

Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Test Kit

Stripe-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgM** Antikörpern gegen spezifische **Borrelia spezie**s Antigene in humanem Serum oder Liquor. Für die Durchführung des **Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Test Kit** mit Liquor (CSF) als Probenmaterial ist die entsprechende separat erhältliche Arbeitsanleitung zu beachten.

Der Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Test Kit ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Line/Stripe Format, bei dem aufgereinigte spezifische native Antigene aus *Borrelia afzelii* (Pko) und *Borrelia burgdorferi sensu stricto* sowie rekombinantes VisE verwendet werden. Der Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Test Kit ist nach den Richtlinien **98/79/EG** und **DIN 58967-40** hergestellt.

Der Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Test Kit erfüllt die Anforderungen von Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik („**MiQ**“ **12/2000**) und der allgemeinen DIN Empfehlung (**DIN 58967-40**). Er kann nach den „**MiQ**“ **12/2000** (18) und den **DIN 58969-44** (5) Kriterien, die ein Ein-Banden-Kriterium für ein positives Ergebnis sowie die speziellen Anforderungen für den Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* beinhalten, ausgewertet werden.

Testprinzip

Borrelia-spezifische IgM Antikörper binden während der Seruminkubation an das fixierte Antigen auf dem Teststreifen. Während der Konjugatreaktion bindet das AP-Konjugat an den Antigen-Antikörper-Komplex. Die Alkalische Phosphatase setzt das Chromogen/Substrat um und färbt damit den Antigen-Antikörper-Komplex auf dem Teststreifen lila an. Die Waschschritte nach der Seruminkubation, der Konjugatinkubation und der Chromogen/Substrat-Inkubation entfernen ungebundene Antikörper und Reagenzien.

Die grüne Trennlinie teilt den Teststreifen in einen Kontrollabschnitt und einen Analytabschnitt. Im Kontrollabschnitt befinden sich die **Negativkontrollbande**, die **Serumkontrolle**, **drei Konjugatkontrollen** (IgG, IgA, IgM) und die **Cut off Kontrolle**.

Der Teststreifencode für die Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Teststreifen ist **OM**. Die Teststreifen sind von **01** bis **50** nummeriert. Im Analytabschnitt befinden sich die Borrelia-spezifischen Antigene.

Best.-Nr.:	V-BOSMOK	Best.-Nr.:	V-BOSMDK (Decakit)
Packungsgröße:	1x 50 Teststreifen	Packungsgröße:	10x 50 Teststreifen
Probenmaterial:	20 µl Serum	Probenmaterial:	20 µl Serum
Testdauer:	ca. 90 Minuten	Testdauer:	ca. 90 Minuten

Kitinhalt

1x bzw. 10x 50 Teststreifen	Borrelia + OspA/B ViraStripe® Antigen Strips (IgM) Teststreifen mit Kontrollabschnitt und Borrelia-spezifischen Antigenen im Analytabschnitt, gebrauchsfertig	(Prod.-Nr.: V-BOSMAS)
1x bzw. 10x 9 ml	ViraStripe® / ViraBlot® AP-Anti-Human IgM Conjugate Konjugat-Konzentrat, Ziege	(Best.-Nr.: V-UVNMKI)
1x bzw. 10x 100 ml	ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Buffer Proben-/Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach	(Best.-Nr.: V-UVNUWP)
1x bzw. 10x 5 g	ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Powder Proben-/Waschpuffersalz	(Best.-Nr.: V-UVNUMP)
1x bzw. 10x 90 ml	ViraStripe® / ViraBlot® Chromogen / Substrate Solution Chromogen/Substratlösung, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVNUCS)
1 bzw. 10 Exemplare	Auswerteprotokolle Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Test Kit	

Zusätzlich separat lieferbar

330 µl	Borrelia ViraStripe® IgM Positive Control IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-BSSMPK)
330 µl	Borrelia ViraStripe® IgG,A,M Negative Control IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-BSSPNK)
50 Exemplare	Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Auswerteprotokolle für die automatisierte Auswertung mit der ViraScan® Software	(Best.-Nr.: V-BOSMEP)

Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben

Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-25°C) bringen. Informationen zur Haltbarkeit finden Sie auf Seite 5.

Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung **Proben-/Waschpuffer-Konzentrat 1:10** in destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen (100 ml Konzentrat + 900 ml Wasser). Anschließend Proben-/Waschpuffersalz komplett zugeben und solange mischen, bis sich das Pulver vollständig aufgelöst hat. Eventuell 10-15 Minuten auf einen Magnetrührer stellen. Der pH-Wert sollte um pH 7,5 bei 20°C liegen.

Teststreifen: Benötigte Teststreifen vorsichtig mit der **Pinzette** an der **Beschriftung** fassen, vom Steg lösen und in die vorbereitete Inkubationswanne legen (Arbeitsvorschrift Punkt 2). Nach Entnahme aus der Verpackung sofort verwenden. Teststreifen nicht mit den Fingern berühren. Nicht benötigte Teststreifen sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8°C lagern.

Patientenproben: Pro Ansatz werden **20 µl Patientenserum** unverdünnt eingesetzt.

Kontrollen: Pro Ansatz werden je **100 µl** des **positiven Kontrollserums** sowie des **negativen Kontrollserums** unverdünnt eingesetzt.

Konjugat-Gebrauchsverdünnung: **Konjugat-Konzentrat 1:10** mit Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung ansetzen (siehe Tabelle 1). Vor jedem Testansatz frisch ansetzen. Nicht aufbewahren.

Chromogen/Substratlösung: Gebrauchsfertig.

Herstellung der Konjugat-Gebrauchsverdünnung IgM

Anzahl Streifen	Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung	Konjugat-Konzentrat	Endvolumen	Anzahl Streifen	Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung	Konjugat-Konzentrat	Endvolumen		
1	1,35 ml	+	0,15 ml	1,5 ml	26	35,10 ml	+	3,90 ml	39,0 ml
2	2,70 ml	+	0,30 ml	3,0 ml	27	36,45 ml	+	4,05 ml	40,5 ml
3	4,05 ml	+	0,45 ml	4,5 ml	28	37,80 ml	+	4,20 ml	42,0 ml
4	5,40 ml	+	0,60 ml	6,0 ml	29	39,15 ml	+	4,35 ml	43,5 ml
5	6,75 ml	+	0,75 ml	7,5 ml	30	40,50 ml	+	4,50 ml	45,0 ml
6	8,10 ml	+	0,90 ml	9,0 ml	31	41,85 ml	+	4,65 ml	46,5 ml
7	9,45 ml	+	1,05 ml	10,5 ml	32	43,20 ml	+	4,80 ml	48,0 ml
8	10,80 ml	+	1,20 ml	12,0 ml	33	44,55 ml	+	4,95 ml	49,5 ml
9	12,15 ml	+	1,35 ml	13,5 ml	34	45,90 ml	+	5,10 ml	51,0 ml
10	13,50 ml	+	1,50 ml	15,0 ml	35	47,25 ml	+	5,25 ml	52,5 ml
11	14,85 ml	+	1,65 ml	16,5 ml	36	48,60 ml	+	5,40 ml	54,0 ml
12	16,20 ml	+	1,80 ml	18,0 ml	37	49,95 ml	+	5,55 ml	55,5 ml
13	17,55 ml	+	1,95 ml	19,5 ml	38	51,30 ml	+	5,70 ml	57,0 ml
14	18,90 ml	+	2,10 ml	21,0 ml	39	52,65 ml	+	5,85 ml	58,5 ml
15	20,25 ml	+	2,25 ml	22,5 ml	40	54,00 ml	+	6,00 ml	60,0 ml
16	21,60 ml	+	2,40 ml	24,0 ml	41	55,35 ml	+	6,15 ml	61,5 ml
17	22,95 ml	+	2,55 ml	25,5 ml	42	56,70 ml	+	6,30 ml	63,0 ml
18	24,30 ml	+	2,70 ml	27,0 ml	43	58,05 ml	+	6,45 ml	64,5 ml
19	25,65 ml	+	2,85 ml	28,5 ml	44	59,40 ml	+	6,60 ml	66,0 ml
20	27,00 ml	+	3,00 ml	30,0 ml	45	60,75 ml	+	6,75 ml	67,5 ml
21	28,35 ml	+	3,15 ml	31,5 ml	46	62,10 ml	+	6,90 ml	69,0 ml
22	29,70 ml	+	3,30 ml	33,0 ml	47	63,45 ml	+	7,05 ml	70,5 ml
23	31,05 ml	+	3,45 ml	34,5 ml	48	64,80 ml	+	7,20 ml	72,0 ml
24	32,40 ml	+	3,60 ml	36,0 ml	49	66,15 ml	+	7,35 ml	73,5 ml
25	33,75 ml	+	3,75 ml	37,5 ml	50	67,50 ml	+	7,50 ml	75,0 ml

