekannter Spezifität erzeugen.

Tabelle 4: Kreuzreaktivität-Prüfung.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Reproduzierbarkeit

Inter-Chargen-Reproduzierbarkeit

Acht Proben wurden mit dem Borrelia All-In-One ViraChip® in zwei Wiederholungen auf drei verschiedenen Produktionschargen getestet, was insgesamt sechs Testungen für jede Probe ergibt. Die Proben wurden auf der Grundlage von FDA-zugelassenen B. burgdorferi-ELISA-Ergebnissen ausgewählt, darunter eine schwach negative, eine moderat negative und eine hoch negative Probe sowie eine schwach positive, zwei moderat positive und eine hoch positive Probe. Die relative Intensität jedes Antigens (Antigen:Kalibrator-Verhältnis) wurde als eindeutiges Signal mit den Schwellenwerten (ViraChip®-Einheiten ≥ 60 für VlsE, ViraChip®-Einheiten ≥ 90 für 18, ViraChip®-Einheiten ≥ 100 für alle anderen Antigene) eingestuft.

| Probe | Screen ELISA | Reaktivität | Test- ergebnis N=48 | VlsE | 93 | 58 | 45 | 39 | 30 | 23 | 21 | 19 | 18 | 17 |
|--------|--------------------|----------------------------|---------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| VM2540 | Hoch Positiv | Pos Testergebnis | 6 | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnis | 0 | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 6 | 0 | 4 | 0 | 6 | 6 | 6 | 6 | 0 | 6 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 67% | 0% | 100% | 100% | 100% | 100% | 0% | 100% | 0% |
| VM3563 | Mod. Positiv | Pos Testergebnis | 6 | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnis | 0 | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 6 | 0 | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 100% | 0% | 100% | 0% | 100% | 100% | 100% | 100% |
| VM3249 | Mod. Positiv | Pos Testergebnis | 6 | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnis | 0 | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 6 | 6 | 6 | 0 | 6 | 0 | 0 | 6 | 0 | 6 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 100% | 100% | 0% | 100% | 0% | 0% | 100% | 0% | 100% | 0% |
| VM3254 | Mod. Positiv | Pos Testergebnisse | 6 | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 6 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 6 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 0% | 67% | 0% | 100% | 17% | 0% | 33% | 0% |
| VM4321 | Niedrig Positiv | Pos Testergebnis | 6 | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnis | 0 | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| VM3075 | Hoch Negativ | Pos Testergebnis | 0 | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnis | 6 | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 0% | 0% | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| VM2701 | Mod. Negativ | Pos Testergebnis | 0 | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnis | 6 | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| VM3931 | Niedrig Negativ | Pos Testergebnis | 0 | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnis | 6 | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |

Tabelle 6: Inter-Charge Reproduzierbarkeit

Viramed Biotech AG Borrelia All-In-One ViraChip® Charge-zu-Charge Reproduzierbarkeit der Testergebnisse = 100%.

3018_Borrelia_All_In_One_ViraChip®_AL_de

Manufactured by Viramed Biotech AG, Behringstrasse 11, 82152 Planegg, Germany.

Produkt-Nr.: V-BTCFOK / V-BTCFDK

© Copyright VIRAMED Biotech AG – Januar 2022

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Reproduzierbarkeit

Acht Proben wurden mit dem Borrelia All-In-One ViraChip® in drei Wiederholungen von zwei Anwendern in fünf unabhängigen Prozessierungen getestet, was insgesamt 30 Testungen für jede Probe ergab. Die Proben wurden auf der Grundlage der von der FDA zugelassenen B. burgdorferi-ELISA-Ergebnisse ausgewählt, darunter eine schwach negative, eine moderat negative und eine hoch negative Probe sowie eine schwach positive, zwei moderat positive und eine hoch positive Probe. Die relative Intensität jedes Antigens (Antigen:Kalibrator-Verhältnis) wurde als eindeutiges Signal mit den Schwellenwerten (ViraChip®-Einheiten ≥ 60 für VlsE, ViraChip®-Einheiten ≥ 90 für 18, ViraChip®-Einheiten ≥ 100 für alle anderen Antigene) eingestuft.

