

Borrelia ViraChip® IgG Test Kit 2.0

Gebrauchsanweisung



Chip-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgG** Antikörpern gegen spezifische **Borrelia species** Antigene in humanem Serum.

Der **Borrelia ViraChip® IgG Test Kit 2.0** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Microarray-Format, bei dem aufgereinigte spezifische native Antigene sowie rekombinantes VlsE, aus *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia afzelli*, *Borrelia garinii*, *Borrelia bavariensis* und *Borrelia spielmanii* an definierten Positionen auf Nitrozellulose gebunden werden. Der **Borrelia ViraChip® IgG Test Kit 2.0** ist nach der Richtlinie **98/79/EG** hergestellt.

Der **Borrelia ViraChip® IgG Test Kit 2.0** kann als Bestätigungstest nach den „**MiQ**“ **12/2017** und den **DIN 58969-44** Kriterien ausgewertet werden. Diese beinhalten ein „**Zwei-Banden-Kriterium**“ für ein positives Ergebnis sowie die speziellen Anforderungen für den Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi*.

Testprinzip

Am Boden jeder Kavität einer 96 well Standard-Mikrotiterplatte (MTP) befindet sich eine Nitrozellulose-Membran auf der Antigene als Analytspots fixiert sind (Microarray). Während der Seruminkubation binden *Borrelia*-spezifische Antikörper im Patientenserum an die fixierten Antigene auf dem Microarray. Während der Konjugatinkubation bindet das Konjugat an den Antigen-Antikörper-Komplex. Nach Zugabe der Chromogen / Substratlösung setzt die an den Konjugat-Antikörper gebundene Alkalische Phosphatase das Chromogen / Substrat um und färbt damit den Antigen-Antikörper-Komplex auf dem Microarray lila bis schwarz an. Nach der Seruminkubation, der Konjugatinkubation und der Chromogen / Substratinkubation erfolgt jeweils ein Waschschritt zur Entfernung ungebundener Antikörper und Reagenzien.

Jeder Microarray beinhaltet neben den Analytspots folgende Kontrollspots: **Serumkontrollen, Konjugatkontrollen, Kalibratorkontrollen** und eine **Negativkontrolle**. Die Analytspots dienen dem Nachweis von Antikörpern gegen die *Borrelia*-spezifischen Antigene **p83, p58, p43, p39, p30, p21, OspC, DbpA/Osp17, p14** und **VlsE**.

Zur eindeutigen Kennzeichnung sind die Kavitäten farblich kodiert: Dazu ist der **Borrelia ViraChip® IgG** durch einen **grünen Vollkreis** auf dem Kavitätenrand markiert.

Best.-Nr.:	V-BSCGOK	Best.-Nr.:	V-BSCGDK (Deca Kit)
Packungsgröße:	MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten	Packungsgröße:	10 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten
Probenmaterial:	10 µl Serum	Probenmaterial:	10 µl Serum
Testdauer:	ca. 130 Minuten	Testdauer:	ca. 130 Minuten

Kitinhalt

1 bzw. 10 MTP à 96 Kavitäten	Borrelia ViraChip® IgG Antigen Coated Wells Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Prod.-Nr.: V-BSCGAC)
1x bzw. 10x 12 ml	ViraChip® AP-Anti-Human IgG Conjugate Anti-human IgG Konjugatlösung für ViraChip® Teste, aus Ziege, mit boviner alkalischer Phosphatase, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVCGKI)
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 12 ml	ViraChip® Chromogen / Substrate Solution Chromogen/Substratlösung für ViraChip® Teste, mit BCIP / NBT, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVCUCS)

Zusätzlich erforderlicher Puffer für die Probenverdünnung, wird separat mitgeliefert

50 ml	ViraChip® Sample Buffer Probenpuffer für ViraChip® Teste, mit Milchpulver, Detergenzien und Salzen zum Verhindern unspezifischer Bindungen, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVCUPP)
-------	---	-----------------------

Optional erhältlich

1 MTP-Riegel à 8 Kavitäten	Borrelia ViraChip® IgG Antigen Coated Wells (8) Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-BSCGRT)
330 µl	Borrelia ViraChip® IgG Positive Control IgG positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-BSCGPK)
330 µl	Borrelia ViraChip® IgG,A,M Negative Control IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-BSCPKN)