Tabelle 1: Konjugat-Konzentrat 1:10 mit Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung ansetzen

Arbeitsvorschrift

- Inkubationswanne mit jeweils ca. 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung spülen, Puffer abgießen**
Inkubationswanne mit einem wasserunlöslichen Stift beschriften. Das Spülen entfernt Staubpartikel.
 - Die gewünschte Anzahl an Teststreifen in die Inkubationswanne legen - ein Teststreifen pro Rinne**
Pro Patienten- bzw. Kontrollserum je einen Teststreifen vorsichtig mit einer Pinzette an der Beschriftung fassen, vom Steg lösen und in die Inkubationswanne legen. **Die Seite mit der grünen Trennlinie und der Beschriftung muss nach oben weisen.**
 - Je 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben und 5 Minuten bei Raumtemperatur (RT) auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen. Überlaufen vermeiden. **Puffer nicht abgießen.**
 - Je 20 µl Patientenserum bzw. 100 µl Kontrollserum zugeben**
Seren direkt im Bereich der Beschriftung auf dem Teststreifen zugeben. Darauf achten, dass der Schüttler läuft, bzw. die Inkubationswanne nach jeder Serumzugabe schwenken.
 - 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
 - Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklopfen. **Beim Abgießen bleiben die Teststreifen am Inkubationswannenboden haften.**
 - 3 x waschen:**
- je 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren
- Flüssigkeit abgießen
Auf dem Schüttler. Restliche Flüssigkeit gut auf Filterpapier abklopfen.
 - Je 1,5 ml frische Konjugat-Gebrauchsverdünnung zugeben**
Darauf achten, dass die Teststreifen vollständig mit Konjugat-Gebrauchsverdünnung bedeckt sind.
 - 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
 - Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklopfen.
 - 3 x waschen wie in Punkt 7**
Auf dem Schüttler.
 - Je 1,5 ml destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben und 1 Minute bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
 - Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklopfen.
 - Je 1,5 ml Chromogen/Substratlösung zugeben**
Darauf achten, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind.
 - Bei RT auf dem Schüttler entwickeln**
Sobald die Cut off Kontrolle sichtbar ist, muss die Reaktion abgestoppt werden. **Die Cut off Kontrolle befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen. Achtung:** Zu langes Entwickeln verursacht Hintergrundfärbung.
- Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM: ca. 5 bis 15 Minuten**
- Stoppen: Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklopfen.
 - 3 x mit je 1,5 ml dest. oder deionisiertem Wasser spülen**
Ohne Zwischeninkubation.
 - Teststreifen trocknen lassen und auswerten**
Inkubationswanne gut abklopfen. Teststreifen auf Filterpapier oder saugfähiges, ungebleichtes Papier legen und trocknen lassen.