| Probe | Screen ELISA | Reaktivität | Test- ergebnis N=240 | VlsE | 93 | 58 | 45 | 39 | 30 | 23 | 21 | 19 | 18 | 17 | |
|--------|--------------|----------------------------|----------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----|
| VM2540 | Hoch Pos | Pos Testergebnisse | 30 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 30 | 0 | 30 | 0 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 6 | 30 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 100% | 0% | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% | 20% | 100% | 0% |
| VM3563 | Mod. Pos | Pos Testergebnisse | 30 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 30 | 0 | 0 | 30 | 0 | 30 | 0 | 27 | 30 | 30 | 30 | |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 100% | 0% | 100% | 0% | 90% | 100% | 100% | 100% | |
| VM3249 | Mod. Pos | Pos Testergebnisse | 30 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 30 | 30 | 30 | 0 | 30 | 0 | 0 | 30 | 1 | 30 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 100% | 100% | 0% | 100% | 0% | 0% | 100% | 3% | 100% | 0% | |
| VM3254 | Mod. Pos | Pos Testergebnisse | 30 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 30 | 0 | 0 | 0 | 30 | 0 | 30 | 6 | 0 | 30 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 0% | 100% | 0% | 100% | 20% | 0% | 100% | 0% | |
| VM4321 | Niedrig Pos | Pos Testergebnisse | 30 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | |
| VM3075 | Hoch Neg | Pos Testergebnisse | 2 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 28 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 2 | 0 | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 7% | 0% | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | |
| VM2701 | Mod. Neg | Pos Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 30 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | |
| VM3931 | Low Neg | Pos Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 30 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | |

Tabelle 7: Reproduzierbarkeit

Viramed Biotech AG Borrelia All-In-One ViraChip® Reproduzierbarkeit der Testergebnisse = 99.2%.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Präzision / Wiederholgenauigkeit

Acht Proben wurden mit dem Borrelia All-In-One ViraChip® in zwei Wiederholungen von zwei Anwendern in 12 unabhängigen Prozessierungen getestet, was insgesamt 48 Tests für jede Probe ergab. Die Proben wurden auf der Grundlage von FDA-zugelassenen B. burgdorferi-ELISA-Ergebnissen ausgewählt, darunter eine niedrig, eine moderat und eine hoch negative Probe sowie eine niedrig, zwei moderat und eine hoch positive Probe. Die relative Intensität jedes Antigens (Antigen:Kalibrator-Verhältnis) wurde als eindeutiges Signal mit den Schwellenwerten (ViraChip®-Einheiten ≥ 60 für VlsE, ViraChip®-Einheiten ≥ 90 für 18, ViraChip®-Einheiten ≥ 100 für alle anderen Antigene) eingestuft.

| Probe | Screen ELISA | Reaktivität | Test- ergebni- s N= | VlsE | 93 | 58 | 45 | 39 | 30 | 23 | 21 | 19 | 18 | 17 | |
|--------|--------------|----------------------------|------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| VM2540 | Hoch Pos | Pos Testergebnisse | 48 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 48 | 0 | 45 | 0 | 48 | 48 | 48 | 48 | 48 | 10 | 48 | 0 |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 94% | 0% | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% | 21% | 100% | 0% |
| VM3563 | Mod. Pos | Pos Testergebnisse | 48 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 48 | 0 | 0 | 48 | 0 | 48 | 0 | 45 | 48 | 48 | 48 | 48 |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 100% | 0% | 100% | 0% | 94% | 100% | 100% | 100% | 100% |
| VM3249 | Mod. Pos | Pos Testergebnisse | 48 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 48 | 48 | 48 | 0 | 48 | 0 | 0 | 48 | 0 | 48 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 100% | 100% | 0% | 100% | 0% | 0% | 100% | 0% | 100% | 0% | |
| VM3254 | Mod. Pos | Pos Testergebnisse | 48 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 48 | 0 | 0 | 0 | 46 | 0 | 48 | 5 | 0 | 48 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 0% | 96% | 0% | 100% | 10% | 0% | 100% | 0% | |
| VM4321 | Niedrig Pos | Pos Testergebnisse | 48 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | |
| VM3075 | Hoch Neg | Pos Testergebnisse | 6 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 42 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 6 | 0 | 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 13% | 0% | 100% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | |
| VM2701 | Mod. Neg | Pos Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 48 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | |
| VM3931 | Niedrig Neg | Pos Testergebnisse | 0 | | | | | | | | | | | | |
| | | Neg Testergebnisse | 48 | | | | | | | | | | | | |
| | | Deutliche Signale | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | % deutliche Signale | | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | |

