



Key Code TSMX7840G  
www.thermofisher.com

Europe 00800 135 79 135      US 1 855 2360 190  
CA 1 855 805 8539      ROW +31 20 794 7071

# IDEIA™ Lyme Neuroborreliosis

|              |                 |    |
|--------------|-----------------|----|
| <b>[REF]</b> | K602811-2 ..... | 96 |
|--------------|-----------------|----|

## 1. INTENDED USE

IDEIA™ Lyme Neuroborreliosis is a qualitative enzyme immunoassay for the detection of intrathecally produced human IgG and IgM antibodies to *Borrelia burgdorferi sensu lato* from clinical samples. Test results are intended to aid clinicians in the diagnosis of Lyme Neuroborreliosis. The device is not automated, is for professional use only and is not a companion diagnostic.

**[IVD]** - For *in vitro* diagnostic use.

## 2. SUMMARY

Lyme borreliosis is a multisystem infection caused by the tickborne spirochete *B. burgdorferi sensu lato*<sup>1,2</sup>.

Involvement of the nervous system, neuroborreliosis, is a common and serious manifestation of Lyme borreliosis<sup>3</sup>.

A sensitive and reliable diagnostic test for neuroborreliosis is needed as a number of other diseases with similar symptoms exist and because neuroborreliosis, in contrast to many of these diseases, responds to antibiotic treatment.

Currently, the best indicator of active neuroborreliosis is an inflammatory cerebrospinal fluid (CSF) change, particularly an increase in the number of mononuclear cells (mononuclear pleocytosis) combined with the occurrence of intrathecally produced Borrelia-specific antibodies in the CSF. The detection of a specific intrathecal immune response is diagnostically more significant than the measurement of specific antibodies in serum. Moreover, in neuroborreliosis, specific antibody synthesis is frequently detected earlier in CSF than in serum<sup>4,5,6</sup>.

IDEIA Lyme Neuroborreliosis is designed for the sensitive and direct detection of intrathecally produced IgG and IgM antibodies to *B. burgdorferi*. Measurement of reference substances (like albumin etc) and complicated corrections for transudation of serum antibodies to CSF caused by damage to the blood CSF barrier are unnecessary. Even blood contamination of CSF during a spinal tap will not lead to false positive results<sup>7</sup>.

The assay uses purified, native *B. burgdorferi* flagellum as test antigen. The flagellum is highly immunogenic, elicits an early, strong and persistent immune response<sup>8,9</sup> and is the major antigen for the intrathecal antibody response<sup>10,11</sup>. Compared with the conventional antigen, which is based on whole cell extract of the spirochete, the purified, native flagellar antigen improves the diagnostic sensitivity and specificity of serological assays for Lyme borreliosis<sup>5,12</sup>. Furthermore, the use of flagellum as test antigen is appropriate in all geographical areas as the flagellum shows no significant variation between *B. burgdorferi* strains.

## 3. PRINCIPLE OF THE TEST

The test is based on the capture ELISA principle and consists of a human IgG capture assay and a human IgM capture assay for determination of intrathecally produced IgG and IgM antibodies to *B. burgdorferi*, respectively. The human IgG capture assay is described in detail:

Paired CSF and serum specimens are added to microwells coated with antibody specific to human IgG. The dilution of CSF and serum ensures that the anti-human IgG capture antibody is saturated with either CSF or serum IgG. Therefore, the same amount of total IgG from either CSF or serum is captured in the microwells.

After washing of the microwells to remove excess protein, biotinylated, native *Borrelia* flagella complexed with peroxidase-conjugated streptavidin (Flagellum Conjugate) is added to the microwells. The Flagellum Conjugate will be bound by *B. burgdorferi*-specific IgG only, whereas non-*B. burgdorferi*-specific IgG will not bind the Flagellum Conjugate.

Excess Flagellum Conjugate is removed by washing. The amount of Flagellum Conjugate bound per microwell is visualized by the addition of a chromogenic substrate, which develops a blue colour. The reaction is stopped by the addition of acid, changing the blue colour to yellow. The intensity of the colour corresponds to the concentration of *B. burgdorferi*-specific IgG captured on the solid phase.

The human IgM capture assay is similar to the human IgG capture assay except that the microwells are coated with an anti-human IgM capture antibody.

Normally, the total IgG and IgM concentrations in CSF are very low compared with levels in serum. Therefore, when intrathecal *B. burgdorferi*-specific antibody production takes place, the amount of specific IgG or IgM antibody in CSF will constitute a much larger proportion of the total amount of IgG and IgM, respectively, than the proportions found in serum. If there is no intrathecal, specific antibody production, or when specific antibodies in the CSF are due to either blood contamination or transudation from serum, then the OD value for CSF minus the OD value for serum will be ≤0.

Consequently, in the case of neuroborreliosis, a significantly higher OD value will be obtained for the CSF compared with the OD value obtained for the serum specimen. In such cases the OD value for CSF minus the OD value for serum will, therefore, be >0. Comparison of OD values from paired serum and CSF specimens, tested in parallel, make it possible to determine whether or not *B. burgdorferi*-specific antibodies have been produced intrathecally. The formula for calculation of test results has been designed to take into account any intra-assay variation when comparing OD value differences between paired CSF and serum specimens<sup>5</sup>.

Due to the selective immunocapture of IgG and IgM antibodies, there will be no competitive interference from other immunoglobulin classes. The use of conjugated test antigen furthermore prevents interference from rheumatoid factor (RF).

## 4. REAGENTS PROVIDED



Each kit contains sufficient materials for 96 determinations. The shelf life of the kit is as indicated on the outer box label. Store unused components at 2-8°C.

## 4.1. IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS TEST CONTENTS



### [MICROTITRATION PLATE]

Instructions For Use (IFU)  
48 microwells (6 strips of 8 microwells) coated with anti-human IgG (indicated with a 'G' printed on the tab at the end of each microwell strip) and 48 microwells (6 strips of 8 microwells) coated with anti-human IgM (indicated with an 'M' printed on the tab at the end of each microwell strip). A resealable plastic pouch is provided for storage of unused microwells. Ensure careful handling of the strips, particularly if wells are detached from the strip, as each strip is labelled and the individual wells are not labelled.

One bottle of each of the following:

### [SAMPLE DILUENT]

100mL Sample Diluent: Buffered solution with detergent, antimicrobial agent and coloured red dye.

### [WASH BUFFER (X25)]

50mL Wash Buffer concentrate x25: Buffered solution with detergent and antimicrobial agent.

### [IgG POSITIVE CONTROL]

1.5mL IgG Positive Control: Human serum in buffer with antimicrobial agent and coloured green dye.

### [IgM POSITIVE CONTROL]

1.5mL IgM Positive Control: Human serum in buffer with antimicrobial agent and coloured yellow.

### [FLAGELLUM CONJUGATE]

Lyophilized Flagellum Conjugate: Biotinylated *B. burgdorferi* flagellum to be reconstituted with Reconstitution Buffer and complexed with peroxidase-conjugated streptavidin prior to use.

### [RECONSTITUTION BUFFER]

12.5mL Reconstitution Buffer: Buffered solution with antimicrobial agent and coloured blue.

### [PEROXIDASE COMPLEX]

1mL Peroxidase Complex: Peroxidase-conjugated streptavidin in buffer containing carrier proteins and antimicrobial agent.

### [SUBSTRATE TMB]

12mL Substrate: stabilized peroxide and 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine in a dilute buffer solution. TMB has been reported to be non-carcinogenic. However, personal protective equipment is recommended to avoid direct exposure.

### [STOP SOLUTION]

25mL Stop Solution: 0.46mol/L sulphuric acid.

## 4.2. PREPARATION, STORAGE AND RE-USE OF KIT COMPONENTS

The IDEIA Lyme Neuroborreliosis kit format allows for up to 6 individual runs during any 3 month period within the expiry date given on the kit label. In order to ensure optimal kit performance, it is important that unused kit components are prepared and stored according to the following instructions:

### 4.2.1 Microwells - [MICROTITRATION PLATE]

Open the plate pouch by cutting along the seal. Remove the required number of anti-human IgG strips (indicated with a 'G' printed on the tab at the end of each microwell strip) and anti-human IgM strips (indicated with an 'M' printed on the tab at the end of each microwell strip) and relocate them into the frame. One strip allows double determination of CSF and serum from one patient; the remaining four microwells of the strip are used for positive and buffer controls. Each additional IgG and IgM strip allows paired samples from two patients to be analysed. When the whole frame of 6 IgG and 6 IgM strips is used at one time, CSF and serum samples from 11 patients can be tested for IgG and IgM antibodies.

Place unused microwells in the resealable plastic pouch with the desiccant, carefully reseal the pouch and store at 2-8°C. Microwells may be used for up to 12 weeks after initial opening, provided they are stored in this manner, or until the expiry date on the plate, if sooner. Microwells are intended for single use only and should not be reused.

### 4.2.2 Sample Diluent - [SAMPLE DILUENT]

Ready to use. Store unused Sample Diluent at 2-8°C.

### 4.2.3 Wash Buffer Concentrate - [WASH BUFFER (X25)]

Provided x25 concentrate. Prepare working strength Wash Buffer by adding 1 part of Wash Buffer Concentrate to 24 parts of fresh deionised or distilled water (or add the contents of Wash Buffer concentrate to 1200mL fresh deionised or distilled water). **Prepare working strength Wash Buffer as required on the day of use.** Store unused concentrate at 2-8°C.

**Do not store unused, diluted Wash Buffer for subsequent use** (see Section 8.2.11).

### 4.2.4 IgG Positive Control - [IgG POSITIVE CONTROL]

Ready to use. Store unused IgG Positive Control at 2-8°C.

### 4.2.5 IgM Positive Control - [IgM POSITIVE CONTROL]

Ready to use. Store unused IgM Positive Control at 2-8°C.

### 4.2.6 Flagellum Conjugate, Peroxidase and Reconstitution Buffer - [FLAGELLUM CONJUGATE] / [RECONSTITUTION BUFFER] / [PEROXIDASE COMPLEX]

Reconstitute the lyophilized, biotinylated *Borrelia* Flagellum Conjugate with the contents of Reconstitution Buffer and add 650µL Peroxidase Complex. Mix the contents by inversion.

**The reconstituted Flagellum Conjugate must be prepared at least 1 hour prior to use.** The reconstituted Flagellum Conjugate should be stored at 2-8°C and used within 3 months, or until the expiry date on the bottle if sooner.

### 4.2.7 Substrate - [SUBSTRATE TMB]

Ready to use. Store unused substrate at 2-8°C.

### 4.2.8 Stop Solution - [STOP SOLUTION]

Ready to use. Store unused Stop Solution at 2-8°C.

## 5. ADDITIONAL REAGENTS

### 5.1. REAGENTS

Fresh deionised or distilled water

## 6. EQUIPMENT

The following equipment is required:

Measuring cylinder (2L)

Test tubes of approximately 5mL capacity

Precision micropipettes and disposable tips to deliver 10-1000µL volumes

8-channel pipette to deliver 100µL (optional)

Reagent reservoirs for 8-channel pipette (optional)

Clean absorbent paper (onto which microwells can be tapped dry)

Plastic lid for microwell plate

Microtitration plate shaker capable of a minimum speed of 500rpm with an orbital diameter of 3-4mm. For information on suitability of plate shakers contact your local distributor.

Timer

Automated plate washer (optional) or suitable equipment for washing 8 microwell strips (Section 9.2.3).

**Note: If washing less than 8 test microwells in a strip using an automated washer with an 8 microwell head, it is important to completely fill the strip with blank microwells.**

Spectrophotometer or EIA plate reader able to read a 96 microwell plate of 8 microwell strips at an absorbance of 450nm with a reference at 620-650nm. (Optional, Section 9.3, Reading the Test Results).

## 7. PRECAUTIONS

### 7.1. SAFETY PRECAUTIONS

7.1.1 For professional use only.

7.1.2 In the event of malfunction do not use device.

7.1.3 Please refer to the Material Safety Data Sheet (MSDS), available on ThermoFisher website, and product labeling for information on potentially hazardous components.

7.1.4 Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

7.1.5 Although the serum used for the preparation of the Positive Controls has been tested individually and found negative for hepatitis B virus surface antigen and antibodies to HIV and hepatitis C, the Positive controls should be treated as potentially infectious materials.

7.1.6 Stop Solution contains sulphuric acid (0.46mol/L). Avoid eye and skin contact by wearing protective clothing and eye protection.

7.1.7 Do not eat, drink, smoke, store or prepare foods, or apply cosmetics within the designated work area.

7.1.8 Do not pipette materials by mouth.

7.1.9 Wear disposable gloves whilst handling clinical specimens and always wash hands after working with infectious materials.

7.1.10 Dispose of all clinical specimen and Positive Controls in accordance with local legislation.

7.1.11 The Wash Buffer Concentrate contains Tris-hydrochloride which has been classified as hazardous under (EC) No. 1272/2008. The following Hazard (H) and Precautionary (P) statements apply:

## WARNING



|                 |                                                                                                                                  |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| H315            | Causes skin irritation.                                                                                                          |
| H319            | Causes serious eye irritation.                                                                                                   |
| P332+P313       | If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.                                                                         |
| P305+P351 +P338 | IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. |
| P280            | Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.                                                       |

## 7.2. TECHNICAL PRECAUTIONS

7.2.1 Components must not be used after the expiry date printed on the labels. Do not mix or interchange different batches/lots of reagents, with the exception of standard reagents (Sample Diluent, Wash Buffer Concentrate, Substrate and Stop Solution).

7.2.2 The reagents are provided at fixed working concentrations. Test performance will be affected if the reagents are modified or stored under conditions other than those detailed in Section 4.2.

7.2.3 Avoid contamination of reagents.

7.2.4 Use separate disposable pipettes or pipette tips for each specimen, control or reagent in order to avoid cross-contamination of either specimen or controls which could cause erroneous results.

7.2.5 Avoid contamination with metal ions and oxidising agents.

7.2.6 Store deionised or distilled water for dilution of concentrated reagents in clean containers to prevent microbial contamination.

7.2.7 Do not use Substrate showing a blue colour prior to its addition to the microwells.

7.2.8 Protect Substrate from light.

7.2.9 Microwells cannot be re-used.

7.2.10 Manual or automated washing equipment, must be free of microbial contamination, and correctly calibrated and maintained according to manufacturer's instructions.

7.2.11 Do not store unused working strength Wash Buffer for subsequent use. When not in use Wash Buffer reservoirs should be rinsed in deionised or distilled water and left to dry.

## 8. COLLECTION AND PREPARATION OF SPECIMENS

### 8.1. SPECIMEN COLLECTION

The IDEIA Lyme Neuroborreliosis kit is for the testing of paired human CSF and serum specimens simultaneously.

The paired CSF and serum specimens should be obtained from the patient at the same time. A minimum of 0.5mL CSF is required; preferably 1-2mL CSF should be requested, because this will allow for repetition of the test and/or performance of the test with a lower CSF dilution. For serum 0.5mL is sufficient.

Testing of turbid and viscous specimens may lead to unreliable results due to pipetting errors.

Paired CSF and serum specimens may be stored for 14 days at 2-8°C prior to testing, and for up to 6 months at -20°C or below.

### 8.2. PREPARATION OF SPECIMENS

Dilute CSF specimens 1+4 by adding 100µL of CSF to 400µL of Sample Diluent.

Dilute serum specimens 1+200 by adding 10µL of serum to 2mL of Sample Diluent.

## 9. TEST PROCEDURE

**PLEASE REFER TO SECTION 7.2, TECHNICAL PRECAUTIONS, BEFORE PERFORMING THE TEST PROCEDURE.**

### 9.1. PROCEDURAL NOTES

9.1.1 The validation of the assay performance is based on concurrent duplicate testing of all specimens. If the patient specimens are to be run singly, it is

recommended that users do so only after becoming familiar with the performance characteristics of the assay. The intra-assay variation (CV%) is approximately 50% higher when based on single determination.

9.1.2 If a shaker capable of 500rpm is not available, the speed of shaking of microwell strips during the 2 incubation steps may be reduced to 300rpm without adverse effect on the assay performance, or a static incubation protocol is available, please contact your local distributor for further information on suitable protocols.

### 9.2. ASSAY PROCEDURE

**NOTE:** The assay procedure requires the use of a Microtitration Plate shaker. For information on suitability of shakers contact your local distributor.

If multiple strips are used it is recommended that an 8-channel pipette is used for addition of Conjugate, Substrate and Stop Solution.

#### 9.2.1 Specimen and Control Addition

Locate the required number of microwells into the microwell holder. Add 100µL of diluted patient CSF and serum to duplicate microwells of both the anti-IgG strip and the anti-IgM strip microwells. Ensure careful handling of the strips, particularly if wells are detached from the strip, as each strip is labelled and the individual wells are not labelled. Add 100µL of IgG Positive Control to two anti IgG microwells and 100µL of the IgM Positive Control to 2 anti IgM microwells. Add Sample Diluent to separate IgG and IgM microwells. (At least 1 Sample Diluent microwell should be included with each batch of specimens tested).

#### 9.2.2 Specimen Incubation

Cover and incubate the microwells on a shaker at room temperature (**20-25°C**) with **shaking for 60 minutes**.

#### 9.2.3 Washing the Microwells

The microwells should be washed using working strength Wash Buffer (see Section 4.2.3).

The washing technique is critical to the test performance and should be carried out so as to ensure complete filling (with a minimum of **350µL** of working strength Wash Buffer) and emptying of the microwells.

Four wash cycles are essential, by either automated or manual washing techniques, which should include a 2 minute soak period during the second wash or a total of a 2 minute soak period during the complete cycle.

#### Manual Washing

If washing microwells manually, aspirate or shake out the contents of the microwells and using freshly prepared Wash Buffer, ensure complete filling and emptying of microwells. Between each wash step remove all remaining Wash Buffer by tapping the inverted microwells on to clean absorbent paper. Manual washing efficiency is further ensured if the Wash Buffer is delivered at an angle so as to produce a vortex in the microwells. After the final wash, the plate should be inverted and tapped on absorbent paper to remove the last traces of wash buffer.

#### Automated Washing

Automated washers should be programmed to complete 4 wash cycles and to incorporate the equivalent of 2 minutes soaking time during the complete washing cycle. Washers must be correctly calibrated to ensure complete filling and emptying of microwells between each wash. After the final wash, the plate should be inverted and tapped on absorbent paper to remove the last traces of Wash Buffer.

#### 9.2.4 Conjugate Addition

Mix the Flagellum Conjugate by inversion. Add 100µL of Flagellum Conjugate to each microwell.

#### 9.2.5 Conjugate Incubation

Cover and incubate the microwells on a shaker at room temperature (**20-25°C**) with **shaking for 60 minutes**.

#### 9.2.6 Washing the Microwells

Wash the microwells as described in 9.2.3.

#### 9.2.7 Substrate Addition and Incubation

Add 100µL of Substrate to each microwell.

Cover and incubate the microwells at room temperature (**20-25°C**) **without shaking for 10 minutes**.

#### 9.2.8 Stopping the Reaction

Add 100µL of Stop Solution to each microwell. Ensure thorough mixing in the microwells. The coloured product is stable for 30 minutes. **Do not expose to direct sunlight** as photobleaching of the coloured product may occur.

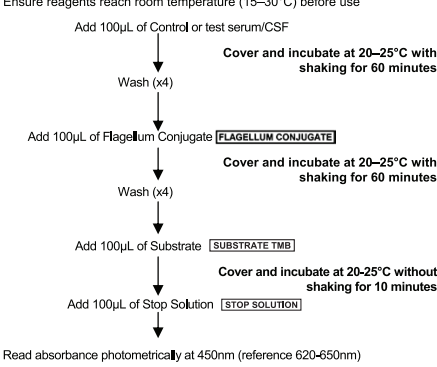
### 9.3. READING THE TEST RESULTS

#### 9.3.1 Photometric Reading

The microwells should be read photometrically within 30 minutes after addition of the Stop Solution. Mix the contents of the microwells and read the absorbance of each microwell using a suitable spectrophotometer or EIA plate reader set at 450nm. Ensure that the bottoms of the microwells are clean before reading and check that no foreign matter is present in the microwells. The reader should be blanked on air (ie with no plate in the carriage) before the plate is scanned.

Alternatively, if the spectrophotometer or EIA plate reader allows for the use of a reference wavelength (at 620 to 650nm), dual wavelength reading should be performed as this eliminates any potential interference caused by aberrations, such as dirt or marks, on the optical surface of the microwells.

## 9.4. SUMMARY OF IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS ASSAY PROCEDURE



## 10. QUALITY CONTROL AND INTERPRETATION OF RESULTS

### 10.1. BUFFER CONTROL

Calculate the mean OD values of the 2 Buffer Control microwells.

The mean OD value of the Buffer Control must be less than 0.100, but greater than 0.000 (dual wavelength reading).

If the value is above 0.100, inadequate washing or contamination of the Substrate may be the cause. If the value is less than 0.000, the ELISA reader should be re-blanked on air and the microwells re-read.

If the quality control requirements are not satisfied, test results are invalid and the assay should be repeated.

10.2. IgG POSITIVE CONTROL AND IgM POSITIVE CONTROL

Calculate the mean OD values for IgG Positive Control and IgM Positive Control. Individual OD values of duplicate test should not differ more than 15% from the mean OD value.

The mean OD value of IgG Positive Control and IgM Positive Control, respectively must be at least 0.500. If these values are less than 0.500 it may be caused by inadequate washing, inadequate shaking during incubations, or low ambient temperature, particularly during incubation with the Substrate solution.

If the quality control requirements are not satisfied, the test results are invalid and the assay should be repeated.

10.3. PATIENT SPECIMENS

Calculate the mean OD value for each patient CSF (OD<sub>CSF</sub>) and serum (OD<sub>SERUM</sub>) specimen for both the IgG and IgM determination. The OD values should not differ more than 15% from the mean. Any such specimens should be retested. However, if both test microwells show a negative result a difference of more than 15% may be accepted without retesting because low OD values are measured with less precision.

The specific antibody index formula is given below. Calculate the specific antibody index for IgG (I<sub>IgG</sub>) and IgM (I<sub>IgM</sub>), respectively. The index calculation should not be performed if the mean OD value of the CSF determination is less than 0.150. Any such test result should be reported as negative.

Index =

OD<sub>CSF</sub>

OD<sub>SERUM</sub>

x (OD<sub>CSF</sub> - OD<sub>SERUM</sub>)

10.4. INTERPRETATION OF RESULTS

10.4.1 Qualitative Interpretation

Interpret as follows:

Negative for production of intrathecal IgG antibodies to *B. burgdorferi*:

I<sub>IgG</sub> <0,3

or

OD<sub>CSF</sub> <0,150

Positive for production of intrathecal IgG antibodies to *B. burgdorferi*:

I<sub>IgG</sub> ≥0,3

Negative for production of intrathecal IgM antibodies to *B. burgdorferi*:

I<sub>IgM</sub> <0,3

or

OD<sub>CSF</sub> <0,150

Positive for production of intrathecal IgM antibodies to *B. burgdorferi*:

I<sub>IgM</sub> ≥0,3

10.4.2 Semiquantitative Interpretation

The higher the obtained index value is, the more pronounced is the specific intrathecal antibody production. Index values may be 100 or even more.

The specific antibody index is a highly sensitive, semiquantitative, measure of intrathecal antibody production because it depends on the rate of intrathecal antibody production, the blood CSF barrier permeability and the level of specific serum antibodies. Thus, in consecutive post-therapy specimens a change should be considered significant only if a positive index becomes <0.3, or if it decreases or increases more than 5 times. These are guidelines only.

10.4.3 Comments on Interpretation of Results

Expression of Results

Intrathecal antibody production is theoretically present if OD<sub>CSF</sub>/OD<sub>SERUM</sub> > 1. However, this assumption is not safe, because of the intra-assay variation, especially in the lower OD range. The net OD difference (OD<sub>CSF</sub> - OD<sub>SERUM</sub>) gives a more precise information, but, owing to the intra-assay variation, the minimal OD difference indicative of intrathecal antibody synthesis will increase with increasing OD values. These drawbacks are eliminated by multiplication of OD ratio by OD difference as expressed by the specific antibody index (I). The lower limit of index value at 0.3 for a positive result ensures that OD<sub>CSF</sub> is significantly higher than OD<sub>SERUM</sub><sup>7</sup>.

Positive Results

An IgG and/or IgM index ≥0.3 with concomitant mononuclear pleocytosis in CSF is highly suggestive of Lyme neuroborreliosis. (A high CSF-OD value by itself is not indicative of intrathecal antibody production).

An IgM index ≥0.3 is usually compatible with a disease duration of less than 6 months. Intrathecal synthesis of specific IgM is a strong indication of neuroborreliosis, but IgM is not an obligatory finding. Patients with active neuroborreliosis of more than 6 months duration will usually have intrathecal synthesis of specific IgG only, and an IgG index ≥0.3 will be detected.

Negative Results

A negative result, that is an IgG and IgM index <0.3, with concomitant mononuclear pleocytosis in CSF does not exclude the clinical diagnosis of Lyme neuroborreliosis. This applies particularly when the time between onset of neurological symptoms and sampling of serum and CSF is short.

In most untreated patients with definite clinical signs of neuroborreliosis, specific antibodies in CSF become detectable in the 2nd week after onset of neurological symptoms<sup>6</sup>. In patients with early neuroborreliosis and a negative test result, a later specimen may often prove positive, even after institution of treatment.

An IgM index <0.3 does not always exclude specific intrathecal IgM synthesis. The finding of a high (≥1.0) IgM OD value in CSF that is either equal to or even lower than the corresponding serum IgM value might still be indicative of intrathecal antibody synthesis if a severe impairment of the blood CSF barrier can be excluded<sup>6</sup>.

Post-treatment Specimens

Evaluation of consecutive post-treatment CSF/serum specimens: After appropriate antibiotic therapy, a specific IgM index will decrease, and after 6-9 months the index is usually <0.3. An elevated IgG index will often persist for years despite complete recovery.