Auswertung

- Auswerteprotokoll:** Daten in das Auswerteprotokoll aufnehmen. Die entwickelten Teststreifen auf das Auswerteprotokoll kleben. Dabei die grüne Trennlinie der Teststreifen exakt auf die im Protokoll vorgedruckte Trennlinie legen.
- Gültigkeit der Teststreifen:** Ein Teststreifen ist gültig, wenn folgende Banden sichtbar sind:
 - Die **Serumkontrolle**.
 - Die **Konjugatkontrolle** der untersuchten Konjugatklasse. Falls mehr als eine der drei Konjugatkontrollen auftreten, muss die stärkste Bande der untersuchten Konjugatklasse entsprechen.
 - Die **Cut off Kontrolle**.**und** wenn folgende Bande **nicht** sichtbar ist:
 - Die **Negativkontrollbande**.
 Ungültige Teststreifen nicht auswerten!
- Zuordnung der Antigenbanden:** Die grüne Trennlinie des Teststreifens gibt die Orientierung für die Zuordnung der Antigenbanden zu dem Bandlocator auf dem Auswerteprotokoll an. Banden zuordnen und entsprechend Punkt 4 protokollieren.
- Bandenbewertung:** Entsprechend den Qualitätsrichtlinien im Labor soll pro Testansatz eine Cut off Kontrolle mitgeführt werden (16). **Die Cut off Kontrolle für den Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen.** Die Intensität der Cut off Kontrolle gibt den Schwellenwert an, ab dem eine Bande gewertet wird: Eine Bande wird als **deutlich** gewertet, wenn die Intensität **gleich** oder **größer** als die Intensität der Cut off Kontrolle ist. Entsprechende Banden werden im Auswerteprotokoll mit **X** gekennzeichnet. Eine Bande wird nicht gewertet, wenn sie **nicht vorhanden** ist oder wenn ihre Intensität **kleiner** als die Intensität der Cut off Kontrolle ist.
- Beurteilung der Patientenbanden:** Die Patientenbanden sind als Krankheitssymptome zu werten. Eine endgültige Diagnose sollte immer unter Wertung von Anamnese, Klinik und Labordaten erfolgen (24). „Falls das Muster der reaktiven Banden die festgelegten Bedingungen erfüllt, ist das Ergebnis positiv, d.h. der positive Befund eines ELISAs oder eines anderen Tests der ersten Stufe wurde bestätigt. Falls die Kriterien für ein positives Ergebnis nicht erfüllt sind, aber spezifische diagnostische Banden vorliegen, ist das Ergebnis „fraglich“. In diesem Fall wird ggf. eine Verlaufskontrolle empfohlen.“ (18) Als **hochspezifisch** für Borrelia spezies gelten die Banden folgender Antigene: **p41** (bedingt spezifisch), **p39**, **OspC**, **Osp17** und **VisE**.

IgM Interpretationskriterien

Allgemein gilt: Deutliche Banden müssen eine Mindestintensität aufweisen (\geq Cut off), die anhand der Cut off Kontrolle zu bestimmen ist. Die Cut off Kontrolle befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen.

Auftretende Banden	Ergebnis	Beurteilung
Mindestens eine deutliche Bande aus ^{*1)} : p39, OspC, Osp17, VisE oder p41 stärker als Cut off	Positiv	Spezifische Antikörper gegen Borrelia spezies nachweisbar. Eine Borrelia spezies Infektion ist wahrscheinlich.
Keine deutliche(n) Bande(n) aus ^{*1)} : p39, OspC, Osp17, VisE oder p41 gleich Cut off	Negativ	Keine spezifischen Antikörper gegen Borrelia spezies nachweisbar. Bei Verdacht auf eine Infektion nach 2 bis 3 Wochen eine zweite Probe auf IgM- und IgG-spezifische Antikörper untersuchen.
Eine deutliche OspA Bande	*2)	Antikörper gegen OspA nachweisbar.
Eine deutliche OspB Bande	*2)	Antikörper gegen OspB nachweisbar.

*1) Die Banden entsprechen den in der „**MiQ**“ 12/2000 bzw. **DIN 58969-44** angegebenen Proteinen für die Bewertung von Borrelia IgM Immunoblots mit dem Ein-Banden-Kriterium

*2) Wenn das Ergebnis entsprechend der Interpretation der Banden p41, p39, OspC, Osp17 und VisE negativ ist, aber zusätzlich Antikörper gegen **OspA** und/oder **OspB** nachweisbar sind, kann das Ergebnis nach den Anforderungen der „**MiQ**“ 12/2000 als fraglich eingestuft werden.

IgM Teststreifen

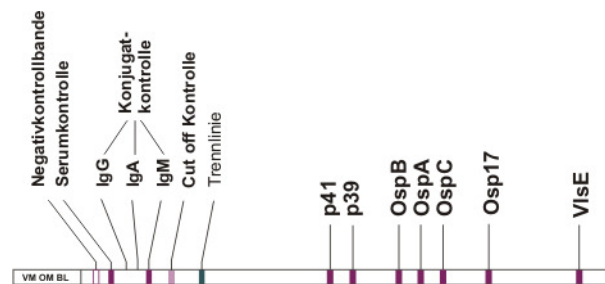


Abbildung 1: Schematische Abbildung eines Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Teststreifens in Originalgröße.