Tabelle 8: Präzision / Wiederholgenauigkeit.

Viramed Biotech AG Borrelia All-In-One ViraChip® Prozentualer Anteil der Präzision = 98,4%.

Borrelia All-In-One ViraChip® Test Kit

Gebrauchsanweisung

Hinweise zu Geräten und Software:

1. Bei automatisierter Durchführung müssen für den jeweiligen Prozessortyp von Viramed Biotech AG validierte Arbeitsschritte programmiert und verwendet werden.
2. Bei Verwendung von prozessorspezifischen Verbrauchsmaterialien sind die entsprechenden Konfigurationen nach Herstellerangaben von Viramed Biotech AG freizugeben.
3. Die von Viramed Biotech AG bereitgestellte Geräte- und Softwarekonfiguration darf nicht verändert werden. Jegliche Änderung kann falsche Ergebnisse verursachen.
4. Es ist ausschließlich gerätespezifische Software zu verwenden. Änderungen an Konfigurationsdateien dürfen nur von Viramed Biotech AG durchgeführt werden.
5. Als Messgeräte sind nur von Viramed Biotech AG zugelassene Systeme zu verwenden.
6. Die Auswertung der ViraChip® Microarrays erfolgt ausschließlich über die ViraChip® Software. Eine manuelle/visuelle Auswertung ist nicht möglich.

Literatur

1. Aguero-Rosenfeld M., et al., J of Clinical Microbiology. 1996; 1–9.
2. Bakken, L.L., et al., J of Clinical Microbiology. 1997; 35:537-54.
3. Bates, H.M., Lab Mgmt. 1984, 22:19-24.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Morbid. Mortal. Weekly. Rep., 1995; 44:590-591.
5. Hansen, K., et al., Infection and Immunity. 1988; 56:2047-2053.
6. Magnarelli, L.A., et al., J of Clinical Microbiology. 1990; 1276-1279.
7. Mead, P., et al., MMWR / August 16, 2019 / Vol. 68 / No. 32.
8. Molins, C., et al., J of Clinical Microbiology 2014; Vol 52, No. 10: 3755–3762.
9. Raoult D., et al., J of Clinical Microbiology. 1989, 2152-2155.
10. Rosenfeld, M.E.A., J. Clin. Microbiol. 1993; 31:3090-3095.
11. Shrestha, M., et al., Am. J. Med. 1985; 78:235-240.
12. Steere, A.C., et al., N Engl J Med. 1983; 308:733-740.
13. Steere, A.C., et al., J Infect. Dis. 1986; 154:295-300.
14. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
15. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009

Symbolerklärungen:

| | | | |
|---|------------------------------|---|---|
|  | Hersteller |  | Bestell-Nummer |
|  | Gebrauchsanweisung beachten |  | Verwendbar bis / Mindesthaltbarkeitsdatum |
|  | <i>In-Vitro</i> Diagnostikum |  | Temperaturbegrenzung (Lagerung) |
|  | Chargen-Nummer |  | Positives Kontrollserum |
|  | Ausreichend für 96 Ansätze |  | Negatives Kontrollserum |