

**DE**

Anti-B. burgdorferi IgM

REF**3Z9651M
SM3Z9651M****IVD****Rx Only**

VERWENDUNGSZWECK

Das Anti-B. burgdorferi IgM ist ein ELISA-basiertes Testsystem für den qualitativen Nachweis von IgM-Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* in Humanserum. Dieses Testsystem ist für die Untersuchung von Serumproben symptomatischer Patienten bzw. solcher mit Verdacht auf Lyme-Krankheit vorgesehen.

Positive und fragwürdige Testergebnisse mit dem Anti-B. burgdorferi IgM auf Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi* müssen durch weitere Tests mit einem der folgenden Ansätze bestätigt werden:

- (1) Standardmäßige zweistufige Testmethode (standard two-tier test, STTT) mit dem Western-Blot-Test auf IgM gemäß aktuellen Leitlinien
oder
- (2) Modifizierte zweistufige Testmethode (modified two-tier test, MTTT) mit dem Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM

Positive Testergebnisse mit der STTT- oder der MTTT- Methode sind Belege für die Anwesenheit von Antikörpern und den Kontakt mit *Borrelia burgdorferi*, welches die Lyme-Krankheit verursacht. Die Diagnose von Lyme-Krankheit sollte auf Grundlage von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi*, Vorgeschichte, Symptomen und sonstigen Labordaten gestellt werden.

BEDEUTUNG UND HINTERGRUND

Borrelia burgdorferi ist eine Spirochäte, die Lyme-Krankheit verursacht. Der Organismus wird durch Zecken der Gattung *Ixodes* übertragen. In endemischen Gebieten sind Zecken auf Pflanzen oder Tieren, wie Rotwild, Mäusen, Hunden, Pferden und Vögeln zu finden. Infektionen mit *Borrelia burgdorferi* und andere Spirochäteninfektionen (Erkrankungen durch drei Gattungen beim Menschen: *Treponema*, *Borrelia* und *Leptospira*) haben gemeinsame Merkmale. Die Haut ist der Eintrittsort für *B. burgdorferi* und der Zeckenbiss verursacht oftmals einen charakteristischen Hautausschlag, der *Erythema migrans* (EM) genannt wird. EM entwickelt sich um die Zeckenbissstelle bei 60 % bis 80 % der Patienten. Eine Spirochätämie mit weitreichender Dissemination durch Gewebe und Körperflüssigkeiten erfolgt im frühen Krankheitsstadium.

Die Lyme-Krankheit tritt in Stadien auf, oftmals mit dazwischenliegenden Latenzperioden und mit unterschiedlichen klinischen Manifestationen. Die Lyme-Krankheit besteht im Allgemeinen aus drei Krankheitsstadien, deren Symptome sich oftmals überlappen. Die Symptome variieren je nach betroffenem Körperbereich der Infektion, wie Gelenke, Haut, Zentralnervensystem, Herz, Augen, Knochen, Milz und Nieren. Das späte Krankheitsstadium ist oft mit Arthritis oder ZNS-Symptomen verbunden. Asymptomatische subklinische Infektionen sind möglich, und die Infektion wird unter Umständen erst in den späteren Stadien klinisch manifest.

Patienten im Frühstadium der Infektion produzieren IgM-Antikörper in den ersten Wochen nach Auftreten des EM, und IgG-Antikörper werden langsamer gebildet (1). Sowohl IgG- als auch IgM-Antikörper können über viele Jahre nachweisbar bleiben.

Die Isolierung von *B. burgdorferi* aus Hautbiopsieproben, Blut und Spinalflüssigkeit wurde in Veröffentlichungen berichtet (2). Diese direkten Kulturnachweismethoden können jedoch zur Diagnose der Lyme-Krankheit im größeren Rahmen unpraktisch sein. Serologische Testmethoden zum Nachweis von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* umfassen den indirekten Immunfluoreszenz-Assay (IFA), den Immunblot und den Enzymimmunoassay (EIA).

B. burgdorferi ist eine antigenetisch komplexe Spezies mit Stämmen, die sich stark unterscheiden. Frühe Antikörperreaktionen sind oftmals gegen das Flagellum gerichtet, das kreuzreaktive Bestandteile besitzt. Patienten im frühen Infektionsstadium produzieren unter Umständen keine nachweisbaren Konzentrationen von Antikörpern. Außerdem kann eine frühzeitige Antibiotikumtherapie nach EM-Ausbruch eine gute Antikörperreaktion abschwächen oder aufheben. Einige Patienten produzieren unter Umständen niemals nachweisbare Antikörperkonzentrationen. Erfahrungsgemäß ist die Empfindlichkeit und Spezifität serologischer Tests auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* gering und aufgrund dieser Ungenauigkeit kann die Diagnose Lyme-Krankheit nicht alleine auf der Basis dieser Tests gestellt werden (3, 4).