Nomenklatur und Beschreibung der Borrelia spezies Banden aus der Literatur

Bandennomenklatur:	Antigen:	Bemerkungen:
VisE	Spezifisch VisE (Variable major protein (VMP) like sequence <u>E</u> xpressed)	Antikörper gegen VisE werden als spezifisch beschrieben. IgG Antikörper gegen VisE werden bereits im Frühstadium gebildet und bleiben bis zum Spätstadium erhalten. IgM Antikörper gegen VisE werden ebenfalls bereits im Frühstadium gebildet, jedoch ist ihr serologischer Nachweis deutlich seltener (9).
p41	Bedingt spezifisch Flagellin-Protein	Bekannt sind Kreuzreaktionen mit anderen Spirochäten und anderen geißeltragenden Bakterien (2,15,22,23).
p39	Hochspezifisch BmpA (Borrelia <u>m</u> embrane protein <u>A</u>)	Antikörper gegen p39 lassen sich bei vielen Patienten schon im Frühstadium der Erkrankung nachweisen (1,15).
OspB	Spezifisch OspB (<u>O</u> uter <u>s</u> urface protein <u>B</u>)	Antikörper gegen OspB werden eher im Spätstadium gebildet, jedoch nur bei wenigen Patienten (1,15,22).
OspA	Spezifisch OspA (<u>O</u> uter <u>s</u> urface protein <u>A</u>)	Antikörper gegen OspA werden häufig mit Lyme-Arthritis (Stadium III) assoziiert. OspA gilt als Impfkandidat (12,15,21,22).
OspC	Hochspezifisch OspC (<u>O</u> uter <u>s</u> urface protein <u>C</u>)	Es sind mindestens 13 verschiedene Immuntypen von OspC bekannt. IgM Antikörper gegen OspC sind bei vielen Patienten als erste Borrelien spezifische Antikörper nachweisbar und können zeitlich vor den IgM Antikörpern gegen p41 auftreten (1,8,12,13, 21,22).
Osp17	Spezifisch Osp17 (<u>O</u> uter <u>s</u> urface protein <u>17</u>)	Bindung an Decorin auf der Wirtszelle: Antikörper gegen Osp17 wurden als spezifisch beschrieben. Auftreten u.a. bei Arthritis und Neuroborreliose im IgG. Spezies-spezifisch (9,10,19).

Diagnostische Bedeutung von Borrelia spezies Antikörpern

- IgG Antikörper** werden einige Wochen bis Monate nach Infektion erstmals gebildet und sind im Frühstadium einer Infektion oft noch nicht nachweisbar (22). Bei Verdacht auf frische Infektion sollte eine IgM Bestimmung durchgeführt werden und zu einem späteren Zeitpunkt eine zweite Serumprobe untersucht werden. Patienten im zweiten oder dritten Krankheitsstadium sind meist positiv für IgG Antikörper. Bei Rekonvaleszenz sinken die Titer allmählich (22).
- IgM Antikörper** treten im Allgemeinen etwa 2-3 Wochen nach Erkrankungsbeginn erstmals auf (22). Die Titer sinken häufig einige Wochen bis Monate nach Rekonvaleszenz ab. Sie können aber auch bis zu mehreren Jahren persistieren (7,11, 20).
- IgA Antikörper** können bei vielen Patienten im Frühstadium einer Borreliose nachweisbar sein; in einigen Fällen vor den IgM Antikörpern.
- Die Antikörperantwort und somit das Bandenmuster unterscheidet sich von Patient zu Patient. Ganz allgemein gilt, dass die Anzahl der Antikörpertypen bzw. die Zahl der Banden mit der Dauer der Erkrankung zunimmt (1).
- Eine frühzeitige Therapie mit Antibiotika kann die Bildung von Antikörpern unterdrücken (17).
- Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (24).
- Kreuzreaktionen mit Borrelien-Antigenen sind bei Infektionen mit Treponema-, Leptospira und anderen beißelnden Bakterien bekannt (2,15,22). Eine akute EBV Infektion kann zu polyklonaler Stimulierung von Borrelien Antikörpern führen (22). Treten OspC oder p41 IgM Antikörper ohne klinische Korrelation zur Borreliose auf, ist auf eine EBV Infektion hin zu untersuchen. Kreuzreaktionen mit Autoimmunerkrankungen, MS, ALS, Influenza und Syphilis sind ebenfalls beschrieben.