An IgG index ≥0.3 without concomitant mononuclear pleocytosis in CSF is a rare finding, except in post-treatment specimens. Therefore, this finding may indicate a previous episode of neuroborreliosis.

11. PERFORMANCE LIMITATIONS

11.1. Excessive blood contamination of the CSF sample may lead to falsely low, specific antibody indices.

11.2. Due to the antigenic relationship between *B. burgdorferi* and *Treponema pallidum*, serological cross-reactions, although rare, may occur in patients with a recent or past history of neurosyphilis<sup>13</sup>. Serological discrimination is possible using Treponemal tests, such as the T pallidum hemagglutination assay, or non-treponemal tests, such as the rapid plasma reagin (RPR), the Venereal Disease

Research Laboratory (VDRL) test. These tests will be negative in patients with a *B. burgdorferi* infection only.

11.3. Prior antibiotic therapy may abrogate the antibody response and, thus, make the serological findings less predictable.

11.4. Collection of specimens early in the course of disease may lead to negative test results (see Section 10).

11.5. Test performance will be adversely affected if reagents are modified or stored under conditions other than those detailed in Section 4.2.

11.6. Test results should be interpreted in conjunction with information available from epidemiological studies, clinical assessment of the patient and other diagnostic procedures.

12. EXPECTED VALUES

A specific antibody index ≥ 0.3 always indicates intrathecal synthesis of specific antibodies.

In patients with neuroborreliosis, intrathecal antibody synthesis usually begins in the second week after onset of neurological symptoms. Specific IgG and/or IgM production is detectable in ≈ 80% of patients with definite neuroborreliosis by the beginning of the third week and in all patients 6-8 weeks after onset of neurological symptoms<sup>7</sup>.

Absence of intrathecal antibody production or the presence of specific antibodies in CSF due to transudation from serum or blood contamination of CSF will give antibody indices ≤0.

13. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Paired CSF and serum specimens from 25 patients with clinically defined early Lyme neuroborreliosis were tested with the IDEIA Lyme Neuroborreliosis.

| IDEIA Lyme Neuroborreliosis                                   | Number of patients |
|---------------------------------------------------------------|--------------------|
| Positive for intrathecally produced IgG antibodies            | 18                 |
| Negative for intrathecally produced IgG antibodies            | 7                  |
| Positive for intrathecally produced IgM antibodies            | 12                 |
| Negative for intrathecally produced IgM antibodies            | 13                 |
| Positive for intrathecally produced IgG and/or IgM antibodies | 19                 |
| Negative for intrathecally produced IgG and IgM antibodies    | 6                  |

A specific antibody index ≥0.3 was found for IgG in 72% and for IgM in 48% of the 25 patients with early Lyme neuroborreliosis. Only one patient had specific IgM synthesis without concomitant IgG synthesis. However, some patients with low IgG indices showed IgM indices ≥0.3. Therefore, the diagnostic evidence is increased by examining for both specific IgG and IgM synthesis. 19 of 25 patients (76%) with early Lyme neuroborreliosis were identified by IDEIA Lyme Neuroborreliosis.

13.1. CROSS REACTIVITY

A positive result always indicates intrathecal antibody synthesis to *B. burgdorferi* except when specimens from patients with neurosyphilis are tested. Specimens from these patients may give false positive results. However, the *B. burgdorferi*-specific antibody index usually remains low. Furthermore, it is a consistent finding that cross-reacting CSF antibodies as well as serum antibodies belong to the IgG class<sup>3</sup>.

The significance of intrathecal polyclonal B cell activation as a cause of “false positive” IgM results is unknown<sup>3</sup>.

14. REFERENCES

- Burgdorferi W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. (1982)**  
Lyme disease - a tick-borne spirochetosis?  
Science **216**: 1317-9.
- Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorferi W, et al. (1983)**  
The spirochetal etiology of Lyme disease.  
N Engl J Med **308**: 733-40.
- Hansen K. (1994)**  
Lyme neuroborreliosis: Improvements of the laboratory diagnosis and a survey of epidemiological and clinical features in Denmark 1985 - 1990.  
Acta Neurol Scand (suppl. 151); **89**: 1-44.
- Stiernstedt GT, Granström M, Hederstedt B, Sköldenberg B. (1985)**  
Diagnosis of spirochetal meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunoflourescence assay in serum and cerebrospinal fluid.  
J Clin Microbiol; **21**: 819-25.
- Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS. (1988)**  
Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease.  
J Clin Microbiol **26**: 338-46.
- Eldin, C., A. Raffetin, K. Bouiller, Y. Hansmann, F. Roblot, D. Raoult, and P. Parola. (2019).**  
Review of European and American Guidelines for the Diagnosis of Lyme Borreliosis.” Medecine et Maladies Infectieuses 49 (2): 121–32
- Hansen K, Lebech A-M. (1991)**  
Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific immunoglobulin G, A, and M.  
Ann Neurol; **30**: 197-205.
- Craft JE, Duncan KF, Shimamoto GT, Steere AC. (1986)**  
Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness.  
J Clin Invest **78**: 934-9.
- Karlsson M, Möllegard I, Stiernstedt G, Henriksson M, Wretlind B. (1988)**  
Characterization of antibody response in patients with *Borrelia* meningitis. Serodiagn Immunother Infect Dis; **2**: 375-86.
- Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühbeck R, Pfister HW, et al. (1986)**  
Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphotic meningoradiculitis (Bannwarth’s syndrome).  
J Infect Dis; **153**: 304-14.
- Hansen K, Cruz M, Link H. (1990)**  
Oligoclonal *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in cerebrospinal fluid in Lyme neuroborreliosis.  
J Infect Dis; **161**: 1194-202.
- Karlsson M. (1990)**  
Western immunoblot and flagellum enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis.  
J Clin Microbiol **28**: 2148-50.
- Naesens R., Vermeiren S., Van Schaeren J., Jeurissen A. (2011)**  
False Positive Lyme Serlogy due to Syphilus: Report of 6 cases and Review of the Literature. Acta Clin Beg. 66 (1): 58-59

15. SYMBOL LEGEND

|                                                                                     |                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|   | Catalogue Number                                    |
|  | In Vitro Diagnostic Medical Device                  |
|  | Consult Instructions for Use (IFU)                  |
|  | Temperature Limitations (Storage temp.)             |
|  | Contains sufficient for <N> tests                   |
|  | Batch Code (Lot Number)                             |
|  | Use By (Expiration Date)                            |
|  | Keep away from sunlight                             |
|  | Reconstitute                                        |
|  | Importer                                            |
|  | Unique Device Identifier                            |
|  | Authorized representative in the European Community |
|  | UK Conformity Assessed                              |
|  | European Conformity Assessment                      |
|  | Manufacturer                                        |



 OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK  
+44 (0) 1256 841144 thermofisher.com

For all enquiries [www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)

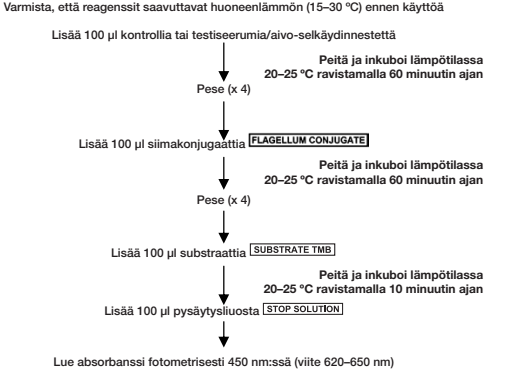
| Version | Date of modifications introduced         |
|---------|------------------------------------------|
| X7840G  | April 2024<br>Updated to conform to IVDR |

Printed in the UK



Vaihtoehtoisesti jos spektrofotometri tai EIA-levylukija sallii viiteaallonpituuden (620–650 nm) käyttämisen, on tehtävä kaksoisaallonpituuden luenta, koska tämä poistaa mikrokuoppien optisen pinnan poikkeamien, kuten lian tai merkintöjen, aiheuttaman mahdollisen häiriön.

#### 9.4. YHTEENVETO IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS -MÄÄRITYSMENETTELYSTÄ



### 10. LAADUNVALVONTA JA TULOSTEN TULKITSEMINEN

#### 10.1. PUSKURIKONTROLLI

Laske kahden puskurikontrollimikrokuopan OD-keskiarvot. Puskurikontrollin OD-keskiarvon pitää olla alle 0,100, mutta yli 0,000 (kahden aallonpituuden luenta).

Jos arvo on yli 0,100, syynä voi olla riittämätön substraatin pesu tai sen kontaminaatio. Jos arvo on alle 0,000, ELISA-lukija on nollattava uudelleen ilmaan ja mikrokuopat luettava uudelleen.

Jos laadunvalvontavaatimukset eivät täyty, testitulokset eivät ole validit ja määrittys on toistettava.

#### 10.2. IgG-POSITIIVINEN KONTROLLI JA IgM-POSITIIVINEN KONTROLLI

Laske IgG-positiivisen ja IgM-positiivisen kontrollin OD-keskiarvot. Duplikaattitestin yksittäisten OD-arvojen ei pitäisi erota enempää kuin 15 % OD-keskiarvosta.

Kummankin, IgG-positiivisen ja IgM-positiivisen kontrollin, OD-keskiarvon pitää olla vähintään 0,500. Jos nämä arvot ovat alle 0,500, se voi johtua riittämättömästä pesusta, riittämättömästä ravistamisesta inkubaatioiden aikana tai alhaisesta ympäristölämpötilasta, erityisesti substraattiliuksella inkuboinnin aikana.

Jos laadunvalvontavaatimukset eivät täyty, testitulokset eivät ole validit ja määrittys on toistettava.

#### 10.3. POTILASNÄYTTEET

Laske kunkin potilaan aivo-selkäydinnäytteen OD-keskiarvo (OD<sub>CSF</sub>) ja seeruminäytteen OD-keskiarvo (OD<sub>SERUM</sub>) IgG- ja IgM-määritystä varten. OD-arvojen ei pitäisi erota enempää kuin 15 % keskiarvosta. Kaikki muunlaiset näytteet on testattava uudelleen. Jos molemmat mikrokuopat tuottavat kuitenkin negatiivisen tuloksen, yli 15 %:n ero voidaan hyväksyä ilman uusintatestausta, koska matalat OD-arvot mitataan vähemmän tarkasti.

Spesifinen vasta-aineindeksikaava on annettu alla. Laske IgG:n (I<sub>IgG</sub>) ja IgM:n (I<sub>IgM</sub>) spesifinen vasta-aineindeksi. Indeksia ei pidä laskea, jos aivo-selkäydinnestemäärittelyksen OD-keskiarvo on alle 0,150. Kaikki tällaiset testitulokset on raportoitava negatiivisina.

$$\text{Indeksi} = \frac{\text{OD}_{\text{CSF}}}{\text{OD}_{\text{SEERUMI}}} \times (\text{OD}_{\text{CSF}} - \text{OD}_{\text{SEERUMI}})$$

#### 10.4. TULOSTEN TULKITSEMINEN

##### 10.4.1 Kvalitatiivinen tulkinta

Tulkitse seuraavasti:

Intratekaalisten *B. burgdorferin* IgG-vasta-aineiden tuotanto negatiivista:

$$\text{tai} \quad \begin{matrix} \text{I}_{\text{IgG}} < 0,3 \\ \text{OD}_{\text{CSF}} < 0,150 \end{matrix}$$

Intratekaalisten *B. burgdorferin* IgG-vasta-aineiden tuotanto positiivista:

$$\text{I}_{\text{IgG}} \geq 0,3$$

Intratekaalisten *B. burgdorferin* IgM-vasta-aineiden tuotanto negatiivista:

$$\text{tai} \quad \begin{matrix} \text{I}_{\text{IgM}} < 0,3 \\ \text{OD}_{\text{CSF}} < 0,150 \end{matrix}$$

Intratekaalisten *B. burgdorferin* IgM-vasta-aineiden tuotanto positiivista:

$$\text{I}_{\text{IgM}} \geq 0,3$$

##### 10.4.2 Semikvantitatiivinen tulkinta

Mitä korkeampi saatu indeksiarvo on, sitä huomattavampaa on spesifisen intratekaalisen vasta-aineen tuotanto. Indeksiarvot voivat olla 100 tai jopa enemmän.

Spesifinen vasta-aineindeksi on erittäin herkkä, semikvantitatiivinen intratekaalisen vasta-ainetuotannon mittari, koska se määräytyy intratekaalisen vasta-ainetuotannon nopeuden, veriaivoesteen läpäisevyyden ja spesifisten seerumivasta-aineiden tason mukaan. Siten myöhemmissä hoidon jälkeisissä näytteissä muutos on katsottava merkittäväksi vain, jos positiivisesta indeksistä tulee < 0,3 tai jos se laskee tai nousee enemmän kuin 5 kertaa. Nämä ovat vain suuntaviivoja.

##### 10.4.3 Huomautuksia tulosten tulkitsemisesta

###### Tulosten ilmaiseminen

Intratekaalista vasta-aineen tuotantoa tapahtuu teoriassa, jos OD<sub>CSF</sub>/OD<sub>SEERUMI</sub> > 1. Tämä olettamus ei kuitenkaan ole turvallinen määrittelyksen sisäisen variaation takia, erityisesti OD-vaihteluvälin alapäässä. OD-arvon nettoero (OD<sub>CSF</sub> – OD<sub>SEERUMI</sub>) antaa tarkempaa tietoa, mutta määrittelyksen sisäisen variaation takia intratekaalista vasta-ainesynteesiä osoittava pienin OD-ero suurenee OD-arvojen suuretessa. Nämä puutteet poistuvat kertomalla UD-suhde OD-erolla, kuten spesifisessä vasta-aineindeksissä on ilmoitettu (I). Positiivisen tuloksen indeksiarvon alaraja 0,3 varmistaa, että OD<sub>CSF</sub> on merkittävästi korkeampi kuin OD<sub>SEERUMI</sub><sup>7</sup>.

###### Positiiviset tulokset

IgG- ja/tai IgM-indeksi ≥0,3 ja samanaikainen mononukleaarinen pleosytoosi aivo-selkäydinnesteessä viittaa voimakkaasti Lymen neuroborrelioosiin. (Korkea CSF-OD-arvo itsessään ei viittaa intratekaaliseen vasta-ainetuotantoon.)

IgM-indeksi ≥ 0,3 yleensä viittaa alle 6 kuukautta kestäneeseen sairauteen. Spesifisen IgM:n intratekaalinen synteesi on vahva indikaatio neuroborreliosisista, mutta IgM ei ole pakollinen löydös. Potilailla, joilla on yli 6 kuukautta kestänyt aktiivinen neuroborrelioosi, on yleensä vain spesifisen IgG:n intratekaalista synteesiä ja heillä havaitaan IgG-indeksi ≥ 0,3.

###### Negatiiviset tulokset

Negatiivinen tulos, eli IgG- ja IgM-indeksi < 0,3, sekä samanaikainen mononukleaarinen pleosytoosi aivo-selkäydinnesteessä ei sulje pois Lymen neuroborreliosisin kliinistä diagnoosia. Tämä on voimassa erityisesti, kun aika neurologisten oireiden alkamisen ja seerumi- ja aivo-selkäydinnäytteen ottamisen välillä on lyhyt.

Useimmilla hoitamattomilla potilailla, joilla on selviä kliinisiä merkkejä neuroborreliosisista, aivo-selkäydinnesteen spesifiset vasta-aineet muuttuvat havaittaviksi 2. viikolla neurologisten oireiden alkamisen jälkeen<sup>6</sup>. Potilailla, joilla on varhainen neuroborrelioosi ja negatiivinen testitulos, myöhempi näyte voi usein osoittautua positiiviseksi, myös hoidon aloittamisen jälkeen.

IgM-indeksi < 0,3 ei aina sulje pois spesifistä intratekaalista IgM-synteesiä. Sellaisen korkean (≥ 1,0) IgM OD-arvon saaminen aivo-selkäydinnesteestä, joka on sama tai vielä pienempi kuin vastaava seerumin IgM-arvo, voi silti viitata intratekaaliseen vasta-ainesynteesiin, jos veri-aivoesteen vaikea vaarantuminen voidaan sulkea pois<sup>6</sup>.

###### Hoidon jälkeiset näytteet

Myöhempien hoidon jälkeisten aivo-selkäydinneste-/seeruminäytteiden arviointi: Asianmukaisen antibioottilhoidon jälkeen spesifinen IgM-indeksi pienenee ja 6–9 kuukauden jälkeen indeksi on yleensä < 0,3. Kohonnut IgG-indeksi säilyy usein vuosia täydellisestä parantumisesta huolimatta.

IgG-indeksi ≥ 0,3 ilman samanaikaista mononukleaarista pleosytoosia aivo-selkäydinnesteessä on harvinainen löydös, hoidon jälkeisiä näytteitä lukuun ottamatta. Tämä löydös voi siksi viitata aiempaan neuroborreliosisiepisodeiin.

#### 11. SUORITUSKYVYN RAJOITUKSET

11.1. Aivo-selkäydinnestenäytteen liiallinen verikontaminaatio voi johtaa virheellisen mataliin spesifiisiin vasta-aineindekseihin.

11.2. *B. burgdorferin* ja *Treponema pallidum* antigeenisuhteen vuoksi serologisia ristireaktioita, vaikka ne ovatkin harvinaisia, voi ilmetä potilailla, joilla on äskettäin tai aiemmin ollut neurosyfilis<sup>13</sup>. Serologinen erottelu on mahdollista käyttämällä Treponemal-testejä, kuten T pallidum -hemagglutinaatiomäärittystä, tai ei-treponemal-testejä, kuten RPR-testiä tai VDRL-testiä (Venereal Disease Research Laboratory). Nämä testit ovat negatiivisia potilailla, joilla on pelkkä *B. burgdorferi* -infektio.

11.3. Aiempi antibioottilhoito voi kumota vasta-ainevasteen ja siten tehdä serologisista löydöksistä vähemmän ennustettavissa olevia.

11.4. Näytteiden ottaminen sairauden varhaisessa vaiheessa voi johtaa negatiivisiin testituloksiin (katso kohta 10).

11.5. Se haittaa testin suorituskykyä, jos reagensseja muokataan tai niitä säilytetään muissa olosuhteissa kuin kohdassa 4.2 määritetyissä.

11.6. Testitulokset tulkittava yhdessä epidemiologisista tutkimuksista saatavilla olevien tietojen, potilaan kliinisen arvioinnin ja muiden diagnostisten toimenpiteiden kanssa.

#### 12. ODOTUSARVOT

Spesifinen vasta-aineindeksi ≥ 0,3 osoittaa aina spesifisten vasta-aineiden intratekaalista synteesiä.

Neuroborreliosisipotilailla intratekaalinen vasta-ainesynteesi alkaa yleensä toisella viikolla neurologisten oireiden alkamisen jälkeen. Spesifinen IgG- ja/tai IgM-tuotanto on havaittavissa ≈ 80 %:lla potilaista, joilla on varma neuroborrelioosi, kolmannen viikon alkuun mennessä ja kaikilla potilailla 6–8 viikkoa neurologisten oireiden alkamisen jälkeen<sup>7</sup>.

Intratekaalisen vasta-ainetuotannon puuttuminen tai spesifisten vasta-aineiden läsnäolo aivo-selkäydinnesteessä seerumista tihkumisen tai aivo-selkäydinnesteen verikontaminaation vuoksi antaa vasta-aineindeksien arvoja ≤ 0.

#### 13. SPESIFISET SUORITUSKYVYMINAISUUDET

Paritetut aivo-selkäydinneste- ja seeruminäytteet 25 potilailta, joilla oli kliinisesti määritetty varhainen Lymen neuroborrelioosi, testattiin IDEIA Lyme Neuroborreliosis -testillä.

| IDEIA Lyme Neuroborreliosis                                                       | Potilasmäärä |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Positiivinen intratekaalisesti tuotettujen IgG-vasta-aineiden osalta              | 18           |
| Negatiivinen intratekaalisesti tuotettujen IgG-vasta-aineiden osalta              | 7            |
| Positiivinen intratekaalisesti tuotettujen IgM-vasta-aineiden osalta              | 12           |
| Negatiivinen intratekaalisesti tuotettujen IgM-vasta-aineiden osalta              | 13           |
| Positiivinen intratekaalisesti tuotettujen IgG- ja/ tai IgM-vasta-aineiden osalta | 19           |
| Negatiivinen intratekaalisesti tuotettujen IgG- ja/ tai IgM-vasta-aineiden osalta | 6            |

Spesifinen vasta-aineindeksi ≥ 0,3 löytyi IgG:n osalta 72 %:lta ja IgM:n osalta 48 %:lta näistä 25 potilaasta, joilla oli varhainen Lymen neuroborrelioosi. Vain yhdellä potilaalla oli spesifistä IgM-synteesiä ilman samanaikaista IgG-synteesiä. Joillakin potilailla, joilla oli matalat IgG-indeksit, oli kuitenkin IgM-indeksin arvot ≥ 0,3. Siksi diagnostiset todisteet lisääntyvät, kun tutkitaan sekä spesifinen IgG:n että IgM:n synteesi. 19 potilasta 25:stä (76 %), joilla oli varhainen Lymen neuroborrelioosi, tunnistettiin IDEIA Lyme Neuroborreliosis -testillä.

##### 13.1. RISTIREAKTIIVISUUS

Positiivinen tulos osoittaa aina intratekaalista *B. burgdorferi* -vasta-ainetuotantoa, paitsi kun testataan näytteitä neurosyfilispotilailta. Näiden potilaiden näytteet voivat antaa virheellisesti positiivisia tuloksia. *B. burgdorferi* -spesifinen vasta-aineindeksi pysyy kuitenkin yleensä matalana. Lisäksi on johdonmukaista, että ristireagoivat aivo-selkäydinnesteen vasta-aineet sekä seerumin vasta-aineet kuuluvat IgG-luokkaan<sup>3</sup>.

Intratekaalisen polyklonaalisen B-soluaaktivaation merkitys virheellisesti positiivisten IgM-tulosten syynä on tuntematon<sup>3</sup>.

#### 14. VIITTEET

- Burgdorferi W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. (1982)**  
Lyme disease - a tick-borne spirochetosis?  
Science **216**: 1317-9.
- Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorferi W, et al. (1983)**  
The spirochetal etiology of Lyme disease.  
N Engl J Med **308**: 733-40.
- Hansen K. (1994)**  
Lyme neuroborreliosis: Improvements of the laboratory diagnosis and a survey of epidemiological and clinical features in Denmark 1985 - 1990.  
Acta Neurol Scand (suppl. 151); **89**: 1-44.
- Stiernstedt GT, Granström M, Hederstedt B, Sköldenberg B. (1985)**  
Diagnosis of spirochetal meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay in serum and cerebrospinal fluid.  
J Clin Microbiol; **21**: 819-25.

- Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS. (1988)**  
Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease.  
J Clin Microbiol **26**: 338-46.
- Eldin, C., A. Raffetin, K. Bouiller, Y. Hansmann, F. Roblot, D. Raoult, and P. Parola. (2019).**  
Review of European and American Guidelines for the Diagnosis of Lyme Borreliosis.” Medecine et Maladies Infectieuses 49 (2): 121–32
- Hansen K, Lebech A-M. (1991)**  
Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific immunoglobulin G, A, and M.  
Ann Neurol; **30**: 197-205.
- Craft JE, Duncan KF, Shimamoto GT, Steere AC. (1986)**  
Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness.  
J Clin Invest **78**: 934-9.
- Karlsson M, Möllegård I, Stiernstedt G, Henriksson M, Wretling B. (1988)**  
Characterization of antibody response in patients with *Borrelia* meningitis. Serodiagn Immunother Infect Dis; **2**: 375-86.
- Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühbeck R, Pfister HW, et al. (1986)**  
Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphotic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome).  
J Infect Dis; **153**: 304-14.
- Hansen K, Cruz M, Link H. (1990)**  
Oligoclonal *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in cerebrospinal fluid in Lyme neuroborreliosis.  
J Infect Dis; **161**: 1194-202.
- Karlsson M. (1990)**  
Western immunoblot and flagellum enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis.  
J Clin Microbiol **28**: 2148-50.
- Naesens R., Vermeiren S., Van Schaeren J., Jeurissen A. (2011)**  
False Positive Lyme Serlogy due to Syphilis: Report of 6 cases and Review of the Literature. Acta Clin Beg. 66 (1): 58-59

#### 15. SYMBOLIEN SELITYS

| REF                                                                                   | Luettelonumero                                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| IVD                                                                                   | In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinällinen laite |
|   | Katso käyttöohjeet (IFU)                                  |
|  | Lämpötilarajoitukset (säilytyslämpötila)                  |
|  | Sisältö riittää <n> testiin                               |
| LOT                                                                                   | Eräkoodi (eränumero)                                      |
|  | Viimeinen käyttöpäivä                                     |
|  | Pidettävä poissa auringonvalosta                          |
|  | Valmistele                                                |
|  | Maahantuoja                                               |
| UDI                                                                                   | Yksilöllinen laitetunniste                                |
| EC REP                                                                                | Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä                  |
| UK CA                                                                                 | Ison-Britannian yhdemukaisuus arvioitu                    |
| CE                                                                                    | Eurooppalainen yhdenmukaisuus arvioitu                    |
|  | Valmistaja                                                |

**CE UK CA 2797**

 OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Iso-Britannia  
+44 (0) 1256 841144 thermofisher.com

Jos sinulla on kysyttävää, ota yhteyttä paikalliseen jälleenmyyjään.

| Versio | Muuttamispäivämäärä                             |
|--------|-------------------------------------------------|
| X7840G | TBC<br>Päivitetty noudattamaan IVDR-direktiiviä |

Painettu Isossa-Britanniassa



Pagrindinis kodas TSMX7840G
www.oxid.com/ifu

Europa 00800 135 79 135 JAV 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 Kitos vietovės: +31 20 794 7071

# „IDEIA™ Lyme Neuroborreliosis“

**[REF]** K602811-2 .....▽96

#### 1. NUMATYTASIS NAUDOJIMAS

„IDEIA™ Lyme Neuroborreliosis“ yra kokybinis fermentinis imunologinis tyrimas, skirtas klinikiniuose mėginiuose aptikti intratekalinius žmogaus antikūnus IgG ir IgM prieš *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Tyrimo rezultatai skirti padėti gydytojams diagnozuoti Laimo neuroboreliozę. Priemonė nėra automatinė, skirta naudoti tik profesionalams ir nėra papildoma diagnostikos priemonė.