Im Jahr 1994 empfahl die Second National Conference on Serological diagnosis of Lyme disease ein zweistufiges Testsystem zum Zweck der Standardisierung von serologischen Labortests für den Nachweis von *B. burgdorferi*. Weil die EIA- und IFA-Methode für die Erhärtung der klinischen Diagnose zu unspezifisch sind, wurde empfohlen, positive oder fragwürdige Ergebnisse eines sensitiven EIA oder IFA (erster

Schritt) zusätzlich mit einer standardisierten Western-Blot-Methode (zweiter Schritt) auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* zu testen (Western-Blot-Tests auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* sind nicht als Bestätigung, sondern als Ergänzung anzusehen, weil ihre Spezifität suboptimal ist, insbesondere zum Nachweis von IgM). Positive zweistufige Ergebnisse sprechen für einen erfolgten Kontakt mit *B. burgdorferi*, der die klinische Diagnose von Lyme-Krankheit erhärten könnte, aber nicht als einziges Kriterium für die Diagnose herangezogen werden sollte. Dieses Szenario wird gewöhnlich als standardmäßiges Protokoll für ein zweistufiges Verfahren (standard two-tier testing, STTT) bezeichnet. Jüngste Studien (17, 18, 19) haben gezeigt, dass die Verwendung eines zweiten ELISA-Tests statt eines Immunblots zum Nachweis für *Borrelia* ein modifiziertes Protokoll für ein zweistufiges Verfahren (modified two-tier testing, MTTT) ergeben kann, dessen Leistungsfähigkeit mit der STTT-Methode vergleichbar ist.

PRINZIP DES TESTS

Das Anti-*B. burgdorferi* IgM ist für den Nachweis von Antikörpern der Klasse IgM gegen *B. burgdorferi* im Humanserum konzipiert. Die Probenfelder der Kunststoff-Streifen werden durch passive Adsorption mit *Borrelia burgdorferi* als Ganzzellantigen sensitisiert. Das Testverfahren umfasst drei Inkubationsschritte:

- Die Testseren werden mit dem Probenverdünner verdünnt und dann mit der bereitgestellten Absorbens kombiniert. Die Absorbens enthält anti-humanes IgG, das ausfällt und IgG und den Rheumatoidefaktor aus der Probe entfernt, sodass IgM frei wird und mit dem immobilisierten Antigen reagiert. Bei der Probeninkubation binden sich die Antigen-spezifischen IgM-Antikörper in der Probe an das immobilisierte Antigen. Die Platte wird gewaschen, um ungebundene Antikörper und andere Serumkomponenten zu entfernen.
- Peroxidase-konjugiertes anti-humanes IgM (μ Ziege, kettenspezifisch) wird in die Felder gegeben und die Platte wird inkubiert. Das Konjugat reagiert mit dem IgM-Antikörper, der auf der soliden Phase in Schritt 1 immobilisiert wurde. Die Felder werden gewaschen, um nicht gebundenes Konjugat zu entfernen.
- Die Probenfelder mit dem immobilisierten Peroxidase-Konjugat werden mit Peroxidase-Substratlösung inkubiert. Die Hydrolyse des Substrats durch Peroxidase bewirkt eine Farbänderung. Nach einer bestimmten Zeit wird die Reaktion gestoppt und die Farbintensität der Lösung fotometrisch gemessen. Die Farbintensität der Lösung hängt von der Antikörperkonzentration in der ursprünglichen Testprobe ab.

KOMPONENTEN DES TESTSYSTEMS

Materialien, die im Lieferumfang enthalten sind:

Jedes Testsystem enthält die folgenden Komponenten in ausreichenden Mengen, um die auf der Verpackung angegebene Anzahl von Tests durchzuführen. **HINWEIS:** Folgende Komponenten enthalten <0,1 % (Gramm-Vol.-%) Natriumazid als Konservierungsmittel: Kontrollflüssigkeiten, Kalibrierer, Absorbens und Probenverdünner.

Komponente	Menge	Beschreibung
		
PLATE	1	Platte: Für 96 Bestimmungen vorgesehen. (12x1x8 Probenfelder); Streifen, die mit inaktiviertem <i>B. burgdorferi</i> (B31-Stamm)-Antigen beschichtet sind. Die Streifen sind in einem Streifenhalter verpackt und befinden sich in einem versiegelten Umschlag mit Trockenmittel.
CONJ	1	Konjugat: Konjugiertes (Meerrettich-Peroxidase) anti-humanes IgM (Ziege). 15-ml-Fläschchen mit weißem Deckel. Gebrauchsfertig.
CTRL +	1	Positiv-Kontrollflüssigkeit (Humanserum): 0,35-ml-Flasche mit rotem Deckel. 21X Konzentrat.
CAL	1	Kalibrierer (Humanserum): 0,5-ml-Flasche mit blauem Deckel. 21X Konzentrat.
CTRL -	1	Negativ-Kontrollflüssigkeit (Humanserum): 0,35-ml-Flasche mit grünem Deckel. 21X Konzentrat.
SOLN ABS	1	Absorbens: 15-ml-Flasche mit anti-humanem IgG (γ -kettenspezifisch) und phosphatgepufferter Kochsalzlösung. Gebrauchsfertig.
DIL SPE	1	Probenverdünner: 30-ml-Flasche (grüner Deckel) mit Tween-20-Lösung, bovinem Serumalbumin und Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung. Grüne Lösung. Gebrauchsfertig.

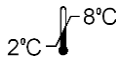
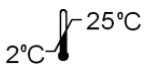
SOLN TMB	1	TMB: 15-ml-Flasche (oranger Deckel) mit 3,3',5,5'- Tetramethylbenzidin (TMB). Gebrauchsfertig.
SOLN STOP	1	Stopplösung: 15-ml-Flasche (roter Deckel) mit 1M H ₂ SO ₄ , 0,7M HCl. Gebrauchsfertig.
WASH 10X	1	Waschpufferkonzentrat (10X): 1 Teil Konzentrat mit 9 Teilen deionisiertem oder destilliertem Wasser verdünnen. 100-ml-Flasche (durchsichtiger Deckel) mit einer 10fach-konzentrierten Phosphat-gepufferten Kochsalzlösung und Tween-20-Lösung (blaue Lösung). HINWEIS: Die 1X-Lösung hat einen pH-Wert von 7,2 ± 0,2.