IgM Leistungsdaten

Sensitivität*

Aus 156 Seren von Patienten mit den Lyme Borreliose Manifestationen Erythema migrans, Erythema chronicum migrans, multiple Erythemata migrantia, Acrodermatitis chronica atrophicans, Lyme-Arthritis und Neuroborreliose wurde die Sensitivität des Borrelia ViraStripe® IgM Test Kit bestimmt.

Lyme Borreliose Stadium	Borrelia ViraStripe® IgM, % (n)	Borrelia ViraStripe® IgG / IgM, % (n)
Erythema migrans (n= 29)	69% (20)	79% (23)
Multiple Erythemata migrantia (n= 13)	77% (10)	85% (11)
Erythema chronicum migrans (n= 27)	52% (14)	96% (26)
Neuroborreliose (n= 24)	75% (18)	96% (23)
Acrodermatitis chronica atrophicans (n= 34)	53% (18)	97% (33)
Lyme-Arthritis (n= 29)	66% (19)	100% (29)

Spezifität*

Zur Bestimmung der Spezifität des Borrelia ViraStripe® IgM Test Kit wurden 129 Blutspenderseren aus Süddeutschland untersucht, die negative Ergebnisse im Referenztest (Borrelia „MiQ“ + VlsE ViraBlot® IgG und IgM Test Kit) aufwiesen.

Kollektiv	Borrelia ViraStripe® IgM, % (n)	Borrelia ViraStripe® IgG / IgM, % (n)
Blutspender (n= 129)	98% (126)	97% (125)

*) Bei der Berechnung von Sensitivität und Spezifität wurden die Reaktivitäten der Borrelia ViraStripe® IgM Banden entsprechend „MiQ“ 12/2000 bzw. DIN 58969-44 als Grundlage verwendet. Die Banden OspA und OspB wurden nicht berücksichtigt. Der Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM weist identische Banden wie der Borrelia ViraStripe® IgM auf, zuzüglich der Banden OspA und OspB.

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. Allgemein sollten beim Umgang mit biologischen und chemischen Arbeitsstoffen die Richtlinien zur „Guten Laborpraxis (GLP)“ angewendet werden. Allgemeine Hygienemaßnahmen sind unter anderem:

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Einweg-Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken oder rauchen.

3. Die Chromogen/Substratlösung enthält BCIP und NBT. Berührung mit Haut und Schleimhäuten 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 Labortechniken zu dekontaminieren, z.B. durch ein mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C bei feuchter Hitze. 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. Bitte beachten Sie die Angaben in den Sicherheitsdatenblättern 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.

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

1. **Teststreifen:** Verschlossen in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

2. **Konjugat-Konzentrat:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

3. **Konjugat-Gebrauchsverdünnung:** Vor jedem Testansatz frisch ansetzen. Nicht aufbewahren.

4. **Proben-/Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

5. **Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** Bei 2-8°C ca. 2 Wochen haltbar. Bei längerer Aufbewahrung kann die Gebrauchsverdünnung aliquotiert bei -20°C eingefroren werden.

6. **Proben-/Waschpuffersalz:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

7. **Chromogen/Substratlösung:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum. Vor Lichteinfall schützen!

Hinweise zum Probenmaterial

1. Der **Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Test Kit** ist mit Serum oder Liquor als Probenmaterial durchzuführen.

2. Es sind nur klare, nicht-hämolytierte und nicht mikrobiell kontaminierte Proben zu verwenden.

3. Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu falschen Ergebnissen führen.

4. In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung sind die Proben in Aliquots bei -20°C (oder kälter) einzufrieren.

5. 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.

6. Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Borrelia + OspA/B ViraStripe® IgM Test Kit

- 6 -

Einschränkungen des Verfahrens

1. Um ein exaktes Testergebnis zu erhalten, müssen die Gebrauchsanweisung und „Good Laboratory Practice“ genau eingehalten werden.
2. Ein positives Testergebnis wird aufgrund erhöhter spezifischer Antikörpertiter erreicht und ist wie ein Symptom zu werten. Der Rückschluss auf eine Infektion ist nur bedingt möglich.
3. Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.
4. Dieser Test ist nur durchzuführen von Fachpersonal, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde.
5. Der Nachweis von spezifischen Antikörpern kann bei Untersuchungen



















mit verschiedenen Testen bzw. von verschiedenen Herstellern aufgrund von unterschiedlichen Sensitivitäten, Spezifitäten und Testmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.