**[IVD]** - Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai.

#### 2. SANTRAUKA

Laimo boreliozė yra daugiasteminė infekcija, kurią sukelia erkų spirochetos *B. burgdorferi* sensu lato<sup>1,2</sup>.

Nervų sistemos pažeidimas, vadinamas neuroborelioze, yra dažnas ir sunkus sutrikimas, kuriuo pasireiškia Laimo boreliozė<sup>3</sup>.

Reikalingas jautrus ir patikimas neuroboreliozės diagnostikos tyrimas, nes kai kurioms kitoms ligoms būdingi panašūs simptomai, tačiau neuroboreliozę, priešingai nei daugelį šių ligų, galima gydyti antibiotikais.

Šiuo metu geriausias aktyvus neuroboreliozės indikatorius yra uždegiminiai nugaros smegenų skysčio (CSF) pokyčiai, ypač mononuklearinių ląstelių kiekiu padidėjimas (mononuklearinė pleocitozė), kartu su CSF aptinkamais intratekaliniais specifiniais Borrelia antikūnais. Specifinio intratekalinio imuninio atsako aptikimas diagnostiškai yra reikšmingesnis nei specifinių antikūnų kiekiu serume matavimas. Be to, sergant neuroborelioze specifinių antikūnų sintezė CSF prasideda anksčiau nei serume<sup>4,5,6</sup>.

„IDEIA Lyme Neuroborreliosis“ skirtas jautriai ir tiesiogiai aptikti intratekalinius IgG ir IgM antikūnus prieš *B. burgdorferi*. Nereikia atlikti pamatinių medžiagų (pavyzdžiui, albumino ir kt.) matavimo ir sudėtingo koregavimo, susijusio su serumo antikūnų transudacija į CSF, pasireiškiančia dėl kraujo ir CSF barjero pažeidimo. Klaidingai teigiami rezultatai negaunami net tuo atveju, jeigu nugaros smegenų punkcijos metu į CSF patenka kraujo<sup>7</sup>.

Šiame tyrime kaip tiriamasis antigenas naudojamas išgrynintas natyvusis *B. burgdorferi* žiuželis. Žiuželis yra labai imunogeniškas, sukelia ankstyvą, stiprų ir ilgalaikį imuninį atsaką<sup>8,9</sup> ir yra pagrindinis antigenas, sukeliantis intratekalinių antikūnų atsaką<sup>10,11</sup>. Palyginus su įprastu antigenu, kuris gaunamas iš visos spirochetos ląstelės ekstrakto, išgrynintas natyvusis žiuželio antigenas užtikrina geresnį diagnostinį Laimo boreliozės serologinio tyrimo jautrumą ir specifiskumą<sup>5,12</sup>. Be to, žiuželį galima naudoti kaip tyrimo antigeną visose geografinėse vietovėse, nes *B. burgdorferi* padermių žiuželiai neturi reikšmingų skirtumų.

#### 3. TYRIMO PRINCIPAS

Tyrimas paremtas sulaikymo ELISA principu ir jį sudaro žmogaus IgG sulaikymo tyrimas bei žmogaus IgM sulaikymo tyrimas, kad būtų galima nustatyti intratekalinius atitinkamai IgG ir IgM antikūnus prieš *B. burgdorferi*. Toliau pateikiamas išsamus žmogaus IgG sulaikymo tyrimo aprašymas.

Poriniai CSF ir serumo mėginiai įdedami į mikrošulinėlius, padengtus žmogaus IgG specifiniais antikūnais. CSF ir serumo atskiedimas užtikrina, kad antižmogaus IgG sulaikymo antikūnas prisotinamas CSF arba serumo IgG. Todėl šulinėliuose sulaikomas tas pats viso IgG iš CSF arba serumo kiekis.

Praplovus mikrošulinėlius, kad būtų pašalintas baltymų perteklius, į mikrošulinėlius pridedama biotinilintų natvyvių *Borrelia* žiuželių ir su peroksidaze konjuguoto streptavidino komplekso (žiuželio konjugatas). Prie žiuželio konjugato prisijungia tik *B. burgdorferi* specifinis IgG, o ne *B. burgdorferi* specifinis IgG nesijungia prie žiuželio konjugato.

Žiuželio konjugato perteklius pašalinamas plaunant. Mikrošulinėlįje prisijungusio žiuželio konjugato kiekis vizualizuojamas pridendant chromogeninio substrato, dėl kurio išryškėja mėlyna spalva. Reakcija sustabdoma pridėjus rūgšties, dėl kurios mėlyna spalva pasikeičia į geltoną. Spalvos intensyvumas atitinka ant kietos fazės sulaikytų *B. burgdorferi* specifinių IgG kiekį.

Žmogaus IgM sulaikymo tyrimas yra panašus į žmogaus IgG sulaikymo tyrimą, išskyrus tai, kad mikrošulinėliai padengiami antižmogaus IgM sulaikymo antikūnais.

Paprastai bendra IgG ir IgM koncentracija CSF skystyje yra labai maža palyginus su koncentracija serume. Dėl šios priežasties, vykstant intratekalinei *B. burgdorferi* specifinių antikūnų gamybai, specifinių IgG arba IgM antikūnų kiekis CSF skystyje sudarys atitinkamai daug didesnę bendro IgG ir IgM kiekio dalį nei serume aptinkamas kiekis. Jeigu intratekalinė specifinių antikūnų gamyba nevyksta arba jeigu CSF skystyje specifinių antikūnų yra dėl užteršimo krauju arba dėl transudacijos iš serumo, CSF OD vertės ir serumo OD vertės skirtumas yra <0.

Todėl neuroboreliozės atveju CSF OD vertė yra daug didesnė palyginus su serumo mėginio OD verte. Tokiais atvejais CSF OD vertės ir serumo OD vertės skirtumas yra >0.

Palyginus lygiagrečiai ištirtų porinių serumo ir CSF mėginių OD vertes galima nustatyti, ar gaminasi intratekaliniai specifiniai *B. burgdorferi* antikūnai. Tyrimo rezultatų skaičiavimo formulė sukurta taip, kad lyginant porinių CSF ir serumo mėginių OD verčių skirtumus būtų atsižvelgta į visus skirtumus tarp tyrimų<sup>6</sup>.

Dėl selektyvaus IgG ir IgM antikūnų imunologinio sulaikymo nepasireiškia kitų imunoglobulinų klasių konkurencinių trikdžių. Konjuguoto tyrimo antigeno naudojimas papildomai apsaugo nuo reumatoidinio faktoriaus (RF) trikdžių.

#### 4. PATEIKIAMII REAGENTAI



Kiekviename rinkinyje yra medžiagų, kurių pakanka 96 tyrimams. Rinkinio tinkamumo naudoti laikotarpis nurodytas išorinės dėžutės etiketėje. Nenaudotus komponentus laikykite 2–8 °C temperatūroje.

#### 4.1. „IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS“ TYRIMO SUDEDAMOSIOS DALYS



[MICROTITRATION PLATE]

Naudojimo instrukcijos (IFU)

48 mikrošulinėliai (6 juostelės po 8 mikrošulinėlius), padengti antižmogaus IgG (pažymėti G raide, atspausdinta kiekvienos mikrošulinėlių juostelės gale esančioje kortelėje), ir 48 mikrošulinėliai (6 juostelės po 8 mikrošulinėlius), padengti antižmogaus IgM (pažymėti M raide, atspausdinta kiekvienos mikrošulinėlių juostelės gale esančioje kortelėje). Pakartotinai užsandarinamas plastikinis maišelis, skirtas nenaudotiems mikrošulinėliams laikyti. Atidžiai naudokite juosteles, ypač jeigu šulinėliai atskirti nuo juostelės, nes pažymėta kiekviena juostelė, o atskiri šulinėliai nepažymėti.

Po vieną visų toliau nurodytų medžiagų buteliuką:

[SAMPLE DILUENT]

100 ml, mėginio skiediklis: Buferinis tirpalas su detergentu, antimikrobine medžiaga, nudažytas raudonais dažais.

[WASH BUFFER (X25)]

50 ml, plovimo buferio koncentratas x25: Buferinis tirpalas su detergentu ir antimikrobinėmis medžiagomis.

[IgG POSITIVE CONTROL]

1,5 ml, IgG teigiama kontrolinė medžiaga: Žmogaus serumas buferiniame tirpale su antimikrobine medžiaga, nudažytas žaliais dažais.

[IgM POSITIVE CONTROL]

1,5 ml, IgM teigiama kontrolinė medžiaga: Žmogaus serumas buferiniame tirpale su antimikrobine medžiaga, nudažytas geltonai.

[FLAGELLUM CONJUGATE]

Liofilizuotas žiuželio konjugatas: Prieš naudojimą biotinilintas *B. burgdorferi* žiuželis turi būti atskiedžiamas naudojant skiedimo buferinį tirpalą ir sujungiamas į kompleksą su streptavidinu, konjuguotu su peroksidaze.

[RECONSTITUTION BUFFER]

12,5 ml, skiedimo buferinis tirpalas: Buferinis tirpalas su antimikrobine medžiaga, nudažytas mėlynais dažais.

[PEROXIDASE COMPLEX]

1 ml, peroksidazės kompleksas: Su peroksidaze konjuguotas streptavidinas buferiniame tirpale, kuriame yra nešančių baltymų ir antimikrobinės priemonės.

[SUBSTRATE TMB]

12 ml, substratas: stabilizuotas peroksidas ir 3,3',5,5'-tetrametilbenzidinas praskiestame buferiniame tirpale. Pranešama, kad TMB yra nekancerogeninis. Tačiau rekomenduojama dėvėti asmens apsaugos priemones, kad išvengtumėte tiesioginio kontakto.

[STOP SOLUTION]

25 ml, baigmės tirpalas: 0,46 mol/l sieros rūgštis.

#### 4.2. RINKINIO KOMPONENTŲ PARUOŠIMAS, LAIKYMAS IR PAKARTOTINIS NAUDOJIMAS

„IDEIA Lyme Neuroborreliosis“ rinkinio formatas leidžia atlikti iki 6 atskirų tyrimų bet kuriuo 3 mėnesių trukmės laikotarpiu iki rinkinio etiketėje nurodyto galiojimo laiko pabaigos. Siekiant užtikrinti optimalų rinkinio veikimą, svarbu nepanaudotus rinkinio komponentus ruošti ir laikyti vadovaujantis toliau pateikiamais nurodymais.

##### 4.2.1 Mikrošulinėliai - [MICROTITRATION PLATE]

Lėkštelės maišelį atidarykite jį nukirpdami išilgai sandarinimo juostelės. Nulaužkite reikiamą antižmogaus IgG juostelių (pažymėtos G raide, atspausdinta kiekvienos mikrošulinėlių juostelės gale esančioje kortelėje) kiekį ir reikiamą antižmogaus IgM juostelių (pažymėtos M raide, atspausdinta kiekvienos mikrošulinėlių juostelės gale esančioje kortelėje) kiekį. Naudojant vieną juostelę galima atlikti po du vieno paciento CSF ir serumo nustatymus, o likę keturi juostelės mikrošulinėliai skirti teigiamai ir buferinio tirpalo kontrolems. Kiekvienoje papildomoje IgG ir IgM juostelėje galima ištirti po du dviejų pacientų mėginius. Jeigu vienu metu naudojama visa plokštelė, kurią sudaro 6 IgG ir 6 IgM juostelės, galima ištirti 11 pacientų IgG ir IgM antikūnus CSF ir serumo mėginiuose.

Nenaudotus mikrošulinėlius įdėkite į pakartotinai užsandarinamą plastikinį maišelį su drėgmę sugeriančia medžiaga, kruopščiai užsandarinkite maišelį ir laikykite jį 2–8 °C temperatūroje. Mikrošulinėlius galima naudoti iki 12 savaičių po pirmojo atidarymo, jeigu jie laikomi tokiomis sąlygomis, arba iki ant lėkštelės nurodyto galiojimo laiko pabaigos, jeigu jis yra ankstesnis. Mikrošulinėliai skirti tik vienkartiniam naudojimui ir jų negalima naudoti pakartotinai.

##### 4.2.2 Mėginio skiediklis - [SAMPLE DILUENT]

Paruoštas naudoti. Nenaudotą mėginio skiediklį laikykite 2–8 °C temperatūroje.

##### 4.2.3 Plovimo tirpalo koncentratas - [WASH BUFFER (X25)]

Pateikiamas x25 koncentratas. Paruoškite darbinės koncentracijos plovimo buferinį tirpalą, sumaišydami 1 dalį plovimo buferinio tirpalo koncentrato su 24 dalimis šviežio dejonizuoto arba distiliuoto vandens (arba įpilkite plovimo buferinio tirpalo koncentrato turinį į 1 200 ml šviežio dejonizuoto arba distiliuoto vandens). **Darbinės koncentracijos plovimo buferinį tirpalą tinkamai paruoškite naudojimo dieną.** Nenaudotą koncentratą laikykite 2–8 °C temperatūroje.

**Nepanaudoto, atskiesto plovimo buferinio tirpalo nelaikykite vėlesniam naudojimui** (žr. 8.2.11 skyrių).

##### 4.2.4 IgG teigiama kontrolė - [IgG POSITIVE CONTROL]

Paruoštas naudoti. Nenaudotą IgG teigiamą kontrolę laikykite 2–8 °C temperatūroje.

##### 4.2.5 IgM teigiama kontrolė - [IgM POSITIVE CONTROL]

Paruoštas naudoti. Nenaudotą IgM teigiamą kontrolę laikykite 2–8 °C temperatūroje.

##### 4.2.6 Žiuželio konjugatas, peroksidazė ir skiedimo buferinis tirpalas – [FLAGELLUM CONJUGATE]/[RECONSTITUTION BUFFER]/[PEROXIDASE COMPLEX]

Liofilizuotą, biotinilintą *Borrelia* žiuželio konjugatą atskieskite skiedimo buferiniu tirpalu ir įpilkite 650 µl peroksidazės komplekso. Sumaišykite apversdami.

**Žiuželio konjugatą reikia atskiesti likus ne mažiau nei 1 val. iki naudojimo.** Atskiestą žiuželio konjugatą reikia laikyti 2–8 °C temperatūroje ir sunaudoti per 3 mėnesius arba iki galiojimo laiko pabaigos, jei jis yra ankstesnis.

##### 4.2.7 Substratas - [SUBSTRATE TMB]

Paruoštas naudoti. Nenaudotą substratą laikykite 2–8 °C temperatūroje.

##### 4.2.8 Baigmės tirpalas - [STOP SOLUTION]

Paruoštas naudoti. Nenaudotą baigmės tirpalą laikykite 2–8 °C temperatūroje.

#### 5. PAPILDOMI REAGENTAI

##### 5.1. REAGENTAI

Šviežias dejonizuotas arba distiliuotas vanduo.

#### 6. ĮRANGA

Reikalinga toliau nurodyta įranga.

Matavimo cilindras (2 l)

Apytiksliai 5 ml talpos tyrimo mėgintuvėliai

Tikslios mikropipetės ir vienkartiniai antgaliai, 10–1 000 µl tūrio

8 kanalų pipetė, 100 µl tūrio (pasirenkama)

8 kanalų pipetės reagentų rezervuarai (pasirenkama)

Švarus sugeriamasis popierius (ant kurio galima uždėti mikrošulinėlius, kad nudžiūtų)

Mikrošulinėlių plokštelės plastikinis dangtelis

Mikrotrravimo plokštelės purtyklė, kurios mažiausias greitis yra 500 aps./min., o sukimosi skersmuo yra 3–4 mm. Dėl informacijos apie plokštelės purtyklės tinkamumą kreipkitės į savo vietos platintoją.

Laikmatis

Automatinis plokštelės plovimo įrenginys (pasirenkama) arba įranga, tinkama plauti 8 mikrošulinėlių juosteles (9.2.3 skyrius).

**Pastaba. Jeigu naudojant automatinį plovimo įrenginį su 8 mikrošulinėlių galvute plauinama mažiau nei 8 tyrimo mikrošulinėliai juostelėje, juostelę būtina visiškai užpildyti tuščiais mikrošulinėliais.**

Spektrofotometras arba EIA plokščių skaitytuvas, kuriuo galima nuskaityti 96 mikrošulinėlių plokštelę iš 8 mikrošulinėlių juostelių, kai sugertis vyksta esant 450 nm bangos ilgiui, o pamatinis intervalas yra 620–650 nm. (Pasirenkama, 9.3 skyrius „Tyrimo rezultatų skaitymas“).

#### 7. ATSARGUMO PRIEMONĖS

##### 7.1. SAUGOS ATSARGUMO PRIEMONĖS

7.1.1 Skirta naudoti tik specialistams.

7.1.2 Nenaudokite priemonės, jeigu ji sugedusi.

7.1.3 Informaciją apie galimai pavojingas suvedamąsias dalis žr. „ThermoFisher“ interneto svetainėje pateiktame medžiagos saugos duomenų lape (MSDL) ir gaminio etiketėje.

7.1.4 Apie bet kokį pavojingą incidentą, susijusį su priemone, būtina pranešti gamintojui ir kompetentingai šalies narės, kurioje registruotas naudotojas ir (arba) pacientas, institucijai.

7.1.5 Teigiamų kontrolinių medžiagų paruošimui naudojamas serumas buvo patikrintas atskirai ir buvo nustatyta, kad jis yra neigiamas hepatito B viruso paviršiaus antigenams ir ŽIV bei hepatito C antikūnams, tačiau su teigiamomis kontrolinėmis medžiagomis reikia elgtis tarsi su galimai užkrečiamomis medžiagomis.

7.1.6 Baigmės tirpalo sudėtyje yra sieros rūgšties (0,46 mol/l). Dėvėkite apsauginius drabužius ir akinius, kad jo nepatektų į akis ir ant odos.

7.1.7 Darbo vietoje nevalgykite, negerkite, nerūkykite, nelaikykite ir neruoškite maisto produktų bei nesitpekite kosmetikos.

7.1.8 Netraukite pipetės burna.

7.1.9 Dirbdami su klinikiniais mėginiais dėvėkite vienkartines pirštines, baigę darbą su užkrėstomis medžiagomis visuomet nusiplaukite rankas.

7.1.10 Visus klinikinius mėginius ir teigiamas kontrolines medžiagas išmeskite laikydamiesi vietos teisės aktų.

7.1.11 Plovimo buferinio tirpalo koncentrato sudėtyje yra Tris-hidrochlorido, priskiriamo pavojingoms medžiagoms, kaip nurodyta (EB) Nr. 1272/2008. Taikomos toliau nurodytos pavojaus (H) ir atsargumo (P) frazės.

#### ISPĖJIMAS

|                 |                                                                                                                                                               |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| H315            | Dirgina odą.                                                                                                                                                  |
| H319            | Sukelia smarkų akių dirginimą.                                                                                                                                |
| P332+P313       | Jeigu sudirginama oda: Kreiptis į gydytoją.                                                                                                                   |
| P305+P351 +P338 | PATEKUS Į AKIS: atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. |
| P280            | Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones.                                                             |

##### 7.2. TECHNINĖS ATSARGUMO PRIEMONĖS

7.2.1 Komponentų negalima naudoti, jeigu pasibaigęs etiketėje nurodytas jų galiojimo laikas. Nemaišykite ir nesukeikite vietomis skirtingų partijų reagentų, išskyrus standartinius reagentus (mėginio skiediklis, plovimo buferinio tirpalo koncentratas, substratas ir baigmės tirpalas).

7.2.2 Pateikiami reagentai yra fiksuotos darbinės koncentracijos. Jeigu reagentai pakeičiami arba laikomi kitokiomis nei 4.2 skyriuje nurodytomis sąlygomis, tai gali pakenkti tyrimo veiksmingumui.

7.2.3 Neužterškite reagentų.

7.2.4 Kiekvienam mėginiui, kontrolinei medžiagai arba reagentui naudokite atskiras vienkartines pipetes arba pipetės antgalius, kad neįvyktų mėginio arba kontrolinių medžiagų kryžminė tarša, dėl kurios gali būti gaunami klaidingi rezultatai.

7.2.5 Neužterškite metalų jonais ir oksiduojančiomis medžiagomis.

7.2.6 Koncentruotų reagentų skiedimui skirtą dejonizuotą arba distiliuotą vandenį laikykite švariose talpyklėse, kad neįvyktų mikrobinė tarša.

7.2.7 Nenaudokite substrato, jeigu jo spalva yra mėlyna prieš jį įdedant į mikrošulinėlius.

7.2.8 Saugokite substratą nuo šviesos.

7.2.9 Mikrošulinėlių nenaudokite pakartotinai.

7.2.10 Rankinė ar automatinė plovimo įranga, neužteršta mikroorganizmais, tinkamai skalibruota ir prižiūrima laikantis gamintojo nurodymų.

7.2.11 Nepanaudoto darbinės koncentracijos plovimo buferinio tirpalo nelaikykite vėlesniam naudojimui. Nenaudojamas plovimo buferinio tirpalo talpyklės reikia išplauti dejonizuotu arba distiliuotu vandeniu ir leisti išdžiūti.

#### 8. MĖGINIŲ ĖMIMAS IR RUOŠIMAS

##### 8.1. MĖGINIŲ ĖMIMAS

„IDEIA Lyme Neuroborreliosis“ rinkinys skirtas tirti porinius žmogaus CSF ir serumo mėginius vienu metu.

Porinius CSF ir serumo mėginius reikia paimti iš paciento vienu metu. Reikia paimti mažiausiai 0,5 ml CSF, rekomenduojama paimti 1–2 ml CSF, kad būtų galima pakartoti tyrimą ir (arba) veiksmingumo tyrimą, taikant mažesnį CSF atskiedimą. Tyrimui pakanka 0,5 ml serumo.

Tiriant drumstus arba klampus mėginius gali būti gaunami nepatikimi rezultatai, nes gali įvykti lašinimo pipete klaidų.

Porinius CSF ir serumo mėginius iki tyrimo galima laikyti 14 dienų 2–8 °C temperatūroje ir iki 6 mėnesių -20 °C temperatūroje.

##### 8.2. MĖGINIŲ RUOŠIMAS

CSF mėginius atskieskite santykiu 1:4, pridėdami 100 µl CSF į 400 µl mėginio skiediklio.

Serumo mėginius atskieskite santykiu 1:200, pridėdami 10 µl serumo į 2 ml mėginio skiediklio.

#### 9. TYRIMO PROCEDŪRA

**PRIEŠ ATLIKDAMI TYRIMO PROCEDŪRĄ ŽR. 7.2 SKYRIŲ „TECHNINĖS ATSARGUMO PRIEMONĖS“.**

##### 9.1. INFORMACIJA APIE PROCEDŪRĄ

9.1.1 Tyrimo veiksmingumo patvirtinimas paremtas visų mėginių konkurenciniu dublikatų tyrimu. Jeigu paciento mėginiai bus tiriami po vieną, tai daryti rekomenduojama tik naudotojui susipažinus su tyrimo veiksmingumo charakteristikomis. Variacija (VK %) tarp tyrimų yra apytiksliai 50 % didesnė, kai nustatymas paremtas vieno mėginio tyrimu.

9.1.2 Jeigu nėra 500 aps./min. greičiu veikiančios purtyklės, 2 inkubavimo žingsnių metu mikrošulinėlių juostelių purtymo greitį galima sumažinti iki 300 aps./min., nesukeliant neigiamo poveikio tyrimo efektyvumui, arba galima taikyti statinį inkubavimo protokolą; dėl papildomos informacijos apie tinkamus protokolus kreipkitės į savo vietos platintoją.

##### 9.2. TYRIMO PROCEDŪRA

**PASTABA.** Per šią tyrimo procedūrą reikia naudoti mikrotitravimo plokštelės purtyklę. Dėl informacijos apie purtyklės tinkamumą kreipkitės į savo vietos platintoją.

Jeigu naudojamos kelios juostelės, konjugatui, substratui ir baigmės tirpalui įlašinti rekomenduojama naudoti 8 kanalų pipetę.

##### 9.2.1 Mėginio ir kontrolinės medžiagos įdėjimas

Į mikrošulinėlių laikiklį įdėkite reikiamą mikrošulinėlių kiekį. Į anti-IgG juostelės ir anti-IgM juostelės mikrošulinėlius (po du) įpilkite 100 µl atskiesto paciento CSF ir serumo. Atidžiai naudokite juosteles, ypač jeigu šulinėliai atskirti nuo juostelės, nes pažymėta kiekviena juostelė, o atskiri šulinėliai nepažymėti. Įpilkite 100 µl IgG teigiamos kontrolinės medžiagos į du anti-IgG mikrošulinėlius ir 100 µl IgM teigiamos kontrolinės medžiagos į 2 anti IgM mikrošulinėlius. Į atskirus IgG ir IgM mikrošulinėlius įpilkite mėginio skiediklio. (Prie kiekvienos tiriamų mėginių partijos reikia pridėti bent 1 mėginių skiediklio mikrošulinėlį).

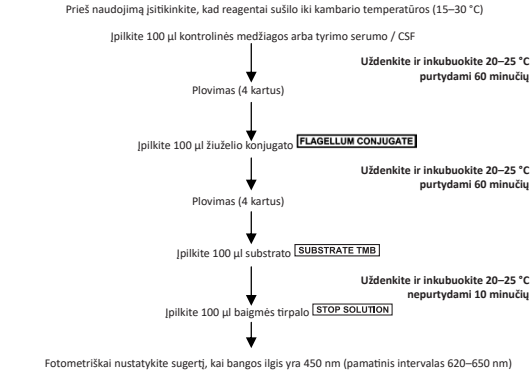
##### 9.2.2 Mėginio inkubavimas

Mikrošulinėlius uždenkite ir inkubuokite ant purtyklės kambario temperatūroje (20–25 °C) **ptyrdami 60 minučių**.