HINWEIS: Die folgenden Komponenten sind nicht Testsystem-Chargennummer-abhängig und können bei jedem ZEUS-ELISA-Test eingesetzt werden: TMB, Absorbens, Stopplösung und Waschpuffer..

BENÖTIGTE ABER NICHT GELIEFERTE MATERIALIEN

1. ELISA-Probenfeldleser mit Lesefähigkeit für eine Wellenlänge von 450 nm. **HINWEIS: Die Verwendung eines einzelnen (450 nm) oder dualen (450/620 – 650nm) Wellenlängenlesers ist zulässig. Zwei Wellenlängen werden bevorzugt, da der zusätzliche Referenzfilter potenzielle Interferenzen aufgrund von anomaler Lichtabsorption verringert.**
2. Pipetten mit Fähigkeit zu präziser Abgabe von 10 µl bis 200 µl
3. Multikanal-Pipette mit Fähigkeit zu präziser Abgabe von 50 µl bis 200 µl
4. Reagenzreservoirs für Multikanal-Pipetten
5. Waschflasche oder Probenfeld-Waschsystem
6. Destilliertes oder deionisiertes Wasser
7. Messzylinder, 1 Liter
8. Serologische Pipetten
9. Einweg-Pipettenspitzen
10. Papierhandtücher
11. Labor-Stoppuhr zur Überwachung der Inkubationsschritte
12. Entsorgungsbassin und Desinfizierer (d. h. 10 % Haushaltsbleichmittel, 0,5 % Natriumhypochlorit)

AUFBEWAHRUNG

	Beschichtete Probenfelderstreifen: Nicht verwendete Streifen sofort wieder mit Trockenmittel versiegeln und korrekt lagern. Nach Öffnen des Umschlags – Streifen sind bis 60 Tage lang stabil, wenn der Indikatorstreifen auf dem Trockenmittelbeutel blau bleibt.
	Konjugat – NICHT EINFRIEREN.
	Ungeöffnetes Testsystem, Kalibrierer, Positiv-Kontrollflüssigkeit, Negativ-Kontrollflüssigkeit, TMB, Probenverdünner, Absorbens
	Stopplösung: 2°C bis 25 °C Waschpuffer (1X): 20 °C bis 25°C bis zu 7 Tage, 2 °C bis 8°C 30 Tage lang. Waschpuffer (10X): 2 °C bis 25°C

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Nur zum Gebrauch in *In-Vitro*-Diagnosen.
2. Bei der Handhabung von Laborreagenzien normale Vorsichtsmaßnahmen einhalten. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Dämpfe nicht einatmen. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen und nationalen Gesetze befolgen.
3. Die Felder auf der ELISA-Platte enthalten keine lebensfähigen Organismen. Dennoch sollten die Streifen als **potenzielle biologische Gefahrenstoffe** eingestuft und entsprechend behandelt werden.
4. Die Kontrollflüssigkeiten sind **potenziell biologische Gefahrenstoffe**. Die Quellenmaterialien dieser Produkte wurden mit anerkannten Testmethoden negativ auf HIV-1-Antigen, HBsAg und auf Antikörper gegen HCV und HIV getestet. Keine Testmethode kann jedoch eine komplette Gewähr dafür liefern, dass keine infektiösen Agenten vorhanden sind. Deshalb sind diese Produkte gemäß Biosicherheitsstufe 2 zu behandeln, wie für alle potenziell infektiösen humanen Serum- oder Blutproben in der aktuellen Ausgabe des Handbuchs „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ der Centers for Disease Control/National Institutes of Health und „Standard for Bloodborne Pathogens“ von OSHA empfohlen (16).