Zusätzlich geforderte Ausrüstung

1. ViraChip Software®	zum Vorbereiten, Durchführen und Auswerten des Testlaufes, ab v1.3.0-1960	(Best.-Nr.: V-VCNUPR)
2. 2D-Barcode Scanner	zum Lesen der DataMatrix-Codes	
3. Mikrotiterplatte mit 96 Leerkavitäten	zum Auffüllen angefangener Riegel der Mikrotiterplatte im Halterahmen	(Best.-Nr.: V-UVNMTP)
4. Orbitalschüttler (750 rpm) oder Linearschüttler (20 Hz)	zur Durchmischung von Proben und Reagenzien während der Prozessierung	
5. ViraChip® Scanner oder ViraChip® Reader	zur Digitalisierung / Messung entwickelter ViraChip® Teste, ab ViraChip® Scanner v1.0 bzw. ViraChip® Reader Rev.01	(Best.-Nr.: V-UVGSCA) (Best.-Nr.: V-UVCCAM)
6. Optional: Ventilator/ Lüfter	zur schnelleren Trocknung der entwickelten Mikrotiterplatten	

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: 100 ml Waschpuffer-Konzentrat + 900 ml H ₂ O
Probenpuffer:	Gebrauchsfertig
Konjugatlösung:	Gebrauchsfertig
Chromogen / Substratlösung:	Gebrauchsfertig

Borrelia ViraChip® IgG Test Kit 2.0

- 2 -

- 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.

Aufbau des Borrelia ViraChip® IgG Microarrays
Antigene:

Jedes Borrelia-spezifische Antigen, **p83, p58, p43, p39, p30, p21, OspC, DbpA/Osp17, p14** und **VisE**, ist drei Mal in identischer Konzentration als Spottriplett aufgetragen. Jedes Spottriplett 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).

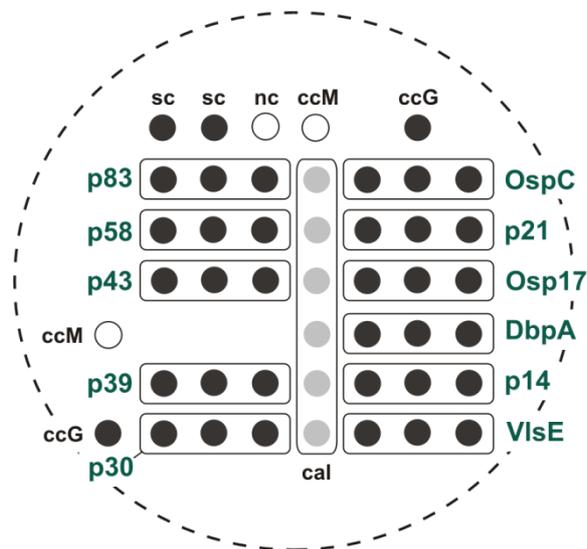


Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem Borrelia ViraChip® IgG Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottriplets für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

Nomenklatur und Beschreibung der Borrelia Antigene aus der Literatur

Nomenklatur:	Antigen:	Bemerkungen:
p83	Hochspezifisch Protein der Membranvesikel auf der Oberfläche	Im Allgemeinen treten diese Antikörper 6-12 Wochen nach Infektion auf. Sie sind typisch für das Stadium III, können aber auch in Stadium I und II vorkommen (1,4,14,15)
p58	Spezifisch	Wenig charakterisiertes Protein wurde gegen 60 kD (Hsp60) aufgetrennt, häufig im Stadium III (5).
p43	Spezifisch	Noch wenig charakterisiert. Vorwiegend für Stadium III beschrieben.
p39	Hochspezifisch BmpA (Borrelia membrane protein A)	Antikörper gegen p39 lassen sich bei vielen Patienten schon im Frühstadium der Erkrankung nachweisen (1,15).
p30	Spezifisch	Derzeit noch wenig untersucht (5).
OspC	Hochspezifisch OspC (Outer surface protein C)	Es sind mindestens 13 verschiedene Immuntypen von OspC bekannt (1,6,12,11,21,20).
p21	Spezifisch	Noch wenig charakterisiert (3).
Osp17 / DbpA	Spezifisch Osp17 (Outer surface protein 17) DbpA (Decorin binding protein A)	Bindung an Decorin auf der Wirtszelle: Antikörper gegen Osp17 / DbpA wurden als spezifisch beschrieben. Auftreten u.a. bei Arthritis und Neuroborreliose im IgG. Spezies-spezifisch (17,10,13).
p14	Spezifisch	Protein als spezifisch immunogen bei Borrelia afzelii charakterisiert (8).
VisE	Spezifisch VisE (Variable major protein (VMP) like sequence Expressed)	Antikörper gegen VisE werden als spezifisch beschrieben. IgG Antikörper gegen VisE werden bereits im Frühstadium gebildet und bleiben bis zum Spätstadium erhalten (17).

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 Belegungsplan 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.

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.

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

3.5 Konjugatinkubation

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

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

3.6 3 x waschen

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

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

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.

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

4. Scannen

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

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

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.

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** (ccG) über Grenzwert
Die Konjugatkontrollen IgG müssen stärker reagieren als die Kontrollen der anderen Konjugatklassen.
- **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.