##### 9.2.3 Mikrošulinėlių plovimas

Mikrošulinėlius reikia plauti darbinės koncentracijos plovimo buferiniu tirpalu (žr. 4.2.3 skyrių).

9.4. „IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS“ TYRIMO PROCEDŪROS SANTRAUKA



10. KOKYBĖS KONTROLĖ IR REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

10.1. BUFERINIO TIRPALO KONTROLINĖ MEDŽIAGA

Apskaičiuokite 2 buferinio tirpalo kontrolinės medžiagos mikrošulinėlių vidutinės OD vertes.

Buferinio tirpalo kontrolės medžiagos vidutinė OD vertė turi būti mažesnė nei 0,100, bet didesnė nei 0,000 (dvigubas bangos ilgio nuskaitymas).

Jeigu vertė yra didesnė nei 0,100, tai gali įvykti dėl netinkamo plovimo arba substrato užteršimo. Jeigu vertė mažesnė nei 0,000, reikia iš naujo nuskaityti nulinę ELISA skaitytuvo vertę ore ir iš naujo nuskaityti mikrošulinėlių vertes.

Jeigu kokybės kontrolės reikalavimai netenkinami, tyrimo rezultatai yra negaliojantys ir tyrimą reikia atlikti pakartotinai.

10.2. IgG teigiama kontrolinė medžiaga ir IgM teigiama kontrolinė medžiaga

Apskaičiuokite IgG teigiamos kontrolinės medžiagos ir IgM teigiamos kontrolinės medžiagos vidutinės OD vertes. Atskiros dubliuotų tyrimų OD vertės negali daugiau nei 15 % skirtis nuo vidutinės OD vertės.

IgG teigiamos kontrolinės medžiagos ir IgM teigiamos kontrolinės medžiagos vidutinė OD vertė atitinkamai turi būti ne mažesnė nei 0,500. Jeigu šios vertės yra mažesnės nei 0,500, jos gali pasireikšti dėl netinkamo plovimo, nepakankamo purtymo inkubavimo metu arba žemos aplinkos temperatūros, ypač inkubuojant su substrato tirpalu.

Jeigu kokybės kontrolės reikalavimai netenkinami, tyrimo rezultatai yra negaliojantys ir tyrimą reikia atlikti pakartotinai.

10.3. PACIENTO MĖGINIAI

Apskaičiuokite kiekvieno paciento CSF mėginio vidutinę OD vertę (OD<sub>CSF</sub>) ir serumo mėginio vidutinę OD vertę (OD<sub>SERUMAS</sub>), kad nustatytumėte IgG ir IgM. OD vertės negali daugiau nei 15 % skirtis nuo vidutinės vertės. Visus tokius mėginius reikia ištirti pakartotinai. Tačiau jeigu abiejų tyrimo mikrošulinėlių rezultatas yra neigiamas, gali būti priimtinas didesnis nei 15 % skirtumas ir nereikia atlikti pakartotinio tyrimo, nes mažos OD vertės matuojamos mažesniu tikslumu.

Specifinių antikūnų koeficiento formulė pateikiama toliau. Apskaičiuokite atitinkamai IgG (I<sub>IgG</sub>) ir IgM (I<sub>IgM</sub>) specifinių antikūnų koeficientą. Koeficiento negalima skaičiuoti, jeigu nustatyta CSF vidutinė OD vertė yra mažesnė nei 0,150. Visi tokie tyrimo rezultatai turi būti laikomi neigiamais.

$$\text{Koeficientas} = \frac{\text{OD}_{\text{CSF}}}{\text{OD}_{\text{SERUMAS}}} \times (\text{OD}_{\text{CSF}} - \text{OD}_{\text{SERUMAS}})$$

10.4. REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

10.4.1 Kokybinis interpretavimas

Interpretuokite, kaip nurodyta toliau:

Neigiamas intratekaliniams IgG antikūnams prieš *B. burgdorferi*:

$$\text{arba } \frac{\text{I}_{\text{IgG}} < 0,3}{\text{OD}_{\text{CSF}} < 0,150}$$

Teigiamas intratekaliniams IgG antikūnams prieš *B. burgdorferi*:

$$\text{I}_{\text{IgG}} \geq 0,3$$

Neigiamas intratekaliniams IgM antikūnams prieš *B. burgdorferi*:

$$\text{arba } \frac{\text{I}_{\text{IgM}} < 0,3}{\text{OD}_{\text{CSF}} < 0,150}$$

Teigiamas intratekaliniams IgM antikūnams prieš *B. burgdorferi*:

$$\text{I}_{\text{IgM}} \geq 0,3$$

10.4.2 Pusiau kiekybinis interpretavimas

Kuo didesnė gauta koeficiento vertė, tuo stipresnė specifinių intratekalinių antikūnų gamyba. Koeficiento vertės gali būti didesnės nei 100.

Specifinių antikūnų koeficientas yra labai jautrus pusiau kiekybinis intratekalinių antikūnų gamybos matas, nes priklauso nuo intratekalinių antikūnų gamybos greičio, kraujo ir CSF barjero pralaidumo bei specifinių antikūnų koncentracijos serume. Taigi, vienas po kito tiriamuose mėginiuose po gydymo pokytis laikomas reikšmingu tik tuomet, jeigu teigiamas koeficientas tampa <0,3, arba jeigu jis sumažėja arba padidėja daugiau negu 5 kartus. Šios gairės yra tik rekomendacinio pobūdžio.

10.4.3 Pastabos apie rezultatų interpretavimą

Rezultatų išreiškimas

Intratekalinių antikūnų gamyba teoriškai vyksta, jeigu  $\text{OD}_{\text{CSF}} / \text{OD}_{\text{SERUMO}} > 1$ . Tačiau daryti tokią prielaidą nesaugu, nes pasireiškia skirtumai tarp tyrimų, ypač jeigu OD vertės mažesnės. Grynasis OD skirtumas ( $\text{OD}_{\text{CSF}} - \text{OD}_{\text{SERUMAS}}$ ) suteikia tikslesnės informacijos, tačiau dėl skirtumų tarp tyrimų minimalus OD skirtumas, reiškiantis intratekalinių antikūnų gamybą, didėja didėjant OD vertėms. Šie trūkumai pašalinami padauginus OD santykį iš OD skirtumo, išreikšto specifinių antikūnų koeficientu (I). Koeficiento vertės mažiausia ribinė vertė, lygi 0,3, reiškianti teigiamą rezultatą, užtikrina, kad OD<sub>CSF</sub> yra žymiai didesnė nei OD<sub>SERUMAS</sub><sup>7</sup>.

Teigiami rezultatai

Jeigu IgG ir (arba) IgM koeficientas ≥0,3 ir kartu pasireiškia CSF skysčio mononuklearinė pleocitozė, tai rodo didelę Laimo neuroboreliozės diagnozės tikimybę. (Vien tik didelė CSF skysčio OD vertė nereiškia intratekalinių antikūnų gamybos).

Jeigu IgM koeficientas ≥0,3, tai įprastai reiškia, kad liga trunka trumpiau nei 6 mėnesius. Intratekalinė specifinių IgM sintezė reiškia didelę neuroboreliozės tikimybę, tačiau IgM nėra būtinai aptinkami. Pacientams, kurie serga aktyvia neuroborelioze ilgiau nei 6 mėnesius, paprastai vyksta tik IgG intratekalinė sintezė, o nustatomas IgG koeficientas yra ≥0,3.

Neigiami rezultatai

Jeigu rezultatas yra neigiamas, t. y. kai IgG ir IgM koeficientas yra <0,3, bet kartu pasireiškia CSF mononuklearinė pleocitozė, negalima atmesti klinikinės Laimo neuroboreliozės diagnozės. Tai ypač taikoma tuomet, kai laikotarpis nuo neurologinių simptomų pradžios iki serumo ir CSF mėginio paėmimo yra trumpas.

Daugeliui pacientų, kuriems nebuvo taikomas gydymas ir kuriems pasireiškia konkretūs klinikiniai neuroboreliozės požymiai, specifiniai antikūnai CSF skystyje aptinkami antrą savaitę po neurologinių simptomų pradžios<sup>6</sup>. Pacientams, kuriems anksti nustatoma neuroboreliozė, nors tyrimo rezultatas yra neigiamas, vėlesnio mėginio tyrimo rezultatas dažnai būna teigiamas, net jeigu buvo taikomas gydymas.

Jeigu IgM koeficientas yra <0,3, ne visuomet galima atmesti specifinių intratekalinių IgM sintezę. Didelė (≥1,0) IgM OD vertė CSF skystyje, kuri yra lygi ar net mažesnė nei atitinkama IgM vertė serume, vis tiek gali reikšti, kad vyksta intratekalinių antikūnų sintezė, jeigu galima atmesti stiprų kraujo ir CSF barjero pažeidimą<sup>6</sup>.

Po gydymo paimti mėginiai

Po gydymo paimtų nuoseklių CSF ir serumo mėginių vertinimas: Po atitinkamo gydymo antibiotikais specifinių IgM koeficientas sumažėja, o po 6–9 mėnesių koeficientas paprastai yra <0,3. Padidėjęs IgG koeficientas dažnai išlieka daug metų nepaisant visiško išgyjimo.

IgG koeficientas ≥0,3 be kartu pasireiškiančios mononuklearinės pleocitozės CSF skystyje nustatomas retai, išskyrus po gydymo paimtuose mėginiuose. Todėl šis rezultatas gali reikšti anksčiau buvusį neuroboreliozės epizodą.

11. VEIKSMINGUMO RIBOJIMAI

11.1. Jeigu CSF mėginys yra užkrėstas dideliu kraujo kiekiu, specifinių antikūnų koeficientai gali būti klaidingai maži.

11.2. Dėl antigenų ryšių tarp *B. burgdorferi* ir *Treponema pallidum*, pacientams, kurie neseniai arba anksčiau sirgo neurosifiliu, gali pasireikšti serologinių kryžminių reakcijų, nors jos būna retos<sup>13</sup>. Serologiškai atskirti galima naudojant treponemų tyrimus, pavyzdžiui, T. pallidum hemagliutinacijos tyrimą, arba ne treponemų tyrimus, pavyzdžiui, lytiškai plintančių ligų mokslinių tyrimo laboratorijose (VDRL) taikomą greitąjį plazmos reaginį (RPR) tyrimą. Šių tyrimų rezultatai bus neigiami, jeigu pacientas užsikrėtęs tik *B. burgdorferi*.

11.3. Anksčiau taikytas gydymas antibiotikais gali susilpninti antikūnų atsaką, todėl serologinio tyrimo rezultatai tampa mažiau prognozuojami.

11.4. Jeigu mėginiai paimami ankstyvoje ligos stadijoje, gali būti gaunami neigiami rezultatai (žr. 10 skyrių).

11.5. Jeigu reagentai pakeičiami arba laikomi kitokiomis nei 4.2 skyriuje nurodytomis sąlygomis, tai gali pakenkti tyrimo veiksmingumui.

11.6. Tyrimo rezultatus reikia interpretuoti kartu su informacija, gauta iš epidemiologinių tyrimų paciento klinikinio vertinimo ir kitų diagnostikos procedūrų.

12. NUMATOMOS VERTĖS

Specifinių antikūnų koeficientas ≥ 0,3 visuomet reiškia specifinių antikūnų intratekalinę sintezę.

Neuroborelioze sergantiems pacientams intratekalinių antikūnų sintezė paprastai prasideda antrą savaitę po neurologinių simptomų pradžios. Specifinių IgG ir (arba) IgM gamyba aptinkama ≈ 80 % neuroborelioze sergančių pacientų trečiosios savaitės pradžioje, o visiems pacientams aptinkama praėjus 6–8 savaitėms po neurologinių simptomų pradžios<sup>7</sup>.

Jeigu nevyksta intratekalinių antikūnų sintezė arba jeigu CSF yra specifinių antikūnų dėl transudacijos iš serumo arba į CSF patekus kraujo, antikūnų koeficientai bus ≤0.

13. SPECIALIOSIOS VEIKSMINGUMO CHARAKTERISTIKOS

Naudojant „IDEIA Lyme Neuroborreliosis“ buvo ištirti poriniai CSF ir serumo mėginiai, paimti iš 25 pacientų, kuriems buvo kliniškai nustatyta ankstyva Laimo boreliozė.

| „IDEIA Lyme Neuroborreliosis“                           | Pacientų skaičius |
|---------------------------------------------------------|-------------------|
| Teigiamas intratekaliniams IgG antikūnams               | 18                |
| Neigiamas intratekaliniams IgG antikūnams               | 7                 |
| Teigiamas intratekaliniams IgM antikūnams               | 12                |
| Neigiamas intratekaliniams IgM antikūnams               | 13                |
| Teigiamas intratekaliniams IgG ir (arba) IgM antikūnams | 19                |
| Neigiamas intratekaliniams IgG ir IgM antikūnams        | 6                 |

Specifinių antikūnų indeksas ≥0,3 IgG atveju buvo nustatytas 72 % iš 25 ankstyva Laimo neuroborelioze sergančių pacientų, o IgM atveju – 48 % šių pacientų. Tik vienam pacientui pasireiškė specifinių IgM sintezė, tačiau kartu nepasireiškė IgG sintezė. Tačiau kai kurių pacientų, kurių IgG koeficientai buvo maži, IgM koeficientai buvo ≥0,3. Taigi, diagnostinių įrodymų daugėja tiriant ir specifinių IgG, ir IgM sintezę. 19 pacientų iš 25 (76 %), sergančių ankstyva Laimo neuroborelioze, ši diagnozė nustatyta su „IDEIA Lyme Neuroborreliosis“.

13.1. KRYŽMINIS REAKTYVUMAS

Teigiamas rezultatas visuomet reiškia intratekalinių antikūnų prieš *B. burgdorferi* sintezę, išskyrus tiriant neurosifiliu sergančių pacientų mėginius. Šių pacientų mėginių tyrimų rezultatai gali būti klaidingai teigiami. Tačiau *B. burgdorferi* specifinių antikūnų koeficientas paprastai išlieka mažas. Be to, dažniausiai kryžminių būdu reaguojantys CSF antikūnai bei serumo antikūnai priklauso IgG klasei<sup>3</sup>.

Intratekalinių polikloninių B ląstelių aktyvacijos, kaip klaidingai teigiamų IgM rezultatų priežasties, reikšmė nėra žinoma<sup>3</sup>.

14. LITERATŪRA

- Burgdorferi W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. (1982)**  
  
Lyme disease - a tick-borne spirochetosis?  
Science **216**: 1317-9.
- Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorferi W, et al. (1983)**  
  
The spirochetal etiology of Lyme disease.  
N Engl J Med **308**: 733-40.
- Hansen K. (1994)**  
  
Lyme neuroborreliosis: Improvements of the laboratory diagnosis and a survey of epidemiological and clinical features in Denmark 1985 - 1990.  
Acta Neurol Scand (suppl. 151); **89**: 1-44.
- Stiernstedt GT, Granström M, Hederstedt B, Sköldenberg B. (1985)**  
  
Diagnosis of spirochetal meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay in serum and cerebrospinal fluid.  
J Clin Microbiol; **21**: 819-25.
- Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS. (1988)**  
  
Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease.  
J Clin Microbiol **26**: 338-46.
- Eldin, C., A. Raffetin, K. Bouillier, Y. Hansmann, F. Roblot, D. Raoult, and P. Parola. (2019).**  
  
Review of European and American Guidelines for the Diagnosis of Lyme Borreliosis.” Medecine et Maladies Infectieuses 49 (2): 121-32
- Hansen K, Lebeck A-M. (1991)**  
  
Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific immunoglobulin G, A, and M. Ann Neurol; **30**: 197-205.
- Craft JE, Duncan KF, Shimamoto GT, Steere AC. (1986)**  
  
Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness.  
J Clin Invest **78**: 934-9.

- Karlsson M, Möllegård I, Stiernstedt G, Henriksson M, Wretling B. (1988)**

Characterization of antibody response in patients with *Borrelia* meningitis. Serodiagn Immunother Infect Dis; **2**: 375-86.

- Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühbeck R, Pfister HW, et al. (1986)**

Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphotic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome). J Infect Dis; **153**: 304-14.

- Hansen K, Cruz M, Link H. (1990)**

Oligoclonal *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in cerebrospinal fluid in Lyme neuroborreliosis. J Infect Dis; **161**: 1194-202.

- Karlsson M. (1990)**

Western immunoblot and flagellum enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis. J Clin Microbiol **28**: 2148-50.

- Naesens R., Vermeiren S., Van Schaeren J., Jeurissen A. (2011)**

False Positive Lyme Serology due to Syphilis: Report of 6 cases and Review of the Literature. Acta Clin Beg. 66 (1): 58-59

15. SIMBOLIO LEGENDA

|                                                                                       |                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| <b>REF</b>                                                                            | Katalogo numeris                                  |
| <b>IVD</b>                                                                            | <i>In vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisas |
|    | Žr. naudojimo instrukciją                         |
|    | Temperatūros ribojimai (laikymo temperatūra)      |
|    | Pakankamas kiekis tyrimų skaičiui: <N>            |
| <b>LOT</b>                                                                            | Partijos kodas (partijos numeris)                 |
|    | Panaudoti iki (galiojimo data)                    |
|    | Saugoti nuo saulės šviesos                        |
|    | Skiedimas                                         |
|   | Importuotojas                                     |
| <b>UDI</b>                                                                            | Unikalusi priemonės identifikatorius              |
| <b>EC REP</b>                                                                         | Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje           |
|  | JK atitikties įvertinimas                         |
|  | Europos atitikties vertinimas                     |
|  | Gamintojas                                        |



 OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, JK  
+44 (0) 1256 841144 thermofisher.com

Kilus klausimų kreipkitės į savo vietos platintoją.

| Versija | Pakeitimų data                       |
|---------|--------------------------------------|
| X7840G  | TBC<br>Atnaujinta, kad atitiktų IVDR |

Spausdinta JK



10. KONTROLA KVALITY A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

10.1. KONTROLA PUFRU

Vypočítejte průměrnou absorbanci z hodnot odečtených ze 2 mikrojamek pro kontrolu pufru.

Průměrná hodnota absorbance kontroly pufru musí být menší než 0,100, ale větší než 0,000 (měření při dvou vlnových délkách).

Pokud hodnota přesahuje 0,100, může to být způsobeno nedostatečným promytím nebo kontaminací substrátu. Pokud je hodnota pod 0,000, je čtečku ELISA třeba znovu vynulovat na vzduch a mikrojamky opětovně odečíst.

Pokud nejsou dodrženy požadavky na kontrolu kvality, jsou výsledky testu neplatné a analýzu je třeba opakovat.

10.2. IgG POZITIVNÍ KONTROLA A IgM POZITIVNÍ KONTROLA

Vypočítejte průměrné hodnoty absorbance pro IgG pozitivní kontrolu a IgM pozitivní kontrolu. Jednotlivé naměřené hodnoty by se od průměrné absorbance neměly lišit o více než 15%.

Průměrná hodnota absorbance pro IgG pozitivní kontrolu, respektive IgM pozitivní kontrolu musí být minimálně 0,500. Pokud jsou tyto hodnoty menší než 0,500, může to být způsobeno nedostatečným promytím či třepáním během inkubací nebo nízkou okolní teplotou, zvláště při inkubaci se substrátem.

V případě, že nejsou dodrženy požadavky na kontrolu kvality, jsou výsledky testu neplatné a analýzu je třeba opakovat.

10.3. VZORKY PACIENTŮ

U stanovení IgG i IgM vypočítejte průměrnou hodnotu absorbance pro vzorek cerebrospinálního moku neboli CSF (OD CSF) a séra (OD SERUM) každého pacienta. Naměřené hodnoty by se od průměrné absorbance neměly lišit o více než 15%. Všechny takové vzorky je třeba otestovat znovu. Pokud však obě testované mikrojamky ukazují negativní výsledek, je možné rozdlí přesahující 15% přijmout bez nutnosti opětovné analýzy, protože nízké hodnoty absorbance jsou měřeny s menší přesností.

Vzorec pro index specifické protilátky je uveden níže. Vypočítejte index specifické protilátky pro IgG (I<sub>IgG</sub>), respektive IgM (I<sub>IgM</sub>). Index by se neměl vypočítávat v případě, že průměrná hodnota absorbance pro stanovení cerebrospinálního moku (CSF) je menší než 0,150. Každý takový výsledek testu by měl být hlášen jako negativní.

OD<sub>CSF</sub>

Index = 

x (OD<sub>CSF</sub> - OD<sub>SERUM</sub>)

OD<sub>SERUM</sub>

10.4. INTREPRETACE VÝSLEDKŮ

10.4.1 Kvalitativní interpretace

Interpretace výsledků je následující:

Negativní na intratekální tvorbu protilátek IgG proti *B. burgdorferi*:

I<sub>IgG</sub> <0,3

**nebo** OD<sub>CSF</sub> <0,150

Pozitivní na intratekální tvorbu protilátek IgG proti *B. burgdorferi*:

I<sub>IgG</sub> ≥0,3

**nebo** OD<sub>CSF</sub> <0,150

Pozitivní na intratekální tvorbu protilátek IgM proti *B. burgdorferi*:

I<sub>IgM</sub> <0,3

**nebo** OD<sub>CSF</sub> <0,150

Pozitivní na intratekální tvorbu protilátek IgM proti *B. burgdorferi*:

I<sub>IgM</sub> ≥0,3

**nebo** OD<sub>CSF</sub> <0,150

10.4.2 Semikvantitativní interpretace

Čím vyšší je získaná hodnota indexu, tím výraznější je intratekální tvorba specifické protilátky. Hodnoty indexu mohou být 100 i více.

Index specifické protilátky je vysoce citlivým semikvantitativním měřítkem intratekální tvorby protilátky, protože závisí na stupni intratekální tvorby protilátky, permeabilitě hematoencefalické bariéry a koncentraci specifických protilátek v séru. Proto by se v následných postterapeutických vzorcích měla změna považovat za významnou jen tehdy, jestliže pozitivní index klesne pod 0,3 nebo jestliže se sníží či zvýší více než pětinasobně. Toto je jen vodítko.

10.4.3 Poznámky k interpretaci výsledků

Vyjáždění výsledků

K intratekální produkci protilátky teoreticky dochází v případě, že OD<sub>CSF</sub>/OD<sub>SERUM</sub> >1. Tento předpoklad však není bezpečný vzhledem k vnitřní (“intra-assay”) variabilitě, zvlášte v nižším rozsahu absorbance (OD). Čistý rozdíl absorbance (OD<sub>CSF</sub> - OD<sub>SERUM</sub>) dává přesnější informaci, ale kvůli vnitřní (“intra-assay”) variabilitě se minimální rozdíl hodnot absorbance ukazující na intratekální syntézu protilátky bude při zvyšování hodnot absorbance zvyšovat. Tyto nevýhody se odstraní vynásobením poměru hodnot absorbance jejich rozdílem tak, jak je uvedeno v indexu specifické protilátky (I). Spodní limit hodnoty indexu 0,3 pro pozitivní výsledek zaručuje, že OD<sub>CSF</sub> je signifikantně vyšší než OD<sub>SERUM</sub><sup>6</sup>.

Pozitivní výsledky

IgG a/nebo IgM index ≥0,3 se současnou mononukleární pleocytózou v cerebrospinálním moku vysoce svědčí pro přítomnost lymské neuroboreliózy. (Vysoká hodnota absorbance pro CSF není sama o sobě indikátorem intratekální tvorby protilátky)

IgM index ≥0,3 je obvykle kompatibilní s dobou trvání onemocnění kratší než 6 měsíců. Intratekální syntéza specifické protilátky IgM je silným indikátorem neuroboreliózy, ale IgM není povinným nálezem. U pacientů s aktivní neuroboreliózou trvající déle než 6 měsíců obvykle bude zjištěna pouze intratekální syntéza specifické protilátky IgG, se zjištěným IgG indexem ≥0,3.

Negativní výsledky

Negativní výsledek, tj. IgG a IgM index <0,3 se současnou mononukleární pleocytózou v cerebrospinálním moku, nevylučuje klinickou diagnózu lymské neuroboreliózy. Vztahuje se to zejména na případy, kdy doba mezi nástupem neurologických symptomů a odebrání vzorků séra a CSF je krátká.

U většiny neléčených pacientů s nespornými klinickými objektivními příznaky neuroboreliózy se specifické protilátky v cerebrospinálním moku stávají detekovatelnými ve 2. týdnu po nástupu neurologických symptomů<sup>6</sup>. U pacientů s časnou neuroboreliózou a negativním výsledkem testu může být později odebraný vzorek často pozitivní, a to i po zahájení léčby.

IgM index <0,3 nevylučuje vždy intratekální syntézu specifické protilátky IgM.

Nález vysoké hodnoty (≥1,0) absorbance IgM v cerebrospinálním moku, buď stejně velké nebo dokonce i nižší než je odpovídající hodnota IgM v séru, může stále ještě ukazovat na intratekální syntézu protilátky, pokud lze vyloučit závažné poškození hematoencefalické bariéry<sup>6</sup>.

Vzorky odebrané po léčbě

Hodnocení následných vzorků CSF/séra, odebraných po léčbě: Po terapii vhodnými antibiotiky se index specifické protilátky IgM sniží a po 6-9 měsících obvykle dosahuje hodnoty <0,3. Zvýšený IgG index přetrvává často po léta navzdory úplnému uzdravení.

IgG index ≥0,3 bez současné mononukleární pleocytózy v cerebrospinálním moku je vzácným nálezem, kromě vzorků odebraných po léčbě. Takový nález proto může ukazovat na dřívějším epizodu neuroboreliózy.