5. Einhalten der angegebenen Inkubationszeit und Temperatur ist entscheidend für richtige Ergebnisse. **Alle Reagenzien müssen vor dem Test Zimmertemperatur (20 °C bis 25 °C) annehmen.** Nicht verbrauchte Reagenzien sofort nach Gebrauch wieder auf Kühlschranktemperatur bringen.
6. Falsches Waschen kann falsche positive bzw. negative Resultate erzeugen. Sicherstellen, dass Waschmittelreste auf ein Minimum reduziert werden (z. B. durch Trocknen mit Papier oder Aspiration), bevor Konjugat oder Substrat zugefügt wird. Die Felder zwischen Inkubationen nicht austrocknen lassen.
7. Probenverdünnungsmittel, Kontrollflüssigkeiten, Kalibrierer und Absorbens enthalten <0,1 % (Gramm-Vol.-%) Natriumazid. Natriumazid bildet Blei- und Kupferazide in Laborabflussrohren, die bei Rohrleitungsschlägen Explosionen verursachen können. Um diese zu verhindern, Waschbecken nach dem Ausgießen von Natriumazid-haltigen Lösungen gründlich ausspülen.
8. Die Stopplösung ist bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken GIFTIG. Sie kann Verbrennungen verursachen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort ärztlichen Rat einholen.
9. Die TMB-Lösung ist SCHÄDLICH. Sie ist ein Reizmittel für Augen, Atmungssystem und Haut.
10. Das Waschpufferkonzentrat ist ein REIZMITTEL. Es ist ein Reizmittel für Augen, Atmungssystem und Haut.
11. Die Unterseite der Platte von Flüssigkeitsrückständen und/oder Fingerabdrücken, die die optische Dichteablesung stören könnten, sauber wischen.
12. Verdünnung oder Verpanschung dieser Reagenzien kann falsche Ergebnisse erzeugen.
13. Keine Reagenzien aus anderen Quellen oder von anderen Herstellern verwenden.
14. Die TMB-Lösung muss bei der Anwendung farblos, sehr hellgelb, sehr hellgrün oder sehr hellblau sein. Eine Kontamination der TMB-Lösung mit Konjugat oder anderen Oxidanzien führt zu einer vorzeitigen Farbänderung der Lösung. Die TMB-Lösung nicht verwenden, wenn sie merklich blau ist.
15. Niemals mit dem Mund pipettieren. Kontakt von Reagenzien und Patientenproben mit der Haut oder Schleimhäuten vermeiden.
16. Mikrobielle Kontamination von Reagenzien vermeiden. Falsche Ergebnisse sind möglich.
17. Querkontamination von Reagenzien und/oder Proben kann fehlerhafte Ergebnisse erzeugen.
18. Wiederverwendbare Glasbehälter müssen gewaschen und gründlich von allen Detergenzien freigespült werden.
19. Spritzen oder Erzeugung von Aerosolen vermeiden.
20. Reagenzien in der Aufbewahrung oder bei der Inkubation nicht starkem Licht aussetzen.
21. Die Probenfelderstreifen und den Halter vor dem Öffnen auf Zimmertemperatur kommen lassen. Der Schutzumschlag schützt die Felder vor Kondensation.
22. Die Waschlösung in einem Entsorgungsbassin sammeln. Die verbrauchte Lösung mit einem Desinfizierer (d. h. 10-prozentiger Haushaltsbleiche – 0,5 % Natriumhydrochlorit) behandeln. Reagenzien keinen Bleichdämpfen aussetzen.
23. Vorsicht: Flüssigkeitsabfälle mit saurem pH-Wert vor Zufügen in die Bleichlösung neutralisieren.
24. Die ELISA-Platte nicht verwenden, wenn der Indikatorstreifen auf dem Trockenmittelbeutel nicht blau, sondern rosa ist.
25. Konjugat nicht mit Behältern oder Instrumenten in Kontakt kommen lassen, die vorher eine Lösung mit Natriumazid als Konservierungsmittel enthalten haben könnten. Rückstände von Natriumazid können die Enzymaktivität des Konjugats unterbinden.
26. Die reaktiven Reagenzien nicht Lösungen mit Bleichmittel oder starken Gerüchen von Lösungen mit Bleichmittel aussetzen. Spuren von Bleichmittel (Natriumhypochlorit) können die biologische Aktivität vieler reaktiver Reagenzien in diesem Testsystem unterbinden.

PROBENAHRME

1. Es wird von ZEUS Scientific empfohlen, dass die Probenahme vom Benutzer in Übereinstimmung mit CLSI-Dokument M29: Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Aktuelle Ausgabe) erfolgt.
2. Keine Testmethode kann eine komplette Gewähr dafür liefern, dass humane Blutproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate als potenziell infektiös behandelt werden.
3. Für diesen Test nur frisch entnommene und richtig gekühlte Seren verwenden, die mit zugelassenen aseptischen Venenpunkturnverfahren gewonnen wurden. Nicht verwenden, wenn Antikoagulanzen oder Konservierungsmittel zugefügt sind. Hämolytierte, lipemische oder bakteriell kontaminierte Seren vermeiden.
Proben nicht länger als 8 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahren. Erfolgt der Test nicht innerhalb von 8 Stunden, können Seren zwischen 2 °C bis 8 °C bis zu 10 Tage. Wird eine Testverzögerung vorausgesehen, Testseren bei –20 °C oder darunter aufbewahren. Nicht mehrmals einfrieren/auftauen, weil dies zu einem Verlust der Antikörperaktivität und damit fehlerhaften Resultaten führen könnte. Es ist die Verantwortung der einzelnen Labors, alle verfügbare Literatur und/oder eigenen Studien zur Bestimmung der Stabilitätskriterien für das eigene Labor zu verwenden (16).

ASSAY-VERFAHREN

1. Die verschiedenen Komponenten aus der Aufbewahrung holen und auf Zimmertemperatur (20 °C bis 25 °C) erwärmen lassen.
2. Die benötigte Anzahl Probenfelder feststellen. Sechs Kontrollflüssigkeit/Kalibrierer-Festlegungen pro Test (eine Leerwertprobe, eine Negativ-Kontrollflüssigkeit, drei Kalibrierer und eine Positiv-Kontrollflüssigkeit) einplanen. Bei jedem Test eine Leerwertprobe testen.

Software- und Leseranforderungen für die korrekte Kontrollflüssigkeit-/Kalibrierer-Konfiguration prüfen. Nicht verwendete Streifen in den wiederverschließbaren Beutel mit Trockenmittel legen, versiegeln und wieder zwischen 2 °C und 8 °C lagern.