Auswertekriterien

ViraChip®-Einheiten der Spottriplets	Ergebnis	Beurteilung
Mindestens zwei Spottriplets ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: p83, p58, p43, p39, p30, OspC, p21, Osp17 / DbpA, p14, VisE	Positiv	Spezifische IgG Antikörper gegen Borrelia species nachweisbar. Eine Borrelia species Infektion ist wahrscheinlich.
VisE Spottriolett ≥ 150 ViraChip®-Einheiten	Positiv	Spezifische IgG Antikörper gegen VisE aus Borrelia species nachweisbar. Eine Borrelia species Infektion ist wahrscheinlich.
VisE Spottriolett ≥ 100 und < 150 ViraChip®-Einheiten	Grenzwertig	Spezifische IgG Antikörper gegen VisE aus Borrelia species nachweisbar. Eine Borrelia species Infektion ist möglich. Bei Verdacht auf eine frische Infektion zusätzlich auf IgM-spezifische Antikörper untersuchen. Wenn möglich, nach 2 bis 3 Wochen eine zweite Probe auf IgM- und IgG-spezifische Antikörper untersuchen.
Höchstens ein Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten (Ausnahme: VisE Spottriolett singular)	Negativ	Keine spezifischen IgG Antikörper gegen Borrelia species nachweisbar. Bei Verdacht auf eine Infektion nach 2 bis 3 Wochen eine zweite Probe auf IgM- und IgG-spezifische Antikörper untersuchen.

Diagnostische Bedeutung von Borrelia Antikörpern

1. IgG Antikörper werden einige Wochen bis Monate nach Infektion erstmals gebildet und sind im Frühstadium einer Infektion oft noch nicht nachweisbar (20). 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 (20).

2. IgM Antikörper treten im Allgemeinen etwa 2-3 Wochen nach Erkrankungsbeginn erstmals auf (20). Die Titer sinken häufig einige Wochen bis Monate nach Rekonvaleszenz ab. Sie können aber auch bis zu mehreren Jahren persistieren (8,7,9).

3. IgA Antikörper können bei Patienten im Frühstadium einer Borreliose nachweisbar sein; in einigen Fällen vor den IgM Antikörpern.

4. Die Antikörperantwort und somit das Spotmuster unterscheidet sich von Patient zu Patient. Ganz allgemein gilt, dass die Anzahl der Antikörpertypen bzw. die Zahl der Spottriplets mit der Dauer der Erkrankung zunimmt (1).

5. Eine frühzeitige Therapie mit Antibiotika kann die Bildung von Antikörpern unterdrücken (16).

6. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (18).

7. Kreuzreaktionen mit Borrelien-Antigenen sind bei Infektionen mit Treponema, Leptospira und anderen begeißelten Bakterien bekannt (2,15,20). Eine akute EBV Infektion kann zu polyklonaler Stimulierung von Borrelien Antikörpern führen (20). 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.

Leistungsdaten

Sensitivität

Anhand von 104 Seren von Patienten mit Lyme Borreliose aus den frühen Stadien Erythema migrans, Erythema chronicum migrans und multiple Erythemata migrantia sowie aus den späten Stadien Acrodermatitis chronica atrophicans, Lyme-Arthritis und Neuroborreliose wurde die Sensitivität des Borrelia ViraChip® IgG bestimmt.

Lyme Borreliose Stadium	Borrelia ViraChip® IgG positiv / grenzwertig, % (n)	Borrelia ViraChip® IgG, IgM positiv / grenzwertig, % (n)
Erythema migrans (n= 17)	71% (12)	71% (12)
Erythema chronicum migrans (n= 22)	73% (16)	82% (18)
Multiple Erythemata migrantia (n= 11)	82% (9)	91% (10)
Neuroborreliose (n= 13)	92% (12)	92% (12)
Acrodermatitis chronica atrophicans (n= 25)	100% (25)	100% (25)
Lyme-Arthritis (n= 16)	100% (16)	100% (16)

Spezifität

Zur Bestimmung der Spezifität des Borrelia ViraChip® IgG wurden 127 Blutspenderseren untersucht, die negative Ergebnisse in einem Referenztest (Borrelia ViraStripe® IgG und Borrelia ViraStripe® IgM) aufwiesen.

Kollektiv	Borrelia ViraChip® IgG negativ, % (n)	Borrelia ViraChip® IgG, IgM negativ, % (n)
Blutspender (n= 127)	98% (125)	97% (123)

Anforderungen an den Anwender

1. Dieser Test ist nur in einem Fachlabor durchzuführen, das die entsprechende Laborausstattung (z.B. nach GLP) und die ggf. erforderlichen behördlichen Genehmigungen zum Umgang mit den zu testenden Proben besitzt.