11. OMEZENÍ METODY

11.1. Nadměrná kontaminace vzorku cerebrospinálního moku krví může vést k falešně nízkým indexům specifické protilátky.

11.2. Vzhledem k antigenní příbuznosti mezi *B. burgdorferi* a *Treponema pallidum* se mohou, i když vzácně, vyskytnout sérologické zkřížené reakce u pacientů, kteří v nedávné či vzdálenější minulosti prodělali neurosyfilitis. Sérologické rozlišení je možné pomocí treponemálních testů, jako je hemaglutinační test na T pallidum, nebo netreponemových testů, jako je rychlá reaginace plazmy (rapid plasma reagin, RPR), test VDRL (Venereal Disease Research Laboratory). Tyto testy budou negativní u pacientů trpících pouze infekcí *B. burgdorferi*.

11.3. Předchozí terapie antibiotiky může zlikvidovat reakci protilátky, čímž se sérologické nálezy stanou méně předvídatelnými.

11.4. Odběr vzorků v časném stadiu onemocnění může vést k negativním výsledkům (viz kapitola 10).

11.5. Jestliže budou činidla modifikována nebo nebudou skladována způsobem doporučeným v kapitole 4.2, dojde k negativnímu ovlivnění funkčních charakteristik testu.

11.6. Výsledky testu by se měly interpretovat společně s informacemi získanými na základě epidemiologické anamnézy, klinického hodnocení pacienta a dalších diagnostických metod.

12. OČEKÁVANÉ HODNOTY

Index specifické protilátky ≥0,3 vždy ukazuje na zvýšenou intratekální syntézu specifických protilátek.

U pacientů s neuroboreliózou začíná intratekální syntéza protilátek obvykle ve druhém týdnu po nástupu neurologických symptomů. Produkce specifické protilátky IgG a/nebo IgM je detekovatelná u 80% pacientů s nespornou neuroboreliózou do začátku třetího týdne a u všech pacientů 6-8 týdnů po nástupu neurologických symptomů.<sup>6</sup>

Nepřítomnost intratekální tvorby protilátek nebo přítomnost specifických protilátek v cerebrospinálním moku vlivem transudace ze séra nebo kontaminace cerebrospinálního moku krví poskytne indexy protilátky ≤0.

13. SPECIFICKÉ FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Testem IDEIA Lyme Neuroborreliosis byly testovány párové vzorky cerebrospinálního moku a séra od 25 pacientů s klinicky definovanou časnou lymskou neuroboreliózou.

| IDEIA Lyme Neuroborreliosis                                     | Počet pacientů |
|-----------------------------------------------------------------|----------------|
| Pozitivní na intratekálně produkované protilátky IgG            | 18             |
| Negativní na intratekálně produkované protilátky IgG            | 7              |
| Pozitivní na intratekálně produkované protilátky IgM            | 12             |
| Negativní na intratekálně produkované protilátky IgM            | 13             |
| Pozitivní na intratekálně produkované protilátky IgG a/nebo IgM | 19             |
| Negativní na intratekálně produkované protilátky IgG a IgM      | 6              |

Index specifické protilátky ≥0,3 byl nalezen u IgG v 72% a u IgM ve 48% z 25 pacientů s časnou lymskou neuroboreliózou. Pouze u jednoho pacienta se objevila syntéza specifické protilátky IgM bez současné syntézy IgG. Někteří pacienti s nízkými indexy IgG však měli indexy IgM ≥0,3. Diagnostická průkaznost se proto zvyšuje vyšetřením syntézy obou specifických protilátek - IgG i IgM. Pomocí testu IDEIA Lyme Neuroborreliosis bylo identifikováno 19 z 25 pacientů (76%) s časnou lymskou neuroboreliózou.

14. ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Pozitivní výsledek je vždy indikátorem intratekální syntézy protilátky proti *B. burgdorferi* kromě případů testování vzorků od pacientů s neurosyfilidou. Vzorky od těchto pacientů mohou poskytnout falešně pozitivní výsledky. Index protilátky specifické pro *B. burgdorferi* však obvykle zůstává nízký. Odpovídajícím zjištěním je navíc to, že zkříženě reagující protilátky v cerebrospinálním moku i séru patří do třídy IgG<sup>3</sup>.

Význam intratekální aktivace polyklonální B buňky jako příčiny “falešně pozitivního” výsledku IgM není známý<sup>3</sup>.

15. LITERATURA

- Burgdorferi W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. (1982)**  
Lyme disease - a tick-borne spirochetosis?  
Science **216**: 1317-9.
- Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorferi W, et al. (1983)**  
The spirochetal etiology of Lyme disease.  
N Engl J Med **308**: 733-40.
- Hansen K. (1994)**  
Lyme neuroborreliosis: Improvements of the laboratory diagnosis and a survey of epidemiological and clinical features in Denmark 1985 - 1990.  
Acta Neurol Scand (suppl. 151); **89**: 1-44.
- Stiernstedt GT, Granström M, Hederstedt B, Sköldenberg B. (1985)**  
Diagnosis of spirochetal meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunoflourescence assay in serum and cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol; **21**: 819-25.
- Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS. (1988)**  
Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease.  
J Clin Microbiol **26**: 338-46.
- Hansen K, Lebech A-M. (1991)**  
Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific immunoglobulin G, A, and M.  
Ann Neurol; **30**: 197-205.
- Craft JE, Duncan KF, Shimamoto GT, Steere AC. (1986)**  
Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness.  
J Clin Invest **78**: 934-9.
- Karlsson M, Möllegard I, Stiernstedt G, Henriksson M, Wretling B. (1988)**  
Characterization of antibody response in patients with *Borrelia* meningitis.  
Serodiagn Immunother Infect Dis; **2**: 375-86.
- Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühbeck R, Pfister HW, et al. (1986)**  
Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphotic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome).  
J Infect Dis; **153**: 304-14.
- Hansen K, Cruz M, Link H. (1990)**  
Oligoclonal *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in cerebrospinal fluid in Lyme neuroborreliosis.  
J Infect Dis; **161**: 1194-202.
- Karlsson M. (1990)**  
Western immunoblot and flagellum enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis.  
J Clin Microbiol **28**: 2148-50.

16. LEGENDA K SYMBOLŮM

|                                                                                     |                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|   | Katalogové číslo                               |
|  | Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro  |
|  | Prostudujte si návod k použití                 |
|  | Teplotní omezení (teplota skladování)          |
|  | Obsah postačuje pro <N> testů                  |
|  | Uchovávejte mimo dosah slunečního světla       |
|  | Přidat vodu                                    |
|  | Kód dávky (číslo šarže)                        |
|  | Datum použitelnosti (datum expirace)           |
|  | Dovozce                                        |
|  | Jedinečný identifikátor prostředku             |
|  | Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství |
|  | Posouzení shody ve Spojeném království         |
|  | Evropské posouzení shody                       |
|  | Výrobce                                        |



 Oxoid Limited, Wade Road, Hampshire Basingstoke, RG24 8PW, Spojené království +44 (0) 1256 841144 thermofisher.com

| Verze  | Datum zavedení změn                                                           |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------|
| X7840G | Duben 2024<br>Aktualizováno tak, aby bylo v souladu s požadavky nařízení IVDR |

Vytištěno ve Spojeném království

|                                                                                                     |                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <div><span></span></div> <div><span></span></div>                                                   |                     |
| <div> <div><span></span></div> <div>Key Code TSMX7840G</div> <div>www.thermofisher.com</div> </div> |                     |
| Europe +800 135 79 135                                                                              | US 1 855 2360 190   |
| CA 1 855 805 8539                                                                                   | ROW +31 20 794 7071 |

# IDEIA Lyme Neuroborreliosis

|                              |                             |
|------------------------------|-----------------------------|
| <b>[REF]</b> K602811-2 ..... | <div><span></span></div> 96 |
|------------------------------|-----------------------------|

| 1. TILSIGTET ANVENDELSE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IDEIA Lyme Neuroborreliosis er en kvalitativ enzymimmunanalyse til påvisning af intratekalt producerede humane IgG- og IgM-antistoffer mod Borrelia burgdorferi sensu lato fra kliniske prøver. Testresultaterne har til formål at hjælpe klinikere med at diagnosticere lyme-neuroborreliose. Enheden er ikke automatiseret, er kun til professionel brug og er ikke en ledsagende diagnostik. |
| <b>[IVD]</b> Anvendes til in vitro diagnostik.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 2. RESUMÉ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

Lyme borreliosis er en multisysteminfektion forårsaget af den flåtbårne spirokæt *B. burgdorferi* sensu lato<sup>1,2</sup>.

Involvering af nervesystemet, neuroborreliosis, er en almindelig og alvorlig manifestation af Lyme borreliosis<sup>3</sup>.

Der er behov for en sensitiv og pålidelig test for neuroborreliosis, da der findes en række andre sygdomme med lignende symptomer, og fordi neuroborreliosis i modsætning til mange andre sygdomme reagerer på behandling med antibiotika.

For tiden er den bedste indikator for aktiv neuroborreliosis en inflammatorisk ændring i cerebrospinalvæsken (CSF), navnlig et øget antal mononukleære celler (mononukleær pleocytose) kombineret med forekomst af intratekalt producerede antistoffer mod Borrelia i CSF. Påvisning af en specifik intratekal immunreaktion er diagnostisk mere signifikant end målingen af specifikke antistoffer i serum. Endvidere påvises syntese af specifikke antistoffer i serum. Endvidere påvises syntese af specifikke antistoffer hyppigt tidligere i CSF end i serum ved neuroborreliosis<sup>4,5</sup>.

IDEIA Lyme Neuroborreliosis er designet til sensitiv og direkte påvisning af intratekalt producerede IgG- og IgM-antistoffer mod *B. burgdorferi*<sup>6</sup>. Måling af et referencestof (såsom albumin osv.) og komplicerede korrektioner for udsivning af serumantistoffer til CSF forårsaget af beskadigelse af barrieren mellem blod og CSF er unødvendige. Selv kontaminering af CSF med blod under udtagning af spinalvæske vil ikke føre til falske positive resultater.

Analysen anvender oprensede, native flageller fra B. Burgdorferi stamme DK1 som testantigen. Flageller er overordentlig immunogen, udløser en tidlig, kraftig og vedvarende immunreaktion<sup>7,8</sup> og er det væsentligste antigen for den intratekale antistofreaktion<sup>9,10</sup> Sammenlignet med det traditionelle antigen, som er baseret på helcelleelekstrakter af spirokæten, forbedrer det oprensede, native flagelantigen den diagnostiske sensitivitet og de serologiske analysers specificitet for Lyme borreliosis<sup>5,11</sup>. Endvidere er anvendelsen af flageller som testantigen egnet i alle geografiske lokaliteter, da flagellerne ikke udviser betydende variation mellem forskellige stammer af *B. burgdorferi*.

| 3. TESTPRINCIP                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Testen er baseret på indfangnings-ELISA-princippet og består af indfangningsanalyser for henholdsvis humant IgG og IgM til bestemmelse af intratekalt producerede IgG- og IgM-antistoffer mod <i>B. burgdorferi</i> . Indfangningsanalysen for humant IgG er beskives i detaljer: |

Parrede prøver af CSF og serum tilsættes til en mikrobrønd coatet med antistof specifikt for humant IgG. Fortyndingen af CSF og serum sikrer, at indfangningsantistoffet mod humant IgG mættes med enten CSF- eller serum-IgG. Derfor indfanges totalt den samme mængde IgG fra enten CSF eller serum i mikrobrøndene.

Efter vask af mikrobrøndene for at fjerne overskydende protein tilsættes native Borrelia-flageller kompleksbundet med peroxidasekonjugeret streptavidin (flagelkonjugat) til mikrobrøndene. Flagelkonjugatet vil kun bindes af IgG specifikt for *B. burgdorferi*, mens IgG uspecifikt for *B. burgdorferi* ikke vil binde flagelkonjugatet.

Overskydende flagelkonjugat fjernes ved vask. Mængden af flagelkonjugat bundet i hver mikrobrønd visualiseres ved tilsætning af et kromogent substrat, der udvikler en blå farve. Reaktionen stoppes ved tilsætning af syre, hvilket ændrer den blå farve til gul. Intensiteten af farven svarer til koncentrationen af *B. burgdorferi*-specifikt IgG indfanget på fastfasen.

Indfangningsanalysen for humant IgM er den samme som for humant IgG med undtagelse af, at mikrobrøndene coatses med antistoffer mod humant IgM.

Normalt er totalkoncentrationerne af IgG og IgM meget lave i CSF sammenlignet med niveauerne i serum. Hvis der forekommer intratekal *B. burgdorferi*-specifik antistofproduktion vil mængden af specifikke IgG- eller IgM-antistoffer i CSF derfor udgøre en meget større andel af den totale mængde af henholdsvis IgG og IgM end andelene fundet i serum. Hvis der ikke er nogen intratekal produktion af specifikt antistof, eller hvis de specifikke antistoffer i CSF skyldes enten kontaminering med blod eller udsivning fra serum, vil OD-værdien for CSF minus OD-værdien for serum være ≤0.

I tilfælde af neuroborreliosis vil der som følge deraf opnås en signifikant højere OD-værdi for CSF sammenlignet med OD-værdien opnået fra serumprøven. I så fald vil OD-værdien for CSF minus OD-værdien for serum derfor være >0.

Sammenligning af OD-værdier fra parrede serum- og CSF-prøver analyseret parallelt gør det muligt at bestemme, hvorvidt antistoffer specifikke for *B. burgdorferi* er blevet produceret intratekalt. Formlen til beregning af testresultater er udformet til at tage højde for intraanalysevariation ved sammenligning af forskelle i OD-værdi mellem parrede CSF- og serumprøver<sup>6</sup>.

På grund af den selektive immunindfangning af IgG- og IgM-antistoffer, vil der ikke forekomme konkurrerende interferens fra andre immunoglobulinklasser. Yderligere forhindrer anvendelsen af konjugeret testantigen interferens fra rheumatoidfaktor (RF).

| 4. LEVERET REAGENS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <div> <div><span></span></div> <div>25°C</div> <div><span></span></div> <div>8°C</div> <div><span></span></div> </div> <p>Hvert kit indeholder tilstrækkeligt materiale til 96 bestemmelser. - Kittets holdbarhed er angivet på etiketten på æsken. Opbevar ubrugte komponenter ved 2-8 °C.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <div> <div><span></span></div> <div>4.1. INDHOLD AF IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS TEST</div> </div> <div> <div><span></span></div> <div><b>[MICROTITRATION PLATE]</b></div> </div> <p>En brugsanvisning.</p> <p>48 mikrobrønde (6 strip med hver 8 mikrobrønde) coatet med anti-humant IgG (angivet med et "G" trykt på fanen for enden af hver mikrobrøndstrimmel) og 48 mikrobrønde (6 strip med hver 8 mikrobrønde) coatet med anti-humant IgM (angivet med et "M" trykt på fanen for enden af hver mikrobrøndstrimmel). En plastikpose med genluk til opbevaring af ubrugte mikrobrønde. Sørg for forsigtig håndtering af strimlerne, især hvis brøndene har løsnet sig fra strimlen, da hver strimmel er mærket, og de individuelle brønde ikke er mærket.</p> <p>En flaske med hvert af følgende:</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[SAMPLE DILUENT]</b></div> </div> <p>100mL prøvediluent: Bufferjusteret opløsning indeholdende detergent, antimikrobielt middel og rødt farvestof.</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[WASH BUFFER (X20)]</b></div> </div> <p>50 mL vaskebufferkoncentrat x25: Bufferjusteret opløsning indeholdende detergent og antimikrobielt middel.</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[IgG POSITIVE CONTROL]</b></div> </div> <p>1,5mL positiv IgG-kontrol: Humant serum i buffer indeholdende antimikrobielt middel og farvet mørkegrøn.</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[IgM POSITIVE CONTROL]</b></div> </div> <p>1,5mL positiv IgM-kontrol: Humant serum i buffer indeholdende antimikrobielt middel og farvet gul.</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[FLAGELLUM CONJUGATE]</b></div> </div> <p>Lyophiliseret flagelkonjugat: Biotinylerede B. Burgdorferi-flageller, der skal rekonstitueres med rekonstitueringsbuffer og kompleksbindes til peroxidasekonjugeret streptavidin inden brug.</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[RECONSTITUTION BUFFER]</b></div> </div> <p>12,5mL rekonstitueringsbuffer: Bufferjusteret opløsning indeholdende bæreproteiner og antimikrobielt middel.</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[PEROXIDASE COMPLEX]</b></div> </div> <p>1 m L p e r o x i d a s e k o m p l e k s<span> </span>: Peroxidasekonjugeret streptavidin i buffer indeholdende bæreproteiner og antimikrobielt middel.</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[SUBSTRATE TMB]</b></div> </div> <p>12mL substrat: stabiliseret peroxid og 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin i en fortyndet bufferopløsning. TMB er blevet rapporteret ikke at være carcinogent. Imidlertid anbefales det, at der bæres personligt beskyttelsesudstyr for at undgå direkte eksponering.</p> <div> <div><span></span></div> <div><b>[STOP SOLUTION]</b></div> </div> <p>25mL stopopløsning: 0,46mol/L svovlsyre.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <div> <div><span></span></div> <div>4.2. FORBEREDELSE, OPBEVARING OG GENBRUG AF KITTETS KOMPONENTER</div> </div> <p>Formatet af IDEIA Lyme Neuroborreliosis-kittet tillader op til 6 individuelle kørsler inden for kittets holdbarhedsperiode på 3 måneder. For at sikre optimal effektivitet er det vigtigt, at de ubrugte komponenter i kittet fremstilles og opbevares i overensstemmelse med følgende instruktioner:</p> <p><b>4.2.1 Mikrobrønde - <b>[MICROTITRATION PLATE]</b></b></p> <p>Åbn pladens pose ved at klippe langs forseglingen. Bræk det nødvendige antal anti-human IgG-strips (angivet med et "G" trykt på fanen for enden af hver mikrobrøndstrimmel) og anti-human IgM-strips (angivet med et "M" trykt på fanen for enden af hver mikrobrøndstrimmel) af, og placer dem i rammen. Én strip tillader dobbeltbestemmelse af CSF og serum fra én patient; de resterende fire mikrobrøndsstrips anvendes til positiv kontrol og bufferkontrol.</p> <p>Hver yderligere IgG- og IgM-strip muliggør analyse af parrede prøver fra to patienter. Ved anvendelse af hele rammen bestående af 6 IgG- og 6 IgM-strips samtidigt, kan CSF- og serumprøver fra 11 patienter analyseres for IgG- og IgM-antistoffer.</p> <p>Placer ubrugte mikrobrønde i plastikposen med genluk sammen med tørremidlet, luk posen omhyggeligt, og opbevar ved 2-8°C. Mikrobrøndene kan anvendes i op til 12 uger efter første åbning, forudsat de opbevares på denne måde.</p> <p><b>4.2.2 Prøvediluent - <b>[SAMPLE DILUENT]</b></b></p> <p>Klar til brug. Opbevar ubrugt prøvediluent ved 2-8°C.</p> <p><b>4.2.3 Promývaci pufr - koncentrát - <b>[WASH BUFFER (X20)]</b></b></p> <p>Leveres x25 koncentreret. Fremstil brugsklar vaskebuffer ved at tilsætte 1 del vaskebufferkoncentrat til 24 dele friskt deioniseret eller destilleret vand (eller tilsæt indholdet af vaskebufferkoncentratet til 1200mL friskt deioniseret eller destilleret vand). Tilbered den nødvendige mængde brugsopløsning af vaskebuffer den dag, den skal bruges. Opbevar ubrugt koncentrat ved 2-8°C.</p> <p>Ubrugt brugsopløsning af vaskebuffer må ikke gemmes til senere brug (se Afsnit 7.2.11).</p> <p><b>4.2.4 Positiv IgG-kontrol - <b>[IgG POSITIVE CONTROL]</b></b></p> <p>Klar til brug. Opbevar ubrugt positiv IgG-kontrol ved 2-8°C.</p> <p><b>4.2.5 Positiv IgM-kontrol - <b>[IgM POSITIVE CONTROL]</b></b></p> <p>Klar til brug. Opbevar ubrugt positiv IgM-kontrol ved 2-8°C.</p> <p><b>4.2.6 Flagelkonjugat, peroxidase og rekonstitutionsbuffer - <b>[FLAGELLUM CONJUGATE]/[RECONSTITUTION BUFFER]/[PEROXIDASE COMPLEX]</b></b></p> <p>Rekonstituer det lyophiliserede, biotinylerede Borrelia-flagelkonjugat med indholdet af rekonstitutionsbufferen, og tilsæt 650µL peroxidasekompleks. Bland indholdet ved inversion. Det rekonstituerede flagelkonjugat skal fremstilles mindst 1 time inden brug. Det rekonstituerede flagelkonjugat skal opbevares ved 2-8°C og anvendes inden for 3 måneder.</p> <p><b>4.2.7 Substrat - <b>[SUBSTRATE TMB]</b></b></p> <p>Klar til brug. Opbevar ubrugt substrat ved 2-8°C.</p> <p><b>4.2.8 Stopopløsning - <b>[STOP SOLUTION]</b></b></p> <p>Klar til brug. Opbevar ubrugt stopopløsning ved 2-8°C.</p> |
| 5. YDERLIGERE REAGENSER                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <div> <div><span></span></div> <div>5.1. REAGENSER</div> </div> <p>Frisk deioniseret eller destilleret vand</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 6. Udstyr                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kittets holdbarhed er angivet på etiketten på æsken. Opbevar ubrugte komponenter ved 2-8 °C.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.1. INDHOLD AF IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS TEST</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | En brugsanvisning.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>[MICROTITRATION PLATE]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 48 mikrobrønde (6 strip med hver 8 mikrobrønde) coated med anti-humant IgG (angivet med et "G" trykt på fanen for enden af hver mikrobrøndstrimmel) og 48 mikrobrønde (6 strip med hver 8 mikrobrønde) coated med anti-humant IgM (angivet med et "M" trykt på fanen for enden af hver mikrobrøndstrimmel). En plastikpose med genluk til opbevaring af ubrugte mikrobrønde. Sørg for forsigtig håndtering af strimlerne, især hvis brøndene har løsnet sig fra strimlen, da hver strimmel er mærket, og de individuelle brønde ikke er mærket. |
| En flaske med hvert af følgende:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>[SAMPLE DILUENT]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 100mL prøvediluent: Bufferjusteret opløsning indeholdende deargement, antimikrobielt middel og rødt farvestof.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>[WASH BUFFER (X20)]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 50 mL vaskebufferkoncentrat x25: Bufferjusteret opløsning indeholdende detergent og antimikrobielt middel.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>[IgG POSITIVE CONTROL]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 1,5mL positiv IgG-kontrol: Humant serum i buffer indeholdende antimikrobielt middel og farvet mørkegrøn.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>[IgM POSITIVE CONTROL]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 1,5mL positiv IgM-kontrol: Humant serum i buffer indeholdende antimikrobielt middel og farvet gul.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>[FLAGELLUM CONJUGATE]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Lyophiliseret flagelkonjugat: Biotinylerede B. Burgdorferi-flageller, der skal rekonstitueres med rekonstitutionsbuffer og kompleksbindes til peroxidasekonjugeret streptavidin inden brug.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>[RECONSTITUTION BUFFER]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 12,5mL rekonstitutionsbuffer: Bufferjusteret opløsning indeholdende antimikrobielt middel og farvet blå.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>[PEROXIDASE COMPLEX]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 1 mL peroxidasekompleks: Peroxidasekonjugeret streptavidin i buffer indeholdende bæreprøteiner og antimikrobielt middel.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>[SUBSTRATE TMB]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 12mL substrat: stabiliseret peroxid og 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin i en fortyndet bufferopløsning. TMB er blevet rapporteret ikke at være carcinogent. Imidlertid anbefales det, at der bæres personligt beskyttelsesudstyr for at undgå direkte eksponering.                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>[STOP SOLUTION]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 25mL stopopløsning: 0,46mol/L svovlsyre.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>4.2. FORBEREDELSE, OPBEVARING OG GENBRUG AF KITTETS KOMPONENTER</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Formatet af IDEIA Lyme Neuroborreliosis-kittet tillader op til 6 individuelle kørsler inden for kittets holdbarhedsperiode på 3 måneder. For at sikre optimal effektivitet er det vigtigt, at de ubrugte komponenter i kittet fremstilles og opbevares i overensstemmelse med følgende instruktioner:                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.2.1 Mikrobrønde - [MICROTITRATION PLATE]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Åbn pladens pose ved at klippe langs forseglingen. Bræk det nødvendige antal anti-human IgG-strips (angivet med et "G" trykt på fanen for enden af hver mikrobrøndstrimmel) og anti-human IgM-strips (angivet med et "M" trykt på fanen for enden af hver mikrobrøndstrimmel) af, og placer dem i rammen. Én strip tillader dobbeltbestemmelse af CSF og serum fra én patient; de resterende fire mikrobrøndsstrips anvendes til positiv kontrol og bufferkontrol. |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Hver yderligere IgG- og IgM-strip muliggør analyse af parrede prøver fra to patienter. Ved anvendelse af hele rammen bestående af 6 IgG- og 6 IgM-strips samtidigt, kan CSF- og serumprøver fra 11 patienter analyseres for IgG- og IgM-antistoffer.                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Placer ubrugte mikrobrønde i plastikposen med genluk sammen med tørremidlet, luk posen omhyggeligt, og opbevar ved 2-8°C. Mikrobrøndene kan anvendes i op til 12 uger efter første åbning, forudsat de opbevares på denne måde.                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.2.2 Prøvediluent - [SAMPLE DILUENT]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Klar til brug. Opbevar ubrugt prøvediluent ved 2-8°C.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.2.3 Promývaci pufr - koncentrát - [WASH BUFFER (X20)]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Leveres x25 koncentreret. Fremstil brugsklar vaskebuffer ved at tilsætte 1 del vaskebufferkoncentrat til 24 dele friskt deioniseret eller destilleret vand (eller tilsæt indholdet af vaskebufferkoncentrat til 1200mL friskt deioniseret eller destilleret vand). Tilbered den nødvendige mængde brugsopløsning af vaskebuffer den dag, den skal bruges. Opbevar ubrugt koncentrat ved 2-8°C.                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Ubrugt brugsopløsning af vaskebuffer må ikke gemmes til senere brug (se Afsnit 7.2.11).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.2.4 Positiv IgG-kontrol - [IgG POSITIVE CONTROL]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Klar til brug. Opbevar ubrugt positiv IgG-kontrol ved 2-8°C.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.2.5 Positiv IgM-kontrol - [IgM POSITIVE CONTROL]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Klar til brug. Opbevar ubrugt positiv IgM-kontrol ved 2-8°C.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.2.6 Flagelkonjugat, peroxidase og rekonstitutionsbuffer - [FLAGELLUM CONJUGATE] / [RECONSTITUTION BUFFER] / [PEROXIDASE COMPLEX]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Rekonstituer det lyophiliserede, biotinylerede Borrelia-flagelkonjugat med indholdet af rekonstitutionsbufferen, og tilsæt 650µL peroxidasekompleks. Bland indholdet ved inversion. Det rekonstituerede flagelkonjugat skal fremstilles mindst 1 time inden brug. Det rekonstituerede flagelkonjugat skal opbevares ved 2-8°C og anvendes inden for 3 måneder.                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.2.7 Substrat - [SUBSTRATE TMB]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Klar til brug. Opbevar ubrugt substrat ved 2-8°C.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>4.2.8 Stopopløsning - [STOP SOLUTION]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Klar til brug. Opbevar ubrugt stopopløsning ved 2-8°C.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>5. YDERLIGERE REAGENSER</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>5.1. REAGENSER</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Friskt deioniseret eller destilleret vand                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>6. Udstyr</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Der skal bruges følgende udstyr                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Målecylinder (2L)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Reagensrør, der kan indeholde cirka 5mL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Præcisionsmikropipetter og engangsspidser, der kan levere volumener på 10-1000µL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 8-kanalspipette, der kan levere 100µL (valgfri)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Reagensbeholdere til 8-kanalspipette (valgfri)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

TESTPROCEDURE

SE AFSNIT 7.2, TEKNISKE FORHOLDSREGLER, INDEN UDFØRELSE AF TESTPROCEDUREN.