BEISPIEL PLATTENEINSTELLUNG		
	1	2
A	Leerwertprobe	Patient 3
B	Negativ-Kontrollflüssigkeit	Patient 4
C	Kalibrierer	usw.
D	Kalibrierer	
E	Kalibrierer	
F	Positiv-Kontrollflüssigkeit	
G	Patient 1	
H	Patient 2	

3. Eine Verdünnung von 1:21 (z. B. 10 µl Serum + 200 µl Probenverdünner) von Negativ-Kontrollflüssigkeit, Kalibrierer, Positiv-Kontrollflüssigkeit und dem Patientenserum herstellen. Sicherstellen, dass Proben gut durchmischt werden. Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.
4. 100 µl Absorbens in die entsprechenden Probenfelder einer leeren Verdünnungsplatte geben. Mit einer Mehrkanalpipette 50 µl jeder Verdünnung der Patientenproben und Kontrollseren zur Verdünnungsplatte mit dem Absorbens übertragen. Proben mehrmals aspirieren und wiederausstoßen, um sie gründlich zu mischen.
5. In die einzelnen Felder 100 µl der verdünnten Kontrollflüssigkeiten, Kalibrierer und Proben von der Absorptionsplatte zur Testplatte geben. Sicherstellen, dass Proben gut durchmischt werden. Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.
6. 100 µl Probenverdünner als Leerwertprobe in Feld A1 geben. Software- und Leseranforderungen für die korrekte Felderkonfiguration für die Leerwertprobe prüfen.
7. Platte bei Zimmertemperatur (20 °C bis 25 °C) 25 ± 5 Minuten lang inkubieren.
8. Die Probenfelderstreifen 5-mal waschen.
 - a. **Waschen von Hand:**
 1. Die Flüssigkeit kräftig aus den Feldern herausschütteln.
 2. Jedes Probenfeld mit Waschpuffer füllen. Sicherstellen, dass die Felder keine Luftbläschen enthalten.
 3. Schritte 1 und 2 für insgesamt 5 Wäschen wiederholen.
 4. Die Waschlösung aus den Feldern herausschütteln. Die Platte auf ein Papierhandtuch legen und kräftig klopfen, um alle Waschlösungsreste aus den Feldern zu entfernen. Die Platte visuell auf evtl. verbleibende Waschlösung untersuchen. Waschlösung in einem Einweg-Bassin sammeln und am Ende der täglichen Tests mit Desinfizierer behandeln.
 - b. **Automatisches Waschen:**
Bei Verwendung einer automatischen Probenfeld-Waschvorrichtung das Abgabevolumen auf 300 µl bis 350 µl pro Feld einstellen. Den Waschzyklus auf 5 Wäschen ohne Pause zwischen den Wäschen stellen. Falls nötig, die Probenfeldplatte aus dem Wäscher entnehmen, auf ein Papierhandtuch legen und kräftig klopfen, um alle Waschlösungsreste aus den Feldern zu entfernen.
9. 100 µl Konjugat mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei den Proben in jedes Feld geben, einschließlich in das Feld mit Leerwertprobe.
10. Platte bei Zimmertemperatur (20 °C bis 25 °C) 25 ± 5 Minuten lang inkubieren.
11. Probenfelder gemäß Verfahren wie in Schritt 8 beschrieben waschen.
12. 100 µl TMB mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei den Proben in jedes Feld geben, einschließlich in das Feld mit Leerwertprobe.
13. Platte bei Zimmertemperatur (20 °C bis 25 °C) 10 bis 15 Minuten lang inkubieren.
14. Reaktion durch Zufügen von 50 µl Stopplösung mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei TMB in jedes Feld stoppen, einschließlich in dem Feld mit Leerwertprobe. Bei positiven Proben verändert sich die Farbe von blau zu gelb. Nach Zufügen der Stopplösung mehrmals an die Platte klopfen, um sicherzustellen, dass sich die Proben gut durchmischen.
15. Den Probenfeldleser auf eine Wellenlänge von 450 nm stellen und die optische Dichte jedes Felds gegen die Leerwertprobe messen. Die Platte innerhalb von 30 Minuten nach Zufügen der Stopplösung lesen.

TESTVERFAHREN IN KURZFORM

1. Serum 1:21 verdünnen.
2. 50 µl verdünntes Serum mit 100 µl Absorbens kombinieren.
3. Verdünntes Serum in Probenfelder geben – 100 µl/Feld.
4. $\longrightarrow$ 25 ± 5 Minuten inkubieren.
5. Waschen.
6. Konjugat zugeben – 100 µl/Feld.
7. $\longrightarrow$ 25 ± 5 Minuten inkubieren.
8. Waschen.
9. TMB zugeben – 100 µl/Feld.
10. $\longrightarrow$ 10 bis 15 Minuten inkubieren.
11. Stopplösung zugeben – 50 µl/Feld – Mischen.
12. Innerhalb von 30 Minuten ABLESEN.