6. Teststreifen mit extrem starkem Hintergrund sind nicht auszuwerten, vor allem wenn Banden heller als der Hintergrund erscheinen.
7. *In vitro*-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.
8. Gründliches Waschen ist essentiell für exakte Testergebnisse. Ungeügendes Waschen kann falsche Ergebnisse verursachen.

Literatur

1. AGUERO-ROSENFELD, M.: J. Clin. Microbiol. 3090-3095 (1993)
2. ALFEN, I. et al.: Lab. med. 12-19 (1994)
3. CDC/ASTPHLD: Lyme disease Workgroup Recommendations, Dearborn (1994)
4. DITTON H.J.: FEMS Microbiol. 217-230 (1992)
5. DIN 58969-44: Medical microbiology – Diagnostics of infectious diseases in serology and molecular biology, Part 44: Immunoblot (IB); Special requirements for the detection of antibodies against *Borrelia burgdorferi* (2005)
6. DRESSLER F.: J. Infect. Dis. 392-400 (1993)
7. HAUSER, U. et al.: Interpretation Criteria for Standardized Western Blots for Three European Species of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato, J. Clin. Microbiol. 1433-1444 (1997)
8. FINGERLE, V. et al.: J. Clin. Microbiol. 1861-1869 (1995)
9. SCHULTE-SPECHTEL, U. et al.: Significant Improvement of the Recombinant *Borrelia*-specific Immunoglobulin G Immunoblot test by addition of VisE and a DbpA homologue derived from *Borrelia garinii* for Diagnosis of Early Neuroborreliosis. J. Clin. Microbiol. (41): 1299-1303 (2003)
10. HEIKKILÄ, T. et al.: Species-Specific Serodiagnosis of Lyme Arthritis and Neuroborreliosis due to *Borrelia sensu stricto*, *B. afzelii*, and *B. garinii* by using Decorin Binding Protein A. J. Clin. Microbiol. (40): 453-460 (2002)
11. HAMMERS-BERGGREN, S.: J. Clin. Microbiol. 1519-1525 (1994)
12. JAURIS-HEIPKE, S. et al.: J. Clin. Microbiol. 1860-1866 (1995)
13. JAURIS-HEIPKE, S.: Int. Conference of Lyme Borreliosis. (1994)
14. LAM, T.: Infection and Immunity, 290-298 (1994)
15. MA, B.: J. Clin. Microbiol. 370-376 (1992)
16. RILI-BÄK: Bäk-Richtlinie zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen, (2008), www.bundesaerztekammer.de
17. PREAC-MURSIC, V.: Infect. 355-359 (1989)
18. WILSKE, B. et al.: MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik 12-2000: Lyme - Borreliose, URBAN&FISCHER, (2000)
19. JAURIS-HEIPKE, S. et al.: Osp 17, a novel immunodominant outer surface protein of *Borrelia afzelii*: Recombinant expression in *Escherichia coli* and its use as a diagnostic antigen for serodiagnosis of Lyme borreliosis. Med. Microbiol. Immunol. (Berl), 187 (4): 213-219 (1999)
20. HAUSER, U. et al.: J. Clin. Microbiol. 2241-2247 (1999)
21. WILSKE, B. et al.: Phenotypic Analysis of Outer Surface Protein C (OspC) of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato by Monoclonal Antibodies: Relationship to Genospecies and OspA Serotype; J. Clin. Microbiol. 103-109 (1995)
22. WILSKE, B.: Diagnose und Labor, (1990)
23. ZÖLLER, L.: J. Clin. Microbiol. 174-182 (1991)
24. THOMAS, L.: Labor und Diagnose, Med. Verlagsgesellschaft Marburg (2008)

Symbolerklärungen

	Hersteller		Bestellnummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Verwendbar bis / Mindesthaltbarkeitsdatum
	<i>In-Vitro</i> Diagnostikum		Temperaturbegrenzung (Lagerung)
	Chargen-Nummer		Positive Serumkontrolle
	Ausreichend für 50 Ansätze		Negative Serumkontrolle
	Raumtemperatur in °C		Kontrolle
	Bearbeiter		Datum
	Probennummer		Chromogen/Substratentwicklungszeit in Minuten
	Auswerteprotokoll		Protokollnummer