9.1. PROCEDUREBEMÆRKNINGER

9.1.1

Validering af analysens ydeevne er baseret på samtidig dobbeltanalyse af alle prøver. Hvis patientprøverne skal køres som enkeltprøver, anbefales det, at brugerne kun gør dette, når de er blevet grundigt bekendt med analysens præstationskarakteristika. Intraanalysevariationen (CV%) er cirka 50% højere når baseret på enkeltbestemmelse.

9.1.2

Hvis en pladeryster i stand til 500rpm ikke er tilgængeligt, kan hastigheden af omrystningen af mikrobrøndsstripsene i de 2 inkubationstrin nedsættes til 300rpm, uden at det alvorligt påvirker analysens ydeevne. Eventuelt er en protokol for statisk inkubation tilgængelig. Kontakt Deres lokale forhandler for yderligere information om egnede protokoller.

9.2. ANALYSEPROCEDURE

BEMÆRK:

Der skal bruges en mikrotiter-pladeryster til analyseproceduren. For information om egnede pladerystere, kontakt venligst Deres lokale forhandler.

Hvis der anvendes flere strips, anbefales det, at der anvendes en 8-kanalspipette til tilsætning af konjugat, substrat og stopopløsning.

9.2.1 Tilsætning af prøvemateriale og kontrol

Sæt det nødvendige antal mikrobrønde i mikrobrøndsholderen. Tilsæt 100µL fortyndet patient-CSF og -serum til dublerede mikrobrønde i både den anti-IgG-strip- og den anti-IgM-strip-mikrobrønd. Sørg for forsigtig håndtering af strimlerne, især hvis brøndene har løsnet sig fra strimlen, da hver strimmel er mærket, og de individuelle brønde ikke er mærket. Tilsæt 100µL positiv IgG-kontrol til 2 anti-IgG-mikrobrønde og 100µL positiv IgM-kontrol til 2 anti-IgM-mikrobrønde. Tilsæt prøvediluent til separate IgG- og IgM-mikrobrønde. (Der skal inkluderes mindst 1 mikrobrønd med prøvediluent sammen med hvert prøvebatch).

9.2.2 Prøveinkubation

Tildæk og inkuber mikrobrøndene på en pladeryster ved stuetemperatur (20-25°C) under omrystning i 60 minutter.

9.2.3 Vask af mikrobrøndene

Mikrobrøndene skal vaskes med brugsklar vaskebuffer (se Afsnit 4.2.3).

Vasketeknikken er vigtig for testresultatet og skal foretages, så det sikres, at mikrobrøndene fyldes helt (med mindst 350µL brugsklar vaskebuffer) og tømmes helt.

Det er vigtigt, at der gennemføres fire vaskecykluser enten med automatisk eller manuel vasketeknik, som bør omfatte en iblødsætningsperiode på to minutter under den anden vask eller iblødsætning på i alt to minutter under hele cyklussen.

Manuel vask

Hvis mikrobrøndene vaskes manuelt, skal indholdet aspireres eller rystes ud. Sørg for, at mikrobrøndene bliver helt fyldt med friskblandet vaskebuffer og helt tømt igen. Mellem hvert vasketrin fjernes al den tiloversblevne vaskebuffer ved at banke de omvendte mikrobrønde let mod sugende papir.

Effektiviteten af manuel vask sikres yderligere, hvis vaskebufferen tilføres i en vinkel, så der skabes en hvirvel i mikrobrøndene. Efter den sidste vask skal pladen vendes om og bankes let på sugende papir for at fjerne de sidste spor af vaskebufferen.

Automatisk vask

Automatiske vaskere skal programmeres til at fuldføre 4 vaskecykluser og inkorporere, hvad der svarer til to minutters iblødsætning under hele vaskecyklussen. Vaskeapparaterne skal være korrekt kalibrerede for at sikre fuldstændig fyldning og tømning af mikrobrøndene mellem hver vask. Efter sidste vask skal pladen vendes på hovedet og bankes let mod sugende papir for at fjerne de sidste spor af vaskbuffer.

9.2.4 Tilsætning af konjugat

Bland flagelkonjugatet ved inversion. Tilsæt 100µL flagelkonjugat til hver mikrobrønd.

9.2.5 Inkubation af konjugat

Tildæk og inkuber mikrobrøndene på en pladeryster ved stuetemperatur (20-25°C) under omrystning i 60 minutter.

9.2.6 Vask af mikrobrøndene

Vask mikrobrøndene som beskrevet i 9.2.3.

9.2.7 Tilsætning og inkubation af substrat

Tilsæt 100µL substrat til hver mikrobrønd.

Tildæk og inkuber mikrobrøndene ved stuetemperatur (20-25°C) uden omrystning i 10 minutter.

9.2.8 Reaktionen stoppes

Tilsæt 100µL stopopløsning til hver mikrobrønd. Sørg for, at indholdet blandes godt i mikrobrøndene. Det farvede produkt er stabilt i 30 minutter. Må ikke udsættes for direkte sollys, da der kan opstå fotoafblegning af det farvede produkt.

9.3. AFLÆSNING AF TESTRESULTATER

9.3.1 Fotometrisk aflæsning

Mikrobrøndene bør aflæses fotometrisk inden for 30 minutter efter tilsætning af stopopløsningen. Bland indholdet af mikrobrøndene, og aflæs absorbansen i hver mikrobrønd ved hjælp af et passende spektrofotometer eller en EIA-pladeaflæser indstillet til 450nm. Kontroller, at bunden af mikrobrøndene er ren før aflæsningen, og at der ikke findes fremmedlegemer i mikrobrøndene. Aflæseren skal nulstilles mod luft (dvs. uden plade i holderen), før pladen scannes.

Alternativt bør der, hvis spektrofotometret eller EIA-pladelæseren tillader brug af en referencebølgelængde (ved 620 til 650nm), udføres dobbelt bølgelængdeaflæsning, da dette eliminerer potentiel interferens på grund af forstyrrelser, såsom snavs eller mærker, på mikrobrøndenes optiske overflader.

9.4. RESUMÉ AF IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS

Sørg for, at reagenserne har nået stuetemperatur (15–30°C) inden brug

Tilsæt 100µL kontrol eller testserum/CSF

Inkuber ved 20–25°C under omrystning i 60 minutter

Vask (x4)

Tilsæt 100µL flagelkonjugat [FLAGELLUM CONJUGATE]

Inkuber ved 20–25°C under omrystning i 60 minutter

Vask (x4)

Tilsæt 100µL substrat [SUBSTRATE TM]

Inkuber ved 20-25°C uden omrystning i 10 minutter

Tilsæt 100µL stopopløsning [STOP SOLUTION]

Aflæs absorbansen fotometrisk ved 450nm (reference, 620-650nm)

Sørg for, at reagenserne har nået stuetemperatur (15–30°C) inden brug

Tilsæt 100µL kontrol eller testserum/CSF

Inkuber ved 20–25°C under omrystning i 60 minutter

Vask (x4)

Tilsæt 100µL flagelkonjugat

[FLAGELLUM CONJUGATE]

Vask (x4)

Tilsæt 100µL substrat

[SUBSTRATE TMB]

Tilsæt 100µL stopopløsning

[STOP SOLUTION]

Inkuber ved 20-25°C uden omrystning i 10 minutter

Aflæs absorbansen fotometrisk ved 450nm (reference, 620-650nm)

10. KVALITETSKONTROL OG FORTOLKNING AF RESULTATER

10.1. BUFFERKONTROL

Beregn middel-OD-værdierne af de 2 bufferkontrolmikrobrønde.

Middel-OD-værdien af bufferkontrollen skal være mindre end 0,100, men større end 0,000 (afæsning med dobbelt bølgelængde).

Hvis værdien er over 0,100, kan utilstrækkelig vask eller kontaminering af substratet være årsagen. Hvis værdien er under 0,000, bør pladeafleseren nulstilles mod luft på ny, og mikrobrøndene aflæses igen.

Hvis kvalitetskontrolkravene ikke er opfyldt, er testresultaterne ugyldige, og analysen skal gentages.

10.2. POSITIV IgG-KONTROL OG POSITIV IgM-KONTROL

Beregn middel-OD-værdierne for positiv IgG-kontrol og positiv IgM-kontrol. De enkelte OD-værdier af dobbeltbestemmelserne bør ikke afvige mere end 15% fra middel-OD-værdien.

Middel-OD-værdien for henholdsvis den positive IgG-kontrol og den positive IgM-kontrol skal være mindst 0,500. Hvis disse værdier er mindre end 0,500, kan det skyldes utilstrækkelig vask, utilstrækkelig omrystning under inkuberingerne eller for lav omgivende temperatur navnlig under inkubation med substratet.

Hvis kvalitetskontrolkravene ikke er opfyldt, er testresultaterne ugyldige, og analysen skal gentages.

10.3. PATIENTPRØVER

Beregn middel-OD-værdien for hver patients CSF (ODCSF) og serum (ODserum) -prøve med henblik på bestemmelse af både IgG og IgM. OD-værdierne bør ikke afvige mere end 15% fra middelværdien. Alle sådanne prøver bør analyseres igen. Hvis imidlertid begge testmikrobrønde viser et negativt resultat, kan en forskel på mere end 15% være acceptabelt uden ny analyse, da lave OD-værdier måles med mindre præcision.

Indeksformlen for specifikt antistof er givet nedenfor. Beregn indekset for specifikt antistof for heholdsvi IgG (IlgG) og IgM (IlgM). Beregning af indekset bør ikke udføres, hvis middel-OD-værdien af CSF-bestemmelsen er mindre end 0,150. Alle sådanne analyser bør rapporteres som værende negative.

Indeks = 
$$\frac{OD_{CSF}}{OD_{SERUM}} \times (OD_{CSF} - OD_{SERUM})$$

10.4. FORTOLKNING AF RESULTATER

10.4.1 Kvalitativ fortolkning

Fortolk som følger:

Negativ for produktion af intratekale IgG-antistoffer mod B. burgdorferi:

IlgG <0,3  
eller OD<sub>CSF</sub> <0,150

Positiv for produktion af intratekale IgG-antistoffer mod B. burgdorferi:

IlgG ≥0,3

Negativ for produktion af intratekale IgM-antistoffer mod B. burgdorferi:

IlgM <0,3  
eller OD<sub>CSF</sub> <0,150

Positiv for produktion af intratekale IgM-antistoffer mod B. burgdorferi:

IlgM ≥0,3

10.4.2 Semikvantitativ fortolkning

Jo højere værdi af det opnåede indeks, jo mere udtalt er den intratekale produktion af specifikt antistof. Indeks værdierne kan være 100 eller endog højere.

Indekset for specifikt antistof er et overordentligt sensitivt semikvantitativt mål for intratekal antistofproduktion, fordi det afhænger af raten af intratekal antistofproduktion, permeabiliteten af barrieren mellem blodet og CSF og niveauet af specifikke serumantistoffer. Derfor skal en ændring i på hinanden følgende prøver taget efter behandling kun betragtes som signifikant, hvis et positivt indeks bliver <0,3, eller hvis det falder eller stiger mere end 5 gange. Dette er udelukkende vejledende.

10.4.3 Kommentarer til resultatfortolkninger

Resultatforklaring

Intratekal antistofproduktion er teoretisk til stede, hvis ODCSF/ODSerum >1. Imidlertid er denne antagelse på grund af intraanalysevariationen navnlig i det nedre OD-område ikke sikker. Netto-OD-differencen (ODCSF - ODSerum) giver mere præcis information, men på grund af intraanalysevariationen vil den mindste ODdifferens indikativ for intratekal antistofsyntese øges med stigende OD-værdier. Disse ulemper elimineres ved multiplikation af OD-ratioen med OD-differencen som udtrykt af indekset for specifikt antistof (I).

Den nedre grænse for indeksværdien på 0,3 for et positivt resultat sikrer, at ODCSF er signifikant højere end ODSerum<sup>6</sup>.

Positive resultater

Et indeks for IgG og/eller IgM ≥0,3 med samtidig mononukleær pleocytose i CSF er meget indikativt for Lyme neuroborreliosis. (En høj CSF-OD-værdi er i sig selv ikke indikativt for intratekal antistofproduktion).

Et IgM-indeks ≥0,3 er almindeligvis i overensstemmelse med en sygdomsvarighed på mindre end 6 måneder. Intratekal syntese af specifikt IgM er en kraftig indikation på neuroborreliosis, men IgM findes ikke obligatorisk. Patienter med aktiv neuroborreliosis, der har varet i mere end 6 måneder, vil sædvanligvis kun have intratekal syntese af specifikt IgG, og der vil blive påvist et IgG-indeks ≥0,3.

Negative resultater

Et negativt resultat, det vil sige et IgG- og IgM-indeks <0,3, med samtidig mononukleær pleocytose i CSF udelukker ikke den kliniske diagnose af Lyme neuroborreliosis. Dette gælder navnlig, når der kun er gået kort tid mellem indtræden af de neurologiske symptomer og udtagning af serum og CSF.

Hos de fleste ubehandlede patienter med sikre tegn på neuroborreliosis bliver specifikke antistoffer i CSF detekterbare i den 2. uge efter indtræden af de neurologiske symptomer<sup>6</sup>. Hos patienter med tidlig neuroborreliosis og et negativt testresultat bliver senere prøver ofte positive selv efter påbegyndelse af behandling.

Et IgM-indeks <0,3 udelukker ikke altid specifik intratekal IgM-syntese. Fundet af en høj (≥1,0) OD-værdi for IgM i CSF, der er lig med eller endog mindre end den tilsvarende serum-IgM-værdi, kan stadig være indikativt for intratekal antistofsyntese, hvis alvorlig forstyrrelse af barrieren mellem blod og CSF kan udelukkes<sup>6</sup>.

Prøver taget efter behandling

Evalueri af på hinanden følgende CSF-/serumprøver taget efter behandling: Efter passende antibiotikabehandling vil et specifikt IgM-indeks falde, og efter 6-9 måneder vil det sædvanligvis være <0,3. Et forhøjet IgG-indeks vil ofte vare ved i årevis på trods af fuldstændig helbredelse.

Et IgG-indeks ≥0,3 uden samtidig mononukleær pleocytose i CSF er sjældent undtagen i prøver taget efter behandling. Derfor kan

et sådant fund indikere en tidligere episode af neuroborreliosis.

11. TESTENS BEGRÆNSNINGER

11.1. Kraftig kontaminering af CSF-prøven med blod kan føre til falskt lave indekser for specifikke antistoffer.

11.2. På grund af slægtskabet mellem antigener fra B. burgdorferi og Treponema pallidum kan der, skønt sjældent, forekomme serologiske krydsreaktioner hos patienter med en nylig eller tidligere historie af neurosyfilis. Serologisk diskriminering er mulig ved brug af treponemale tests såsom T pallidum-hæmagglutinationsanalysen, eller ikke-treponemale tests såsom rapid plasma reagin (RPR)- eller Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)-testen. Disse tests vil være negative hos patienter, der kun er inficeret med B. burgdorferi.

11.3. Tidligere antibiotikabehandling kan ophæve antistofreaktionen og derfor gøre de serologiske fund mindre uforudsigelige.

11.4. Udtagning af prøver tidligt i sygdomsforløbet kan føre til falske negative testresultater (se Afsnit 10, Forventede resultater).

11.5. Testens resultat bliver påvirket, hvis reagenserne modificeres eller opbevares under forhold, som afviger fra de i Afsnit 4.2 anførte.

11.6. Testresultaterne bør fortolkes sammen med informationer fra epidemiologiske studier, klinisk bedømmelse af patienten og andre diagnostiske procedurer.

12. FORVENTEDE VÆRDIER

Et indeks for specifikt antistof ≥0,3 indikerer altid intratekal syntese af specifikke antistoffer.

Hos patienter med neuroborreliosis begynder Intratekal antistofsyntese sædvanligvis i den anden uge efter indtræden af de neurologiske symptomer. Produktion af specifikt IgG og/eller IgM kan påvises hos ≈ 80% af patienterne med sikker neuroborreliosis i begyndelsen af den tredje uge og hos alle patienter 6-8 uger efter indtræden af de neurologiske symptomer<sup>6</sup>.

Fravær af intratekal antistofproduktion eller tilstedeværelse af specifikke antistoffer i CSF på grund af udsivning fra serum eller blod til CSF vil give antistofindekser ≤0.

13. SPECIFIKKE EFFEKTIVITETSKARAKTERISTIKA

Parvise CSF- og serumprøver fra 25 patienter med klinisk defineret tidlig Lyme neuroborreliosis blev analyseret med IDEIA Lyme Neuroborreliosis.

| IDEIA Lyme Neuroborreliosis                                        | Antal patienter |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Positive for intratekalt producerede IgG-antistoffer               | 18              |
| Negative for intratekalt producerede IgG-antistoffer               | 7               |
| Positive for intratekalt producerede IgM-antistoffer               | 12              |
| Negative for intratekalt producerede IgM-antistoffer               | 13              |
| Positive for intratekalt producerede IgG- og/eller IgM-antistoffer | 19              |
| Negative for intratekalt producerede IgG- og IgM-antistoffer       | 6               |

Et indeks for specifikt antistof ≥0,3 for IgG blev fundet hos 72% og for IgM hos 48% af de 25 patienter med tidlig Lyme neuroborreliosis. Kun én patient havde specifik IgM-syntese uden samtidig IgG-syntese. Dog viste nogle patienter med lave IgG-indekser ved IgM-indekser ≥0,3. Derfor øges den diagnostiske evidens ved at undersøge for både specifik IgG- og IgM-syntese. 19 ud af 25 patienter (76%) med tidlig Lyme neuroborreliosis blev identificeret med IDEIA Lyme Neuroborreliosis.

13.1. KRYDSREAKTIVITET

Et positivt resultat indikerer altid intratekal antistofsyntese mod B. burgdorferi undtagen ved analyse af prøver fra patienter med neurosyfilis. Prøver fra disse patienter kan give falske positive resultater. Imidlertid forbliver indekset for B. burgdorferi-specifikt antistof almindeligvis lavt. Endvidere er det et konsistent fund, at krydsreagerende CSF-antistoffer såvel som serumantistoffer tilhører IgG-klassen<sup>3</sup>.

Betydningen af intratekal, polyklonal B-celleaktivering som årsag til "falske positive" IgM-resultater kendes ikke<sup>3</sup>.

14. REFERENCER

- Burgdorferi W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. (1982)**  
Lyme disease - a tick-borne spirochetosis? Science **216**: 1317-9.
- Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorferi W, et al. (1983)**  
The spirochetal etiology of Lyme disease. N Engl J Med **308**: 733-40.
- Hansen K. (1994)**  
Lyme neuroborreliosis: Improvements of the laboratory diagnosis and a survey of epidemiological and clinical features in Denmark 1985 - 1990. Acta Neurol Scand (suppl. 151); **89**: 1-44.
- Stiernstedt GT, Granström M, Hederstedt B, Sköldenberg B. (1985)**  
Diagnosis of spirochetal meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunoflourescence assay in serum and cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol; **21**: 819-25.
- Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS. (1988)**  
Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease. J Clin Microbiol **26**: 338-46.
- Hansen K, Lebech A-M. (1991)**  
Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific immunoglobulin G, A, and M. Ann Neurol; **30**: 197-205.
- Craft JE, Duncan KF, Shimamoto GT, Steere AC. (1986)**  
Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness. J Clin Invest **78**: 934-9.
- Karlsson M, Möllegård I, Stiernstedt G, Henriksson M, Wretling B. (1988)**  
Characterization of antibody response in patients with *Borrelia* meningitis. Serodiagn Immunother Infect Dis; **2**: 375-86.
- Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühbeck R, Pfister HW, et al. (1986)**  
Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphotic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome). J Infect Dis; **153**: 304-14.
- Hansen K, Cruz M, Link H. (1990)**  
Oligoclonal *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in cerebrospinal fluid in Lyme neuroborreliosis. J Infect Dis; **161**: 1194-202.
- Karlsson M. (1990)**  
Western immunoblot and flagellum enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis. J Clin Microbiol **28**: 2148-50.

15. SYMBOLFORKLARING

|                                                                                     |                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|   | Katalognummer                                      |
|  | Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostisk brug     |
|  | Se brugervejledningen (Instructions for Use – IFU) |
|  | Temperaturgrænser (opbevaringstemp.)               |
|  | Tilstrækkeligt indhold til <N> test                |
|  | Batchkode (partinummer)                            |
|  | Skal anvendes inden (udløbsdato)                   |
|  | Må ikke udsættes for sollys                        |
|  | Tilsæt vand                                        |
|  | Importør                                           |
|  | Unik enhedsidentifikator                           |
|  | Autoriseret repræsentant i EU                      |
|  | Overensstemmelsesvurdering for Storbritannien      |
|  | Europæisk overensstemmelseserklæring               |
|  | Producent                                          |



Oxoid Limited,  
Wade Road, Basingstoke,  
Hampshire, RG24 8PW Storbritannien

Kontakt din lokale forhandler for at få teknisk hjælp.

| Version | Dato for indførte ændringer                         |
|---------|-----------------------------------------------------|
| X7840G  | April 2024<br>Opdateret for at opfylde IVDR-kravene |



Key Code TSMX7840G  
www.thermofisher.com

Europe +800 135 79 135                      US 1 855 2360 190  
CA 1 855 805 8539                          ROW +31 20 794 7071

# IDEIA Lyme Neuroborreliosis

**[REF]** K602811-2 .....▽96 **IT**

**1. USO PREVISTO**

IDEIA Lyme Neuroborreliosis è un test immunoenzimatico qualitativo per la rilevazione di anticorpi IgG e IgM umani prodotti per via intratecale anti-Borrelia burgdorferi sensu lato da campioni clinici. I risultati dei test hanno lo scopo di aiutare i medici nella diagnosi della neuroborreliosi di Lyme. Il dispositivo non è automatizzato, è solo per uso professionale e non è adatto per la diagnostica di accompagnamento.

**[IVD]** Per uso diagnostico in vitro.

**2. SOMMARIO**

La borreliosi di Lyme è una infezione multisistemica provocata dalla spirocheta *B. burgdorferi* sensu lato trasmessa da morso di zecca<sup>1,2</sup>.

La neuroborreliosi, in cui viene interessato il sistema nervoso, è una manifestazione grave comune della borreliosi di Lyme<sup>3</sup>.

E necessario un test diagnostico sensibile e affidabile per la neuroborreliosi che, al contrario di altre malattie esistenti caratterizzate da sintomi simili, risponde alla terapia antibiotica.

Attualmente, il migliore indicatore per la neuroborreliosi attiva è una variazione infiammatoria del fluido cerebrospinale (CSF), in particolare un aumento del numero di cellule mononucleari (pleocitosi mononucleare) combinata con la manifestazione di anticorpi Borrelia-specifici prodotti intratecalmente nel CSF. La ricerca di una immunorispota intratecale specifica è più significativa dal punto di vista diagnostico rispetto alla misurazione degli anticorpi specifici nel siero. Inoltre, nel caso della neuroborreliosi, la sintesi di anticorpi specifici è frequentemente rilevata nel CSF prima che nel siero<sup>4,5</sup>.

IDEIA Lyme Neuroborreliosis è un saggio indicato per la ricerca diretta e sensibile degli anticorpi di classe IgG e di classe IgM umani anti-*Borrelia burgdorferi* prodotti intratecalmente<sup>6</sup>. Non è necessaria la misura di sostanze di riferimento (albumina, ecc.) né complicate correzioni per la trasudazione di anticorpi sierici nel CSF provocata da un danno alla barriera sanguigna del CSF. Neppure la contaminazione sanguigna del CSF durante una centesi spinale porta a risultati falsi positivi.

Il saggio utilizza come antigene il flagello nativo purificato DK1 del ceppo *B. Burgdorferi*. Il flagello è altamente immunogenico, induce una immunorispota precoce, intensa e persistente<sup>7,8</sup> ed è il principale antigene per la risposta anticorpale intratecale<sup>9,10</sup>. Rispetto all'antigene convenzionale e più comunemente usato per il saggio, che si basa sull'estratto della spirocheta dall'intera cellula, l'antigene flagellare nativo purificato consente una sensibilità e una specificità diagnostica migliori dei dosaggi sierologici per la borreliosi di Lyme<sup>5,11</sup>. Inoltre, non presentando variazioni di rilievo tra i ceppi di *B. burgdorferi*, il flagello utilizzato come antigene per il saggio è idoneo in tutte le aree geografiche.