QUALITÄTSSICHERUNG

1. Bei jedem Testverfahren muss der Kalibrierer dreifach angewendet werden. Eine Leerwertprobe, eine Negativ-Kontrollflüssigkeit und eine Positiv-Kontrollflüssigkeit müssen ebenfalls einbezogen werden.
2. Den Mittelwert der drei Kalibriererfelder berechnen. Weicht einer dieser drei Werte um mehr als 15 % vom Mittelwert ab, diesen Wert verwerfen und den Mittelwert der anderen beiden Felder berechnen.
3. Der Mittelwert der optischen Dichte für den Kalibrierer, für die Positiv- und Negativ-Kontrollflüssigkeiten muss in den folgenden Bereichen liegen:

	Bereich der optischen Dichte
Negativ-Kontrollflüssigkeit	≤0,250
Kalibrierer	≥0,300
Positiv-Kontrollflüssigkeit	≥0,500

- a. Die optische Dichte der Negativ-Kontrollflüssigkeit dividiert durch die mittlere optische Dichte des Kalibrierers muss ≤0,9 ergeben.
- b. Die optische Dichte der Positiv-Kontrollflüssigkeit dividiert durch die mittlere optische Dichte des Kalibrierers muss ≥1,25 ergeben.
- c. Werden diese Bedingungen nicht eingehalten, muss der Test als ungültig gelten und wiederholt werden.
4. Die Positiv-Kontrollflüssigkeit und Negativ-Kontrollflüssigkeit dienen nur zur Überwachung eines erheblichen Reagenzversagens und garantieren keine Präzision am Test-Grenzwert.
5. Zusätzliche Kontrollflüssigkeiten können in Übereinstimmung mit Richtlinien oder Vorschriften von örtlichen oder staatlichen Stellen oder anerkannten Organisationen verwendet werden.
6. Siehe CLSI-Dokument C24: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures for guidance on appropriate QC practices.

INTERPRETATION DER RESULTATE

1. Berechnungen:

- a. **Korrekturfaktor:** Ein Grenzwert für den Wert der optischen Dichte von positiven Proben wurde vom Hersteller festgelegt und mit dem Kalibrierer korreliert. Der Korrekturfaktor ermöglicht die Festlegung des Grenzwerts für positive Proben. Er berücksichtigt auch leichte Abweichungen der Testresultate von Tag zu Tag. Der Korrekturfaktor wird für jede Charge von Komponenten festgelegt und ist auf das Datenetikett in der Testsystem-Box aufgedruckt.
- b. **Grenzwert der optischen Dichte:** Um den Grenzwert der optischen Dichte zu erhalten, den Korrekturfaktor mit dem oben berechneten mittleren Wert der optischen Dichte des Kalibrierers multiplizieren ($\text{Korrekturfaktor} \times \text{Mittelwert optische Dichte Kalibrierer} = \text{Grenzwert optische Dichte}$).
- c. **Index-Werte/Raten der optischen Dichte:** Index-Wert/Rate der optischen Dichte für jede Probe durch Teilung des Werts der optischen Dichte durch den Grenzwert der optische Dichte aus Schritt b berechnen.

Beispiel Mittelwert der optischen = 0,793
I: Dichte Kalibrierer

Korrekturfaktor	= 0,25
Grenzwert der optischen Dichte	= $0,793 \times 0,25 = 0,198$
Unbekannte optische Dichte der Proben	= 0,432
Indexwert/Rate der optischen Dichte der Probe	= $0,432/0,198 = 2,18$

2. **Interpretationen:** Indexwerte/Raten der optischen Dichte werden wie folgt interpretiert.

	Indexwert/Rate der optischen Dichte
Negative Proben	$\leq 0,90$
Fragwürdige Proben	$0,91 - 1,09$
Positive Proben	$\geq 1,10$

- Negativ:** Kein nachweisbarer IgM-Antikörper; Ergebnis schließt Infektion mit *B. burgdorferi* nicht aus. Bei Verdacht auf eine Infektion im Frühstadium sollte innerhalb von vier bis sechs Wochen eine weitere Probe getestet werden (8).
- Fragwürdig:** Gegenwärtigen Empfehlungen zufolge sollte bei fragwürdigen Ergebnissen zusätzlich ein Westernblot-Test durchgeführt werden. Westernblot-Tests auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* sind nicht als Bestätigung, sondern als Ergänzung anzusehen, da ihre Spezifität, insbesondere zum Nachweis von IgM, suboptimal ist. Dieses fragwürdige Ergebnis ist zusammen mit dem Ergebnis des Westernblot-Tests auszugeben. Die Ergebnisse sollten erst nach der Durchführung des Zusatztests ausgegeben werden.
- Positiv:** IgM-Antikörper gegen *B. burgdorferi* präsumptiv nachgewiesen. Gegenwärtigen Empfehlungen zufolge kann dieses Ergebnis ohne zusätzlichen Westernblot-Test nicht weiter interpretiert werden. Westernblot-Tests auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* sind nicht als Bestätigung, sondern als Ergänzung anzusehen, da ihre Spezifität, insbesondere zum Nachweis von IgM, suboptimal ist. Die Ergebnisse erst nach Durchführung des Zusatztests ausgeben.

3. **MTTT (2-EIA) Nutzung und Interpretation beim Nachweis von IgM-Antikörpern**

Dieses Gerät kann außer zur Nutzung als Immunassay für die Erstmessung beim standardisierten zweistufigen Verfahren (standard two-tier testing, STTT) für die Zweitmessung im Rahmen des 2-EIA-Protokolls bzw. des modifizierten zweistufigen Verfahrens (modified two-tier testing, MTTT) wie folgt verwendet werden.

- Die Proben müssen zuerst mit dem Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM getestet werden.
- Alle positiven und fragwürdigen Proben müssen anschließend mit diesem Anti-B. burgdorferi IgM getestet werden.
- Positive und fragwürdige Ergebnisse der zweiten EIA-Testung sollten dann als positiv ausgegeben und als Beweis für die Anwesenheit von IgM-Antikörpern und erfolgtem Kontakt mit *B. burgdorferi* angesehen werden.