2. Um ein exaktes Testergebnis zu erhalten, müssen die Gebrauchsanweisung und „Good Laboratory Practice (GLP)“ eingehalten werden.

3. Dieser Test ist nur von Fachpersonal durchzuführen, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde.

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

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

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

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

4. **Probenpuffer:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

5. **Konjugatlösung:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

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

7. Nach erstmaligem Öffnen der Reagenzien und Kitkomponenten wird bei sachgerechter Anwendung („Good Laboratory Practice“) und Einhaltung der auf dem Etikett angegebenen Lagerungsbedingungen in der Originalverpackung die Haltbarkeit in der Regel bis zum angegebenen Verfallsdatum beibehalten.

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.

Gewinnung, Handhabung und Lagerung der Patientenprobe

1. Der **Borrelia ViraChip® IgG Test Kit 2.0** ist mit humanem Serum als Probenmaterial durchzuführen.
2. Die Probengewinnung sollte durch medizinisches Fachpersonal nach den geltenden Standards aus Vollblut erfolgen (19).
3. Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu ungünstigen Ergebnissen führen.
4. Proben dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein.
5. 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.

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

Einschränkungen des Untersuchungsverfahrens

1. 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 (18).
2. Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.
3. 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.
4. Bei Immunsuppression gilt eine eingeschränkte Beurteilbarkeit (18).

5. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (18).
6. *In vitro*-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.
7. Präzises Befolgen der Arbeitsvorschrift ist essentiell für exakte Testergebnisse. Ungenügendes Durchführen der Waschschritte kann falsche Ergebnisse verursachen.
8. Der Ansatz von Poolproben, bei denen mehrere Seren gemeinsam untersucht werden, ist unzulässig, da bei derartigen Ansätzen die Testsensitivität und -spezifität beeinträchtigt werden können.

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, ME et al.: Serodiagnosis in early Lyme disease, J Clin Microbiol, 1993
2. ALFEN, I & WELLENSIEK, HJ: Die Bedeutung kreuzreagierender Antikörper für die Serodiagnostik der Lyme-Borreliose und der Syphilis, Lab med, 1994
3. CDC/ASTPHLD: Lyme disease Workgroup Recommendations, Dearborn, 1994
4. DITTON, HJ et al.: Evidence that Borrelia burgdorferi immunodominant proteins p100, p94 and p83 are identical, FEMS Microbiol Lett, 1992
5. DRESSLER, F et al.: Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease, J Infect, 1993
6. FINGERLE, V et al.: Expression of outer surface proteins A and C of Borrelia burgdorferi in Ixodes ricinus, J Clin Microbiol, 1995
7. HAMMERS-BERGGREN, S et al.: Serological follow-up after treatment of patients with erythema migrans and neuroborreliosis, J Clin Microbiol, 1994
8. HAUSER, U et al.: Interpretation Criteria for Standardized Western Blots for Three European Species of Borrelia burgdorferi Sensu Lato, J Clin Microbiol, 1997
9. HAUSER, U et al.: Validity of interpretation criteria for standardized Western blots (immunoblots) for serodiagnosis of Lyme borreliosis based on sera collected throughout Europe, J Clin Microbiol, 1999
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, 2002
11. JAURIS-HEIPKE, S: Int Conference of Lyme Borreliosis, 1994
12. JAURIS-HEIPKE, S et al.: Molecular analysis of genes encoding outer surface protein C (OspC) of Borrelia burgdorferi sensu lato: relationship to ospA genotype and evidence of lateral gene exchange of ospC, J Clin Microbiol, 1995
13. JAURIS-HEIPKE, S et al.: Osp17, 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, 1999
14. LAM, TT et al.: Outer surface proteins E and F of Borrelia burgdorferi, the agent of Lyme disease, Infect Immun, 1994
15. MA, B et al.: Serodiagnosis of Lyme borreliosis by western immunoblot: reactivity of various significant antibodies against Borrelia burgdorferi, J Clin Microbiol, 1992
16. PREAC-MURSIC, V et al.: Survival of Borrelia burgdorferi in antibioticly treated patients with Lyme borreliosis, Infection, 1989
17. SCHULTE-SPECHTEL, U et al.: Significant Improvement of the Recombinant Borrelia-specific Immunoglobulin G Immunoblot test by addition of VlsE and a DbpA homologue derived from Borrelia garinii for Diagnosis of Early Neuroborreliosis, J Clin Microbiol, 2003
18. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
19. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
20. WILSKE, B: Diagnostik der Lyme Borreliose Diagnose und Labor, Laboratoriumsblätter, 1990
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, 1995

Borrelia ViraChip® IgG Test Kit 2.0

- 7 -

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