**3. PRINCIPIO DELLA PROCEDURA**

Il test si basa sul principio a cattura ELISA e consiste di un saggio di cattura delle IgG umane e di un saggio di cattura delle IgM umane per la determinazione degli anticorpi rispettivamente di classe IgG e IgM anti- *B. burgdorferi* prodotti intratecalmente. Viene descritto dettagliatamente in seguito il saggio di cattura delle IgG umane.

Le coppie di campioni di CSF e di siero vengono aggiunte nei micropozzetti ricoperti di anticorpo specifico per le IgG umane. La diluizione del CSF e del siero assicura che l'anticorpo di cattura anti-IgG umane venga saturato con le IgG del CSF o del siero. Pertanto, nei micropozzetti viene catturata la stessa quantità di IgG totali, dal CSF o dal siero.

Dopo il lavaggio per eliminare le proteine in eccesso, si aggiunge nei micropozzetti il flagello nativo di Borrelia biotinilato complessato con streptavidina perossidasi-coniugata (coniugato del flagello). Il coniugato del flagello viene così legato solamente dalle IgG *B. burgdorferi*-specifiche e non dalle IgG non-*B. burgdorferi*-specifiche.

Il coniugato del flagello in eccesso viene rimosso mediante lavaggio. La quantità legata di coniugato del flagello per micropozzetto viene visualizzata per aggiunta di un substrato cromogeno che sviluppa una colorazione blu. L'acido aggiunto per bloccare la reazione fa virare il colore da blu a giallo. L'intensità della colorazione corrisponde alla concentrazione delle IgG *B. burgdorferi*-specifiche catturate sulla fase solida.

Il saggio di cattura delle IgM umane è simile a quello delle IgG umane, eccetto che in questo caso i micropozzetti sono ricoperti di un anticorpo di cattura anti-IgM umane.

Normalmente, le concentrazioni totali di IgG e di IgM nel CSF sono molto basse rispetto ai livelli nel siero. Pertanto, nella produzione intratecale di anticorpi *B. burgdorferi*-specifici, la quantità di anticorpi di classe IgG o IgM specifici nel CSF costituirà una percentuale molto maggiore della quantità totale di IgG e di IgM rispetto alle percentuali rilevate nel siero. Nel caso non vi sia una produzione anticorpale intratecale specifica, oppure quando gli anticorpi specifici nel CSF sono dovuti a contaminazione sanguigna o a trasudazione dal siero, la differenza tra il valore di densità ottica (OD) per il CSF e il valore OD del siero risulterà ≤0.

Di conseguenza, nel caso della neuroborreliosi, si otterrà un valore OD significativamente maggiore per il CSF rispetto al valore ottenuto per il campione sierico. In questi casi, pertanto, la differenza tra il valore OD per il CSF e il valore OD per il siero sarà >0.

Il confronto dei valori di densità ottica per le coppie di campioni sierici e di CSF, analizzati in parallelo, consente la determinazione della produzione intratecale degli anticorpi *B. burgdorferi*-specifici. La formula per il calcolo dei risultati del test è stata messa a punto prendendo in considerazione le variazioni intra-saggio nel confronto delle differenze di valori OD tra le coppie di campioni sierici e di CSF<sup>6</sup>.

A causa dell'immunocattura selettiva degli anticorpi di classe IgG e IgM, non si verifica alcuna interferenza competitiva con altre classi di immunoglobuline. L'uso di un antigene coniugato per il test elimina inoltre le interferenze provenienti dal fattore reumatoide (FR).

## 4. REAGENTI FORNITI

2°C-8°C

Ciascun kit contiene materiale sufficiente per 96 determinazioni. La stabilità del kit è indicata sull'etichetta all'esterno della confezione. Conservare i componenti inutilizzati a 2-8°C.

|                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>4.1. CONTENUTO DEL TEST IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS</b>                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|  | Un libretto di istruzioni per l'uso.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|  | 48 micropozzetti (6 strisce da 8 micropozzetti ciascuna) ricoperti di anti-IgG umane (indicata con una "G" stampata sulla linguetta all'estremità di ciascuna striscia di micropozzetti) e 48 micropozzetti (6 strisce da 8 micropozzetti ciascuna) ricoperti di anti-IgM umane (indicata con una "M" stampata sulla linguetta all'estremità di ciascuna striscia di micropozzetti). Per la conservazione dei micropozzetti non utilizzati viene fornita una bustina in plastica sigillabile. Garantire un'attenta manipolazione delle strisce, in particolare se i pozzetti sono staccati dalla striscia, poiché ciascuna è etichettata ma i singoli pozzetti non sono etichettati. |

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Un flacone di ciascuno dei seguenti reagenti:                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|    | 100mL di diluente per campione: soluzione tampone con detergente, agente antimicrobico e colorante rosso.                                                                                                                                                                              |
|    | 50mL di tampone di lavaggio concentrato 25x. Soluzione tamponata con detergente e agente antimicrobico.                                                                                                                                                                                |
|    | 1,5mL di controllo positivo per le IgG: siero umano in soluzione tampone con agente antimicrobico e colorante verde.                                                                                                                                                                   |
|    | 1,5mL di controllo positivo per le IgM: siero umano in soluzione tampone con agente antimicrobico e colorante giallo.                                                                                                                                                                  |
|    | Coniugato di flagello liofilizzato: flagello di <i>B. Burgdorferi</i> biotinilato da ricostituire con tampone di ricostituzione e complessare con streptavidina coniugata con perossidasi prima dell'uso.                                                                              |
|  | 12,5mL di tampone di ricostituzione: soluzione tampone con detergente, agente antimicrobico e colorante blu.                                                                                                                                                                           |
|  | 1mL di complesso di perossidasi: streptavidina coniugata con perossidasi in soluzione tampone contenente proteine vettrici e un agente antimicrobico.                                                                                                                                  |
|  | 12mL di substrato: perossido stabilizzato e 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina in una soluzione tampone diluita. È stato riportato che la TMB non è cancerogena. Tuttavia, si raccomanda l'utilizzo di dispositivi di protezione individuale per evitare l'esposizione diretta al prodotto. |
|  | 25mL di soluzione bloccante: acido solforico 0,46mol/L.                                                                                                                                                                                                                                |

## 4.2. PREPARAZIONE, CONSERVAZIONE E RIUTILIZZO DEI COMPONENTI DEL KIT

La confezione del kit IDEIA Lyme Neuroborreliosis consente di eseguire sino a 6 cicli individuali in 3 mesi, prima della data di scadenza indicata sull'etichetta. Per garantire la performance ottimale del kit è importante che tutti i reagenti non utilizzati siano preparati e conservati seguendo le seguenti istruzioni:

**4.2.1 Micropozzetti** - 

Aprire la bustina contenente la piastra tagliando lungo la chiusura. Staccare le strisce di anti-IgG umane (indicata con una "G" stampata sulla linguetta all'estremità di ciascuna striscia di micropozzetti) e di anti-IgG umane (indicata con una "M" stampata sulla linguetta all'estremità di ciascuna striscia di micropozzetti) nel numero richiesto per il dosaggio e riporle nel blocco.

Degli 8 micropozzetti di una striscia, quattro consentono la determinazione in duplicato del CSF e del siero di un paziente e i rimanenti quattro sono utilizzati per il controllo positivo e il controllo tampone. Ciascuna striscia aggiionale di IgG e di IgM consente l'analisi di coppie di campioni provenienti da due pazienti. Quando viene utilizzato contemporaneamente l'intero blocco di 6 strisce IgG e 6 strisce IgM, possono essere analizzati, per la ricerca degli anticorpi di classe IgG e IgM, i campioni di CSF e di siero provenienti da 11 pazienti.

I micropozzetti non utilizzati devono essere riposti nella bustina di plastica con l'essiccante, sigillata accuratamente, e conservati a 2-8°C. I micropozzetti possono essere utilizzati entro 12 settimane dalla prima apertura se vengono seguite le istruzioni indicate per la conservazione.

**4.2.2 Diluente del campione** - 

Pronto per l'uso. Conservare il diluente per campione inutilizzato a 2-8°C.

**4.2.3 Tampone di lavaggio concentrato** - 

Fornito concentrato 25x. Preparare il tampone di lavaggio alla concentrazione di lavoro aggiungendo 1 parte di tampone di lavaggio concentrato a 24 parti di acqua deionizzata o distillata fresca (alternativamente, aggiungere il contenuto del flacone del tampone di lavaggio concentrato a 1200mL di acqua deionizzata o distillata fresca). **Preparare il tampone di lavaggio alla concentrazione richiesta il giorno stesso dell'utilizzo.** Conservare la soluzione concentrata inutilizzata a 2-8°C.

**Non conservare il tampone di lavaggio alla concentrazione di lavoro inutilizzato per un uso successivo** (vedere la Sezione 8.2.11).

**4.2.4 Controllo positivo per le IgG** - 

Pronto per l'uso. Conservare il controllo positivo per le IgG non utilizzato a 2-8°C.

**4.2.5 Controllo positivo per le IgM** - 

Pronto per l'uso. Conservare il controllo positivo per le IgM non utilizzato a 2-8°C.

**4.2.6 Coniugato del flagello, perossidasi e tampone di ricostituzione** -   

Ricostituire il coniugato del flagello di Borrelia liofilizzato, biotinilato con il contenuto del tampone di ricostituzione e aggiungere 650µL di complesso di perossidasi. Miscelare il contenuto per inversione. Il **coniugato del flagello ricostituito deve essere preparato almeno 1 ora prima dell'uso.** Il coniugato del flagello ricostituito deve essere conservato a 2-8°C e utilizzato entro 3 mesi.

**4.2.7 Substrato** - 

Pronto per l'uso. Conservare il substrato non utilizzato a 2-8°C.

**4.2.8 Soluzione bloccante** - 

Pronta per l'uso. Conservare la soluzione bloccante non utilizzata a 2-8°C.

|                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>5. REAGENTI AGGIUNTIVI</b>                                                                                                                                                                                           |
| <b>5.1. REAGENTI</b>                                                                                                                                                                                                    |
| Acqua deionizzata o distillata fresca.                                                                                                                                                                                  |
| <b>6. ATTREZZATURA</b>                                                                                                                                                                                                  |
| È necessaria la seguente attrezzatura:                                                                                                                                                                                  |
| Cilindro graduato (2L)                                                                                                                                                                                                  |
| Provette da circa 5mL di capacità                                                                                                                                                                                       |
| Micropipette di precisione e puntali monouso per la dispensazione di volumi di 10–1000µL                                                                                                                                |
| Pipetta da 8 canali per la dispensazione di 100µL (facoltativo)                                                                                                                                                         |
| Contentitori per reagenti per pipetta da 8 canali (facoltativo)                                                                                                                                                         |
| Carta assorbente pulita (per asciugare i micropozzetti)                                                                                                                                                                 |
| Copripiastra in plastica                                                                                                                                                                                                |
| Agitatore per piastre per microtitolazione regolabile ad una velocità minima di 500rpm con un diametro orbitale di 3-4mm. Per informazioni sull'idoneità degli agitatori/incubatori contattare la filiale distributore. |
| Contaminuti                                                                                                                                                                                                             |
| Lavapiastre automatico (facoltativo) o altra attrezzatura idonea per il lavaggio di strisce da 8 micropozzetti (Sezione9.2.3).                                                                                          |

**Nota: per il lavaggio di una striscia da 8 micropozzetti con un lavapiastre automatico dotato di testa da 8 micropozzetti, è importante riempire completamente la striscia con micropozzetti vuoti.**

Spettrofotometro o lettore di micropiastre con possibilità di lettura di piastre da 96 pozzetti suddivise in strisce da 8 micropozzetti ciascuna ad una assorbanza di 450nm con un valore di riferimento nell'intervallo 620-650nm. (facoltativo, vedi Sezione 9.3, Lettura dei risultati del test).

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>7. PRECAUZIONI</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>7.1. PRECAUZIONI DI SICUREZZA</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 7.1.1 Sebbene il siero utilizzato per la preparazione dei controlli positivi sia stato analizzato individualmente e sia risultato negativo per l'antigene di superficie del virus dell'epatite B e per gli anticorpi dei virus HIV e dell'epatite C, i controlli positivi devono essere trattati come materiali potenzialmente infettivi. |
| 7.1.2 La soluzione bloccante contiene acido solforico (0,46mol/L). Indossare indumenti protettivi e protezioni oculari per evitare il contatto con gli occhi e con la pelle.                                                                                                                                                              |
| 7.1.3 Non mangiare, bere, conservare né preparare cibi o applicare cosmetici nell'area di lavoro designata.                                                                                                                                                                                                                               |
| 7.1.4 Non pipettare i materiali con la bocca.                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 7.1.5 Durante la manipolazione dei campioni clinici si raccomanda l'utilizzo di guanti monouso e di lavarsi sempre le mani dopo aver lavorato con materiale infetto.                                                                                                                                                                      |
| 7.1.6 Smaltire tutti i campioni clinici e i controlli positivi conformemente alla legislazione locale.                                                                                                                                                                                                                                    |
| 7.1.7 Schede di sicurezza dei materiali sono disponibili su richiesta per gli operatori specializzati.                                                                                                                                                                                                                                    |
| 7.1.8 Il Tampone di lavaggio concentrato contiene Tris-cloridrato che è classificato come pericoloso ai sensi del Regolamento applicabile della Comunità Europea (CE). Le frasi H o indicazioni di pericolo e le frasi P o consigli di prudenza applicabili sono le seguenti.                                                             |

|                                                                                       |                 |                                                                                                                                                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | H315            | Provoca irritazione cutanea.                                                                                                                                         |
|                                                                                       | H319            | Provoca grave irritazione oculare.                                                                                                                                   |
|                                                                                       | P332+P313       | In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.                                                                                                            |
|                                                                                       | P305+P351 +P338 | IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. |
|                                                                                       | P280            | Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.                                                                                                  |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>7.2. PRECAUZIONI TECNICHE</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 7.2.1 Esclusivamente per uso professionale.                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 7.2.2 In caso di malfunzionamento, non utilizzare il dispositivo.                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 7.2.3 Fare riferimento alla scheda di sicurezza, disponibile sul sito web di ThermoFisher, e all'etichetta del prodotto per informazioni sui componenti potenzialmente pericolosi.                                                                                                                                   |
| 7.2.4 Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è ubicato.                                                                                                           |
| 7.2.5 I componenti non devono essere utilizzati dopo la data di scadenza indicata sulle etichette. Non mischiare o scambiare tra loro reagenti provenienti da lotti differenti, fatta eccezione per i reagenti standard (diluente per campioni, soluzione di lavaggio concentrata, substrato e soluzione bloccante). |
| 7.2.6 I reagenti sono forniti a concentrazioni di lavoro fisse. Qualsiasi alterazione dei reagenti o la conservazione non conforme a quanto indicato nella Sezione 4.2 può influire negativamente sul risultato del test.                                                                                            |
| 7.2.7 Evitare la contaminazione dei reagenti.                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 7.2.8 Utilizzare pipette monouso o puntali differenti per ogni campione, controllo o reagente per evitare la contaminazione crociata dei campioni o dei controlli, che può portare a risultati incorretti.                                                                                                           |
| 7.2.9 Evitare la contaminazione con ioni metallici ed agenti ossidanti.                                                                                                                                                                                                                                              |
| 7.2.10 Conservare l'acqua deionizzata o distillata per la diluizione dei reagenti concentrati in contenitori puliti per evitare contaminazione microbica.                                                                                                                                                            |
| 7.2.11 Non utilizzare il substrato se presenta una colorazione blu prima dell'aggiunta nei micropozzetti.                                                                                                                                                                                                            |
| 7.2.12 Proteggere il substrato dalla luce.                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 7.2.13 I micropozzetti non possono essere riutilizzati.                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 7.2.14 L'attrezzatura per il lavaggio, manuale o automatico, deve essere priva di contaminazione microbica, calibrata correttamente e conservata conformemente alle istruzioni del fabbricante.                                                                                                                      |
| 7.2.15 Non conservare il tampone di lavaggio alla concentrazione di lavoro inutilizzato per un uso successivo. Quando non utilizzati, i contenitori del tampone di lavaggio devono essere sciacquati in acqua deionizzata o distillata e lasciati asciugare.                                                         |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>8. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>8.1. RACCOLTA DEI CAMPIONI</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Il kit IDEIA Lyme Neuroborreliosis consente di analizzare contemporaneamente coppie di campioni di CSF e di siero umani. I campioni di CSF e di siero in duplicato devono essere ottenuti dal paziente nello stesso momento. Sono necessari almeno 0,5mL di CSF, preferibilmente 1-2mL di CSF, per consentire la ripetizione e/o la performance del saggio con una minore diluizione. Per il siero, sono sufficienti 0,5mL. |

L'analisi dei campioni dall'aspetto torbido o viscoso può portare a risultati non affidabili a causa di errori di pipettatura.

Le coppie di campioni di CSF e di siero possono essere conservate per 14 giorni a 2-8°C prima dell'analisi e sino a 6 mesi a –20°C o ad una temperatura inferiore.

**8.2. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI**

Diluire i campioni di CSF 1:4 aggiungendo 100µL di CSF a 400µL di diluente per campioni.

Diluire i campioni di siero 1:200 aggiungendo 10µL di siero a 2mL di diluente per campioni.

|                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>9. PROCEDURA DEL TEST</b>                                                               |
| <b>PRIMA DI ESEGUIRE IL TEST FARE RIFERIMENTO ALLA SEZIONE 7.2 (PRECAUZIONI TECNICHE).</b> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>9.1. NOTE SULLA PROCEDURA</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 9.1.1 La conferma della performance del test si basa sull'analisi in duplicato di tutti i campioni. Se si prevede di analizzare i campioni dei pazienti singolarmente, si raccomanda agli utenti di eseguire il test solamente dopo aver acquisito sufficiente esperienza sulle caratteristiche di performance del saggio. La variazione intra-saggio (CV%) è circa 50% superiore quando viene basata su una determinazione singola. |
| 9.1.2 Se non è disponibile un agitatore regolabile a 500rpm, la velocità di agitazione delle strisce durante le due fasi di incubazione può essere ridotta a 300rpm senza effetti negativi sulla performance del test; alternativamente, è disponibile un protocollo in condizioni statiche. Si prega di contattare la filiale distributore per ulteriori informazioni su un protocollo idoneo alle condizioni disponibili.          |

**9.2. PROCEDURA OPERATIVA**

**NOTA:** la procedura operativa richiede l'uso di un agitatore per piastre per microtitolazione. Per informazioni sull'idoneità degli agitatori contattare la filiale distributore.

Se vengono utilizzate strisce multiple, si raccomanda di utilizzare una pipetta a 8 canali per l'aggiunta del coniugato, del substrato e della soluzione bloccante.

**9.2.1 Aggiunta del campione e del controllo**

Collocare il numero richiesto di micropozzetti nel portapozzetti. Aggiungere 100µL di CSF e di siero diluito del paziente in duplicato in altrettanti micropozzetti della striscia anti-IgG e della striscia anti-IgG. Garantire un'attenta manipolazione delle strisce, in particolare se i pozzetti sono staccati dalla striscia, poiché ciascuna è etichettata ma i singoli pozzetti non sono etichettati. Aggiungere 100µL di controllo positivo per le IgG a due micropozzetti anti-IgG e 100µL di controllo positivo per le IgM a due micropozzetti anti-IgM. Aggiungere diluente ai micropozzetti IgG e IgM (includere almeno 1 micropozzetto con diluente per campione per ogni lotto di campioni analizzato).

**9.2.2 Incubazione dei campioni**

Coprire i micropozzetti ed incubare in agitatore a temperatura ambiente (20-25°C) con agitazione per 60 minuti.

**9.2.3 Lavaggio dei micropozzetti**

I micropozzetti devono essere lavati con tampone di lavaggio alla concentrazione di lavoro (vedi Sezione 4.2.3).

La tecnica di lavaggio è fondamentale per la performance del test e deve pertanto essere eseguita correttamente, in modo che i micropozzetti vengano riempiti (con un minimo di 350µL di soluzione tampone alla concentrazione di lavoro) e svuotati completamente.

Sono necessari quattro cicli di lavaggio, con tecniche di lavaggio automatico o manuale, che devono comprendere 2 minuti di immersione durante il secondo lavaggio o un totale di 2 minuti di immersione durante il ciclo completo.

**Lavaggio manuale**

Per il lavaggio manuale dei micropozzetti, aspirare il contenuto o svuotare i micropozzetti capovolgendoli e, utilizzando il tampone di lavaggio preparato di fresco, accertarsi che vengano riempiti e svuotati completamente. Dopo ogni ciclo di lavaggio, rimuovere il tampone di lavaggio residuo picchiettando i micropozzetti capovolti su carta assorbente pulita. Il lavaggio manuale risulta più efficiente se il tampone di lavaggio viene versato da una angolazione tale da produrre un vortice nel micropozzetto. Dopo il lavaggio finale, la piastra deve essere capovolta e picchiettata su carta assorbente per rimuovere le tracce residue di tampone di lavaggio.

**Lavaggio automatico**

I lavapiastre automatici devono essere programmati per completare almeno 4 cicli di lavaggio, comprendendo l'equivalente di 2 minuti di immersione durante il ciclo completo. I lavapiastre devono essere calibrati correttamente per assicurare che i micropozzetti siano riempiti e svuotati completamente dopo ogni lavaggio. Dopo il lavaggio finale, la piastra deve essere capovolta e picchiettata su carta assorbente per rimuovere le tracce residue di tampone di lavaggio.

**9.2.4 Aggiunta del coniugato**

Miscelare il coniugato del flagello per inversione. Aggiungere 100µL di coniugato del flagello in ciascun micropozzetto.

**9.2.5 Incubazione del coniugato**

Coprire i micropozzetti ed incubare in agitatore a temperatura ambiente (20-25°C) con agitazione per 60 minuti.

**9.2.6 Lavaggio dei micropozzetti**

Lavare i micropozzetti come descritto nella Sezione 9.2.3.

**9.2.7 Aggiunta e incubazione del substrato**

Aggiungere 100µL di substrato in ciascun micropozzetto.

Coprire i micropozzetti ed incubare a temperatura ambiente (20-25°C) senza agitazione per 10 minuti.

**9.2.8 Blocco della reazione**

Aggiungere 100µL di soluzione bloccante in ciascun micropozzetto. Assicurare la miscelazione omogenea del contenuto dei micropozzetti. Il prodotto colorato è stabile per 30 minuti. Non esporre alla luce solare diretta per evitare la fotodecolorazione del prodotto.

**9.3. LETTURA DEI RISULTATI DEL TEST**

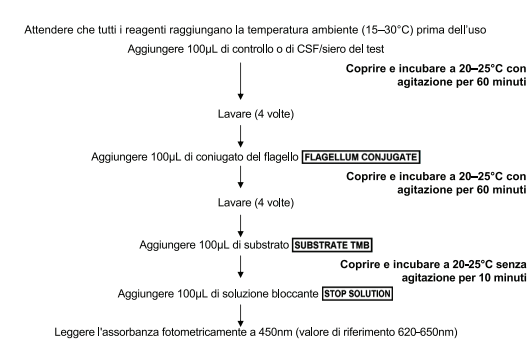
**9.3.1 Lettura fotometrica**

I micropozzetti devono essere letti fotometricamente entro 30 minuti dall'aggiunta della soluzione bloccante. Miscelare il contenuto dei micropozzetti e leggere l'assorbanza di ciascun micropozzetto su spettrofotometro o lettore per micropiastre idoneo impostato a 450nm. Prima della lettura, pulire il fondo

dei micropozzetti e verificare l’assenza di materiale estraneo all’interno. La lettura deve essere azzerata contro l’aria (cioè senza piastra sul carrello) prima di procedere alla scansione della piastra.

Alternativamente, se lo spettrofotometro o il lettore di micropiastre consente la misurazione di una lunghezza d’onda di riferimento (da 620 a 650nm), si raccomanda la lettura a doppia lunghezza d’onda per eliminare qualsiasi interferenza potenziale causata da aberrazioni come sporco o segni sulla superficie ottica dei micropozzetti.

9.4. SOMMARIO DELLA PROCEDURA OPERATIVA DEL SAGGIO IDEIA LYME NEUROBORRELIOSIS



10. CONTROLLO DI QUALITÀ E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

10.1. CONTROLLO TAMPONE

Calcolare i valori di densità ottica (OD) medi dei due micropozzetti con il controllo tampone.

Il valore di densità ottica (OD) del controllo tampone deve essere inferiore a 0,100 ma superiore a 0,000 (lettura a doppia lunghezza d’onda).

Un valore superiore a 0,100 può indicare un lavaggio inadeguato o la contaminazione del substrato. Se il valore è inferiore a 0,000, riazzerare il lettore ELISA contro l’aria e ripetere la lettura dei pozzetti.

Se i requisiti del controllo di qualità non sono soddisfatti i risultati del test sono considerati non validi e il saggio deve essere ripetuto.

10.2. CONTROLLO POSITIVO PER LE IgG E CONTROLLO POSITIVO PER LE IgM

Calcolare i valori di densità ottica (OD) medi per il controllo positivo per le IgG e per il controllo positivo per le IgM. I valori OD individuali non devono differire più del 15% dal valore OD medio.

I valori OD medi del controllo positivo per le IgG e del controllo positivo per le IgM devono essere almeno pari a 0,500. Un valore inferiore a 0,500 può essere causato da un lavaggio inadeguato, da una agitazione inadeguata durante le fasi di incubazione oppure da una temperatura ambiente bassa, particolarmente durante l’incubazione con la soluzione substrato.

Se i requisiti del controllo di qualità non sono soddisfatti i risultati del test sono considerati non validi e il saggio deve essere ripetuto.