GRENZEN DES VERFAHRENS

- Die MTTT-Studie wurde mit dem Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM als Verfahren der ersten Stufe und dem Anti-B. burgdorferi IgM als Verfahren der zweiten Stufe durchgeführt, wobei die Tests in dieser Reihenfolge durchgeführt wurden. Die Leistungsmerkmale des Geräts sind für einen Wechsel der Testreihenfolge oder für die Substitution mit anderen EIA-Tests im MTTT (2-EIA)-Verfahren wurden noch nicht ermittelt.
- Seren von Patienten mit anderen Spirochätenkrankheiten (Syphilis, Frambösie, Pinta, Leptospirose und Rückfallfieber) und infektiöser Mononukleose können falsch-positive Ergebnisse liefern (9,10). Bei Fällen von falsch-positiven Ergebnissen sollten eingehende klinisch-epidemiologische Untersuchungen und Labortests durchgeführt werden, um die genaue Diagnose zu ermitteln. Falsch-positive Seren von Syphilis-Patienten können anhand eines RPR-Tests und Tests auf Treponema-Antikörper identifiziert werden (11). Seren, die tatsächlich positiv für *B. burgdorferi* sind, fallen bei diesen Tests negativ aus.
- Falsch-negative Ergebnisse können erzielt werden, wenn Serumproben zu frühzeitig nach dem Krankheitsbeginn entnommen werden und die Antikörper noch keine bedeutenden Konzentrationen erreicht haben (12). Außerdem kann die Antikörperantwort auf die Spirochäte durch eine frühzeitige Antibiotikumtherapie abgebrochen werden (13).
- Alle Daten sollten unter Berücksichtigung der klinischen Krankheitssymptome, epidemiologischer Daten, der Exposition in endemischen Gebieten und den Ergebnissen anderer Labortests interpretiert werden.
- Der Rheumafaktor kann falsch-positive Ergebnisse verursachen.
- Screeningtests nicht an der allgemeinen Bevölkerung durchführen. Der positive Vorhersagewert hängt von der Wahrscheinlichkeit für eine Infektion ab. Den Test nur durchführen, wenn klinische Symptome vorhanden sind oder Verdacht auf einen Kontakt besteht.
- Die Leistungsmerkmale des Anti-B. burgdorferi IgM bei Personen, die mit *B. burgdorferi*-Antigenen geimpft worden sind, wurden noch nicht ermittelt.

ERWARTETE ERGEBNISSE

Nur 10 % bis 40 % der Patienten mit EM als einzigem Symptom haben nachweisbare Konzentrationen von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* (3, 12 und 14). Die IgM-Antikörperantwort erreicht normalerweise drei bis sechs Wochen nach der Infektion ihren Höhepunkt und ist während der ersten beiden Infektionswochen oftmals nicht nachweisbar. Die IgG-Antikörperantwort ist oftmals erst nach vier bis sechs Wochen nach der Infektion nachweisbar. Ein vollständigeres serologisches Bild kann durch die Untersuchung von Akut- und Rekonvaleszentseren erstellt werden. Die meisten Patienten (94 % bis 97%) mit neurologischen Komplikationen und praktisch alle Patienten mit Arthritis haben erhöhte IgG-Titer gegen die Spirochäte (14, 15). In späteren Stadien kann ein positiver Antikörpertest zur Unterscheidung zwischen Borreliose und Virus-Meningitis oder unerklärten Nervenlähmungen herangezogen werden. Ein positiver Antikörpertest kann zur Unterscheidung zwischen Lyme-Arthritis und rheumatoider Arthritis, juveniler Arthritis und Reiter-Syndrom besonders hilfreich sein (13). Bei Patienten ohne Zeichen oder klinische Symptome der Borreliose sollte mit dem Anti-B. burgdorferi IgM ein negatives Ergebnis erzielt werden.

LEISTUNGSSCHARAKTERISTIKA

1. Vergleichsstudie

Das Anti-B. burgdorferi IgM wurde mit einem kommerziellen ELISA-Test zum Nachweis von IgM-Antikörpern gegen *B. burgdorferi* verglichen. Insgesamt wurden 210 Serumproben mit den beiden Methoden getestet. Die Testergebnisse sind nachstehend in Tabelle 1 zusammengefasst:

Tabelle 1: Zusammenfassung der vergleichenden Testergebnisse

		Referenz ELISA		
		positiv	negativ	fragwürdig*
Anti-B. burgdorferi IgM	positiv	42	11	2
	negativ	2	136	4
	fragwürdig*	3	8	2

Relative Sensitivität = 95,5 % (42/44)

Relative Spezifität = 92,5 % (136/147)

Übereinstimmung = 93,1 % (178/191)

*Ergebnisse, die bei beiden Methoden fragwürdig waren, wurden von den Berechnungen der Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung ausgeschlossen.