10.3. CAMPIONI DEI PAZIENTI

Calcolare il valore di densità ottica medio per ciascun campione di CSF (ODCSF) e di siero (ODsiero) dei pazienti per la determinazione sia delle IgG che delle IgM. I valori OD individuali non devono differire più del 15% dalla media. Se questo si verifica, i campioni devono essere rianalizzati. Tuttavia, se entrambi i micropozzetti presentano un risultato negativo, una differenza superiore al 15% può essere accettata senza ripetere l’analisi, in quanto i valori di densità ottica bassi sono misurati con minore precisione.

La formula dell’indice dell’anticorpo specifico è riportata qui di seguito. Calcolare l’indice dell’anticorpo specifico rispettivamente per IgG (IIgG) e per IgM (IIgM). Il calcolo dell’indice non deve essere eseguito qualora il valore OD medio della determinazione di CSF risulti inferiore a 0,150. In questi casi, il risultato del test deve essere riportato come negativo.

Indice =

OD CSF

OD SIERO

OD CSF

OD SIERO

x (OD<sub>CSF</sub> - OD<sub>SIERO</sub>)

10.4. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

10.4.1 Interpretazione qualitativa

Interpretare i risultati come segue:

Negativo per la produzione intratecale di anticorpi IgG anti-B. burgdorferi:

I IgG <0,3  
**oppure** OD<sub>CSF</sub> <0,150

Positivo per la produzione intratecale di anticorpi IgG anti-B. burgdorferi:

I IgG ≥0,3  
Negativo per la produzione intratecale di anticorpi IgM anti-B. burgdorferi:

I IgM <0,3  
**oppure** OD<sub>CSF</sub> <0,150

Positivo per la produzione intratecale di anticorpi IgM anti-B. burgdorferi:

I IgM ≥0,3

10.4.2 Interpretazione semiquantitativa

Più elevato è il valore di indice ottenuto, più pronunciata è la produzione intratecale di anticorpi specifici. I valori di indice possono essere pari o anche superiori a 100.

L’indice di anticorpo specifico è una misura semiquantitativa altamente sensibile della produzione intratecale di anticorpi, in quanto dipende dalla velocità di produzione intratecale degli anticorpi, dalla permeabilità della barriera sanguigna del CSF e dal livello di anticorpi sierici specifici. Pertanto, nei successivi campioni post-terapia, una variazione deve essere considerata significativa solamente se un indice positivo diventa <0,3 oppure se aumenta o diminuisce più di 5 volte. Queste indicazioni vanno intese solamente come linee guida.

10.4.3 Commenti sull’interpretazione dei risultati

Espressione dei risultati

La produzione intratecale di anticorpi è teoricamente presente se ODCSF/ODSIERO >1. Tuttavia, questa assunzione non è valida in assoluto, a causa delle variazioni intra-saggio, specialmente a bassi intervalli di densità ottica. La differenza di densità ottica netta (ODCSF - ODSIERO) dà informazioni più precise; tuttavia, a causa delle variazioni intra-saggio, la differenza minima di densità ottica indicativa della sintesi intratecale di anticorpi aumenta con i valori di densità ottica. Questi problemi sono eliminati moltiplicando il rapporto OD per la differenza OD espressa dall’indice di anticorpo specifico (I). Il limite inferiore dell’indice pari a 0,3 per un risultato positivo assicura che ODCSF sia significativamente maggiore di ODSIERO<sup>6</sup>.

Risultati positivi

Un indice ≥0,3 per le IgG e/o le IgM con concomitante pleocitosi mononucleare nel CSF è fortemente indicativo della neuroborreliosi di Lyme. (Un elevato valore ODCSF non è di per

se stesso indicativo di una produzione intratecale di anticorpi).

Un indice ≥0,3 per le IgM è generalmente compatibile con una durata della malattia inferiore a 6 mesi. La sintesi intratecale delle IgM specifiche è una forte indicazione di neuroborreliosi, tuttavia l’individuazione delle IgM non è determinante. I pazienti con neuroborreliosi attiva di durata superiore a 6 mesi presentano generalmente la sintesi intratecale solamente di IgG specifiche. In questi pazienti viene rilevato un indice ≥0,3 per le IgG.

Risultati negativi

Un risultato negativo, cioè un indice <0,3 per le IgG e per le IgM, con concomitante pleocitosi mononucleare nel CSF, non esclude la diagnosi clinica di neuroborreliosi di Lyme. Questo si applica particolarmente quando il periodo trascorso tra il manifestarsi dei sintomi neurologici e il prelievo dei campioni di siero e di CSF è breve.

Nella maggior parte dei pazienti non trattati con segni clinici definiti di neuroborreliosi, gli anticorpi specifici risultano individuabili nel CSF nella seconda settimana dal manifestarsi dei sintomi neurologici<sup>6</sup>. Nei pazienti con neuroborreliosi precoce per i quali il risultato del test è negativo, un campione raccolto successivamente può spesso dare un risultato positivo, anche dopo l’inizio del trattamento.

Un indice <0,3 per le IgM non esclude sempre la sintesi intratecale delle IgM specifiche. L’individuazione di un valore OD elevato per le IgM (≥1,0) nel CSF che sia pari o anche inferiore al corrispondente valore delle IgM nel siero può essere comunque indicativo di sintesi intratecale di anticorpi se non si può escludere una grave deficienza della barriera di CSF sanguigna<sup>6</sup>.

Campioni post-trattamento

Valutazione di successivi campioni di CSF/siero post-trattamento: in seguito ad una adeguata terapia antibiotica, l’indice specifico per le IgM diminuisce e dopo 6-9 mesi è generalmente <0,3. Un indice elevato per le IgG persiste spesso per anni, nonostante la completa guarigione.

Raramente si riscontra un indice ≥0,3 per le IgG senza concomitante pleocitosi mononucleare nel CSF, eccetto in campioni post-trattamento. Pertanto, questo risultato può indicare un episodio precedente di neuroborreliosi.

11. LIMITAZIONI DI PERFORMANCE

11.1. Una contaminazione sanguigna eccessiva nel campione di CSF può portare a indici di anticorpi specifici falsamente bassi.

11.2. A causa della relazione antigenica tra *B. burgdorferi* e Treponema pallidum, si può manifestare, sebbene raramente, una cross-reattività sierologica in pazienti con una storia recente o passata di neurosifilide. La discriminazione sierologica è possibile utilizzando test treponemici, come il test di emoagglutinazione delle particelle di T pallidum, o test non treponemici, come il test della reagina plasmatica rapida (Rapid Plasma Reagin, [RPR]), il test Venereal Disease Research Laboratory (VDRL). Questi test risultano negativi nei pazienti affetti solamente da infezione da *B. burgdorferi*.

11.3. Una precedente terapia antibiotica può sopprimere la risposta anticorpale, rendendo i risultati sierologici meno predittibili.

11.4. La raccolta di campioni in uno stadio precoce della malattia può portare a risultati negativi (vedi Sezione 10).

11.5. Qualsiasi alterazione dei reagenti o la conservazione non conforme a quanto indicato nella Sezione 4.2 può influire negativamente sul risultato del test.

11.6. I risultati del test devono essere interpretati congiuntamente ad altre informazioni provenienti da studi epidemiologici, alla valutazione clinica del paziente e ad altre procedure diagnostiche.

12. VALORI ATTESI

Un indice di anticorpo specifico ≥0,3 indica la sintesi intratecale di anticorpi specifici.

Nei pazienti con neuroborreliosi, la sintesi intratecale di anticorpi ha generalmente inizio nella seconda settimana dopo la manifestazione di sintomi neurologici. La produzione delle IgG e/o delle IgM specifiche è rilevabile in ≈ 80% dei pazienti con neuroborreliosi definita entro l’inizio della terza settimana e in tutti i pazienti 6-8 settimane dopo la manifestazione di sintomi neurologici<sup>6</sup>.

L’assenza di produzione intratecale di anticorpi o la presenza di anticorpi specifici nel CSF dovuta a trasudazione dal siero o da contaminazione sanguigna del CSF porta a indici anticorpali ≤0.

13. CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE SPECIFICHE

Le coppie di campioni di CSF e di siero da 25 pazienti con neuroborreliosi di Lyme precoce clinicamente definita analizzate con il test IDEIA Lyme Neuroborreliosis hanno dato i seguenti risultati:

| IDEIA Lyme Neuroborreliosis                                           | Numero di pazienti |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Positivi per anticorpi di classe IgG prodotti intratecalmente         | 18                 |
| Negativi per anticorpi di classe IgG prodotti intratecalmente         | 7                  |
| Positivi per anticorpi di classe IgM prodotti intratecalmente         | 12                 |
| Negativi per anticorpi di classe IgM prodotti intratecalmente         | 13                 |
| Positivi per anticorpi di classe IgG e/o IgM prodotti intratecalmente | 19                 |
| Negativi per anticorpi di classe IgG e IgM prodotti intratecalmente   | 6                  |

È stato rilevato un indice anticorpale specifico ≥0,3 per le IgG nel 72% e per le IgM nel 48% dei pazienti con neuroborreliosi di Lyme precoce. Solamente un paziente presentava la sintesi delle IgM specifiche senza concomitante sintesi delle IgG. Tuttavia, alcuni pazienti con bassi indici per le IgG mostravano per le IgM indici ≥0,3. Pertanto, l’evidenza diagnostica viene aumentata analizzando sia la sintesi delle IgG che la sintesi delle IgM specifiche. Il test IDEIA Lyme Neuroborreliosis ha consentito di individuare 19 dei 25 pazienti (76%) con neuroborreliosi di Lyme precoce.

13.1. CROSS-REATTIVITÀ

Un risultato positivo indica sempre la sintesi intratecale di anticorpi anti-*B. burgdorferi*, eccetto quando vengono analizzati campioni di pazienti con neurosifilide. In questi casi, i campioni possono dare risultati falsi positivi. Tuttavia, l’indice di anticorpi *B. burgdorferi*-specifici rimane generalmente basso. Inoltre, è un risultato consistente che gli anticorpi cross-reagenti nel CSF e nel siero appartengono alla classe IgG<sup>3</sup>.

Rimane sconosciuto il motivo per cui l’attivazione intratecale delle cellule B policlionali sia causa di risultati IgM falsi positivi<sup>3</sup>.

14. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Burgdorferi W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. (1982)**  
  
Lyme disease - a tick-borne spirochetosis?  
Science **216**: 1317-9.
- Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorferi W, et al. (1983)**  
  
The spirochetal etiology of Lyme disease.  
N Engl J Med **308**: 733-40.
- Hansen K. (1994)**

Lyme neuroborreliosis: Improvements of the laboratory diagnosis and a survey of epidemiological and clinical features in Denmark 1985 - 1990. Acta Neurol Scand (suppl. 151); **89**: 1-44.

4. Stiernstedt GT, Granström M, Hederstedt B, Sköldenberg B. (1985)

Diagnosis of spirochetal meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunoflourescence assay in serum and cerebrospinal fluid.  
J Clin Microbiol; **21**: 819-25.

5. Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS. (1988)

Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease.  
J Clin Microbiol **26**: 338-46.

6. Hansen K, Lebech A-M. (1991)

Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific immunoglobulin G, A, and M. Ann Neurol; **30**: 197-205.

7. Craft JE, Duncan KF, Shimamoto GT, Steere AC. (1986)

Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness.  
J Clin Invest **78**: 934-9.**Karlsson M, Möllegård I, Stiernstedt G, Henriksson M, Wretling B. (1988)**  
Characterization of antibody response in patients with *Borrelia* meningitis.  
Serodiag Immunother Infect Dis; **2**: 375-86.

8. Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühbeck R, Pfister HW, et al. (1986)

Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphoc meningoradiculitis (Bannwarth’s syndrome). J Infect Dis; **153**: 304-14.

9. Hansen K, Cruz M, Link H. (1990)

Oligoclonal *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in cerebrospinal fluid in Lyme neuroborreliosis.  
J Infect Dis; **161**: 1194-202.

10. Karlsson M. (1990)

Western immunoblot and flagellum enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis.  
J Clin Microbiol **28**: 2148-50.

15. SIMBOLO LEGGENDA

|                                                                                       |                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|    | Numero di catalogo                                 |
|    | Dispositivo medico-diagnostico in vitro            |
|  | Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)           |
|  | Limiti di temperatura (temp. di conservazione)     |
|  | Contiene materiali sufficienti per <N> test        |
|  | Codice del lotto (numero di lotto)                 |
|  | Utilizzare entro (data di scadenza)                |
|  | Tenere lontano dalla luce diretta del sole         |
|  | Aggiungere acqua                                   |
|  | Importatore                                        |
|  | Identificatore univoco del dispositivo             |
|  | Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea |
|  | Valutazione di conformità del Regno Unito          |
|  | Valutazione di conformità per l’Europa             |
|  | Produttore                                         |





Oxid Ltd Wade Road,  
Basingstoke, Hampshire,  
RG24 8PW, Regno Unito

Per assistenza tecnica, rivolgersi al proprio distributore di zona.

| Versione | Data delle modifiche introdotte                 |
|----------|-------------------------------------------------|
| X7840G   | Aprile 2024<br>Aggiornato per conformità a IVDR |



kontroll måste vara minst 0,500. Om dessa värden är mindre än 0,500 kan det ha orsakats av otillräcklig tvättning, otillräcklig skakning under inkubationerna eller låg omgivande temperatur, speciellt under inkubation med substratlösningen.

Om kvalitetskontrollkraven inte uppfylls är testresultaten ogiltiga och analysen skall upprepas.

10.3. PATIENTPROV

Beräkna medel-OD-värdet för varje patients CSF- (ODCSF) och serum- (ODserum) prov för både IgG- och IgM-bestämning. OD-värdena skall inte avvika mer än 15% från medelvärdet. Varje sådant prov skall testas om. Om bägge testmikrobrunnarna visar negativt resultat på grund av en avvikelse på mer än 15% kan detta dock accepteras utan omtestning eftersom låga OD-värden mäts med lägre precision.

Den specifika antikroppsindexformeln ges nedan. Beräkna det specifika antikroppsindexet för IgG (IlgG) respektive IgM (IlgM). Indexberäkningen skall inte utföras om medel-OD-värdet för CSF-bestämningen är mindre än 0,150. Alla sådana testresultat skall rapporteras som negativa.

**OD<sub>CSF</sub>**

Index =

OD<sub>serum</sub>

x (OD<sub>CSF</sub> - OD<sub>serum</sub>)

10.4. TOLKNING AV RESULTAT

10.4.1 Kvalitativ tolkning

Tolka på följande sätt:

Negativ för produktion av intratekala IgG-antikroppar till B. burgdorferi:

I<sub>IgG</sub> <0,3

eller

OD<sub>CSF</sub> <0,150

Positiv för produktion av intratekala IgG-antikroppar till B. burgdorferi:

I<sub>IgG</sub> ≥0,3

Negativ för produktion av intratekala IgM-antikroppar till B. burgdorferi:

I<sub>IgM</sub> <0,3

eller

OD<sub>CSF</sub> <0,150

Positiv för produktion av intratekala IgM-antikroppar till B. burgdorferi:

I<sub>IgM</sub> ≥0,3

10.4.2 Semikvantitativ tolkning

Ju högre det erhållna indexet är, desto mer uttalad är den specifika intratekala antikroppsproduktionen. Indexvärdena kan vara 100 eller ännu större.

Det specifika antikroppsindexet är ett synnerligen sensitivt, semikvantitativt mått på intratekal antikroppsproduktion eftersom det beror på hastigheten av den intratekala antikroppsproduktionen, permeabiliteten hos blod-CSF-barriären och nivån av specifika serumantikroppar. I på varandra följande prov skall således en förändring bara anses signifikant om ett positivt index blir <0,3, eller om det minskar eller ökar mer än 5 gånger efter behandling. Detta är endast riktlinjer.

10.4.3 Kommentarer till tolkning av resultat Resultatuttryck

Intratekal antikroppsproduktion är teoretiskt närvarande om ODCSF/ODSERUM >1. Detta antagande är emellertid inte säkert på grund av intra-analysvariationen, speciellt i det lägre OD-intervallet. Nettoskillnaden mellan OD-värdena (ODCSF-ODSERUM) ger en mer precis information, men på grund av intra-analysvariationen ökar den minsta OD-skillnaden som indikerar intratekal antikroppsproduktion med ökande OD-värden. Dessa nackdelar elimineras genom multiplikation av OD-förhållandet med OD-skillnaden såsom uttrycks av det specifika antikroppsindexet (I). Den undre gränsen för indexvärdet på 0,3 för ett positivt resultat garanterar att ODCSF är signifikant högre än ODSERUM<sup>6</sup>.

Positiva resultat

Ett IgG- och/eller IgM-index ≥0,3 med samtidig mononukleär pleocytos i CSF talar mycket starkt för Lymes neuroborrelios. (Ett högt CSF-OD-värde är i sig självt inte tecken på intratekal antikroppsproduktion).

Ett IgM-index ≥0,3 är oftast kompatibelt med en sjukdomsvaraktighet på mindre än 6 månader. Intratekal syntes av specifik IgM är en stark indikation på neuroborrelios, men det är inte nödvändigt att man hittar IgM. Patienter med aktiv neuroborrelios som varat längre än 6 månader har vanligen intratekal syntes enbart av specifikt IgG och ett IgG-index ≥0,3 kommer att detekteras.

Negativa resultat

Ett negativt resultat, dvs. ett IgG- och IgM-index <0,3, med samtidig mononukleär pleocytos i CSF utesluter inte den kliniska diagnosen Lymes neuroborrelios. Detta gäller särskilt när tiden mellan start av neurologiska symtom och provtagning av serum och CSF är kort.

Hos de flesta obehandlade patienter med definitiva kliniska tecken på neuroborrelios, blir specifika antikroppar i CSF detekterbara under den andra veckan efter början av neurologiska symtom<sup>6</sup>. Hos patienter med tidig neuroborrelios och ett negativt testresultat kan ett senare prov ofta visa sig positivt också efter påbörjad behandling.

Ett IgM-index <0,3 utesluter inte alltid specifik intratekal IgM-syntes. Att hitta ett högt (≥1,0) IgM OD-värde i CSF, som är antingen lika med eller lägre än motsvarande IgM-värde i serum, kan fortfarande vara tecken på intratekal antikroppssyntes om en allvarlig nedsättning av blod-CSF barriären kan uteslutas<sup>6</sup>.

Post-behandlingsprov

Bedömning av på varandra följande post-behandlingsprov av CSF/serum: Efter lämplig antibiotikabehandling minskar ett specifikt IgM-index och efter 6-9 månader är indexet vanligen <0,3. Ett förhöjt IgG-index finns ofta kvar i årtatal trots fullständigt tillfrisknande.

Ett IgG-index ≥0,3 utan samtidig mononukleär pleocytos i CSF är sällsynt utom i post-behandlingsprov. Därför kan ett sådant fynd tyda på en föregående episod av neuroborrelios.

11. PRESTANDABEGRÄNSINGAR

11.1. Alltför hög blodkontamination av CSF-provet kan leda till falskt låga, specifika antikroppsindex.

11.2. På grund av det antigena förhållande mellan *B. burgdorferi* och Treponema pallidum, kan serologiska korsreaktioner, även om de är sällsynta, uppträda hos patienter med en aktuell eller tidigare anamnes på neurosyfilis. Serologisk diskriminering är möjlig med hjälp av treponemala tester såsom T pallidum-hemagglutinationsanalys, eller icke-treponemala tester såsom Rapid Plasma Reagin (RPR) eller Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)-testet. Dessa tester är negativa hos patienter med enbart en *B. burgdorferi*-infektion.

11.3. Tidigare antibiotikabehandling kan upphäva antikroppssvaret och således gör de serologiska fynden mindre predikterbara.

11.4. Insamling av prov tidigt under sjukdomens utveckling kan

leda till negativa testresultat (se Avsnitt 10).

11.5. Testresultaten påverkas negativt om reagenser modifieras eller förvaras under andra förhållanden än de som specificerats i Avsnitt 4.2.

11.6. Testresultat skall tolkas tillsammans med information tillgänglig från epidemiologiska studier, kliniska bedömningar av patienten och andra diagnostiska procedurer.

12. FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Ett specifikt antikroppsindex ≥0,3 tyder alltid på intratekal syntes av specifika antikroppar.

Hos patienter med neuroborrelios, börjar oftast den intratekala antikroppssyntesen under den andra veckan efter debut av de neurologiska symtomen. Specifik IgG- och/eller IgM-produktion är detekterbar hos ≈ 80% av patienter med definitiv neuroborrelios i början av tredje veckan och hos samtliga patienter 6–8 veckor efter början av neurologiska symtom<sup>6</sup>.

Frånvaro av intratekal antikroppsproduktion eller närvaro av specifika antikroppar i CSF på grund av transudation från serum eller blodkontamination av CSF ger antikroppsindex ≤0.

13. SPECIFIKA RESULTATKARAKTERISTIKA

Parade CSF- och serumprov från 25 patienter med kliniskt definierad Lymes neuroborrelios i tidigt skede testades med IDEIA Lyme Neuroborreliosis.

| IDEIA Lyme Neuroborreliosis                                         | Antal patienter |
|---------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Positiva för intratekalt producerade IgG-antikroppar                | 18              |
| Negativa för intratekalt producerade IgG-antikroppar                | 7               |
| Positiva för intratekalt producerade IgM-antikroppar                | 12              |
| Negativa för intratekalt producerade IgM-antikroppar                | 13              |
| Positiva för intratekalt producerade IgG- och/eller IgM-antikroppar | 19              |
| Negativa för intratekalt producerade IgG- och IgM-antikroppar       | 6               |

Ett specifikt antikroppsindex ≥0,3 hittades för IgG i 72% och för IgM i 48% av de 25 patienterna med Lymes neuroborrelios i tidigt skede. Endast en patient hade specifik IgM-syntes utan samtidig IgG-syntes. Vissa patienter med låga IgG-index visade emellertid IgM-index ≥0,3. De diagnostiska bevisen ökar genom att leta efter både specifik IgG- och IgM-syntes. 19 av 25 patienter (76%) med Lymes neuroborrelios i tidigt skede identifierades av IDEIA Lyme Neuroborreliosis.

13.1. KORSREAKTIVITET

Ett positivt resultat indikerar alltid intratekal antikroppssyntes till *B. burgdorferi* utom när prov från patienter med neurosyfilis testas. Prov från dessa patienter kan ge falskt positiva resultat. Det *B. burgdorferi*-specifika antikroppsindexet förblir emellertid oftast lågt. Dessutom gäller genomgående att korsreagerande CSF- liksom också serum-antikroppar tillhör IgG-klassen<sup>3</sup>.

Signifikansen av intratekal, polyklonal B-cellsaktivering, som orsak till "falskt positiva" IgM-resultat, är okänd<sup>3</sup>.

14. REFERENSER

- Burgdorferi W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. (1982)**  
Lyme disease - a tick-borne spirochetosis?  
Science **216**: 1317-9.
- Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorferi W, et al. (1983)**  
  
The spirochetal etiology of Lyme disease.  
N Engl J Med **308**: 733-40.
- Hansen K. (1994)**  
  
Lyme neuroborreliosis: Improvements of the laboratory diagnosis and a survey of epidemiological and clinical features in Denmark 1985 - 1990.  
Acta Neurol Scand (suppl. 151); **89**: 1-44.
- Stiernstedt GT, Granström M, Hederstedt B, Sköldenberg B. (1985)**  
  
Diagnosis of spirochetal meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunoflourescence assay in serum and cerebrospinal fluid.  
J Clin Microbiol; **21**: 819-25.
- Hansen K, Hindersson P, Pedersen NS. (1988)**  
  
Measurement of antibodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease.  
J Clin Microbiol **26**: 338-46.
- Hansen K, Lebech A-M. (1991)**  
  
Lyme neuroborreliosis: a new sensitive diagnostic assay for intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific immunoglobulin G, A, and M.  
Ann Neurol; **30**: 197-205.
- Craft JE, Duncan KF, Shimamoto GT, Steere AC. (1986)**  
  
Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G response late in the illness.  
J Clin Invest **78**: 934-9.
- Karlsson M, Möllegard I, Stiernstedt G, Henriksson M, Wretlingd B. (1988)**  
  
Characterization of antibody response in patients with *Borrelia* meningitis. Serodiagn Immunother Infect Dis; **2**: 375-86.
- Wilske B, Schierz G, Preac-Mursic V, von Busch K, Kühbeck R, Pfister HW, et al. (1986)**  
  
Intrathecal production of specific antibodies against *Borrelia burgdorferi* in patients with lymphotic meningoradiculitis (Bannwarth's syndrome).  
J Infect Dis; **153**: 304-14.
- Hansen K, Cruz M, Link H. (1990)**  
  
Oligoclonal *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in cerebrospinal fluid in Lyme neuroborreliosis.  
J Infect Dis; **161**: 1194-202.
- Karlsson M. (1990)**  
  
Western immunoblot and flagellum enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of Lyme borreliosis.  
J Clin Microbiol **28**: 2148-50.

15. SYMBOLEN LEGEND

|                                                                                     |                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|  | Katalognummer                                      |
|  | Medicinteknisk produkt för in vitrodiagnostik      |
|  | Se bruksanvisningen (IFU)                          |
|  | Temperaturbegränsningar                            |
|  | Innehåller tillräckligt för <N> test               |
|  | Håll borta från solljus                            |
|  | Tillsätt vatten                                    |
|  | Partikod                                           |
|  | Bäst före (utgångsdatum)                           |
|  | Importör                                           |
|  | Unik enhetsidentifierare                           |
|  | Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen |

|                                                                                     |                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
|    | Bedömning av överensstämmelse, Storbritannien |
|   | Bedömning av överensstämmelse, Storbritannien |
|  | Tillverkare                                   |



För alla frågor kontakta din lokala distributör.

|                                                                                     |                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
|  | Oxoid Limited, Wade Road, Hampshire Basingstoke, RG24 8PW, UK |
|                                                                                     | +44 (0) 1256 841144 thermofisher.com                          |

| Version | Date of modifications introduced                       |
|---------|--------------------------------------------------------|
| X7840G  | April 2024<br>Uppdaterad för överensstämmelse med IVDR |