Eine zweite Studie wurde im Labor für klinische Immunologie einer medizinischen Fakultät durchgeführt. Einundzwanzig Seren von Patienten mit akuter und abgeklungener Lyme-Krankheit wurden mit dem IgM-ELISA getestet. Die Patientenserumproben wurden von einem anerkannten Experten sorgfältig identifiziert. Die Seren der Akutphase (Stadium 1) stammten von Patienten mit charakteristischem Hautausschlag (EM). Die Rekonvaleszentenserumproben stammten von Patienten mit den charakteristischen Symptomen des 2. und 3. Stadiums der Lyme-Krankheit. Im Rahmen dieser Studie wurden die Seren außerdem mit fünf anderen kommerziellen IgG/IgM- und IgG-spezifischen *Borrelia burgdorferi* ELISA-Tests durchgeführt. Die Ergebnisse der sechs ELISA-Tests sind in der nachstehenden Tabelle 2 zusammengefasst:

Tabelle 2: Zusammenfassung der Testergebnisse mit Seren von Patienten mit Lyme-Krankheit

ELISA-Test auf:		IgG/IgM				IgG	IgM
Probennummer	Krankheitsstadium	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6
1	1	+	+	+	+	-	+
2	1	+	+	+	+	-	+
3	1	-	-	-	-	-	-
4	1	-	-	-	+	-	+
5	1	-	-	-	-	-	-
6	1	+	+	+	+	+	+
7	1	+	+	+	+	+	+
8	2	+	+	+	+	+	+
9	2	+	+	+	±	+	-
10	2	+	+	+	+	+	+
11	2	+	+	-	+	+	±
12	2	+	+	+	+	+	+
13	2	+	+	+	+	+	+

14	2	+	+	+	+	+	-
15	3	+	+	+	+	+	+
16	3	+	+	+	+	+	-
17	3	+	+	+	+	+	-
18	3	+	+	+	±	+	-
19	3	+	+	+	+	+	-
20	3	+	+	+	+	+	+
21	3	+	+	+	+	+	-

Tabelle 3 zeigt die Testergebnisse, die mit einer Serumprobenreihe der CDC erzielt wurden. Die Ergebnisse werden angegeben, um weitere Informationen zur Leistung dieses Tests bei einer charakterisierten Blind-Serumprobenreihe bereitzustellen. Damit wird keine Unterstützung des Tests von Seiten der CDC angedeutet.

Tabelle 3: Die *B. burgdorferi*-Serumprobenreihe der CDC aufgegliedert nach dem Krankheitsbeginn

Zeit nach Krankheitsbeginn	positiv	fragwürdig	negativ	gesamt	Übereinstimmung mit klinischer Diagnose
Normalseren	0	0	5	5	100 %
<1 Monat	3	0	2	5	60 %
1 bis 2 Monate	7	0	2	9	78 %
3 bis 12 Monate	5	0	15	20	25 %
>1 Jahr	1	0	7	8	12 %
gesamt	16	0	31	47	45 %

2. Reproduzierbarkeit

Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit des Testsystems wurden sechs Serumproben an drei aufeinanderfolgenden Tagen getestet. Jede Serumprobe wurde täglich in achtfacher Ausführung getestet. Anschließend wurde für jede Probe die mittlere Ratio der optischen Dichte und der Variationskoeffizient berechnet. Diese Daten sind in nachfolgender Tabelle 4 dargestellt:

Tabelle 4: Zusammenfassung der Testergebnisse zur Reproduzierbarkeit

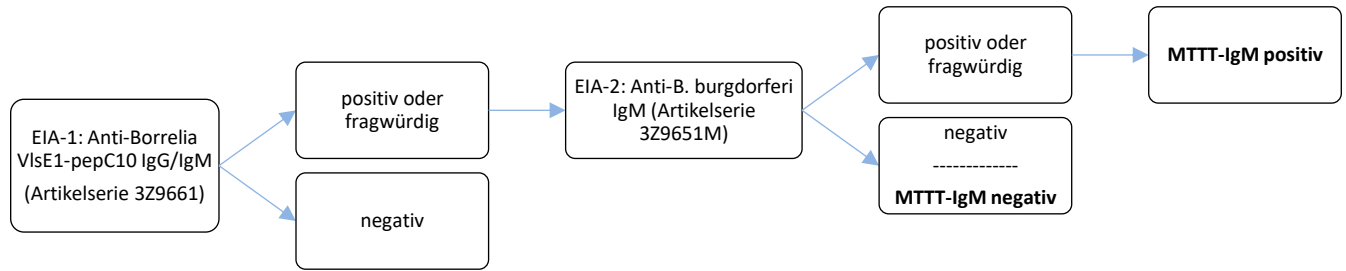
Probe	Intra-Assay (n=8)						Inter-Assay (n=3)	
	Tag 1		Tag 2		Tag 3			
	mittlere Ratio	% Variationskoeffizient	mittlere Ratio	% Variationskoeffizient	mittlere Ratio	% Variationskoeffizient	mittlere Ratio	% Variationskoeffizient
1	1,63	3	1,69	4	1,43	6	1,60	6
2	1,72	7	1,80	6	1,53	9	1,68	7
3	1,33	8	1,42	5	1,21	5	1,32	7
4	1,07	3	1,29	4	1,02	6	1,13	10
5	0,85	7	0,99	5	0,89	7	0,91	6
6	0,21	11	0,26	14	0,22	5	0,24	13

3. Leistungscharakteristika MTTT (2-EIA)

Die folgenden Studien wurden durchgeführt, um die Leistungsfähigkeit des Anti-B. burgdorferi IgMs für die Zweitmessung im Rahmen des modifizierten zweistufigen Tests (modified two-tier testing, MTTT) bzw. des 2-EIA-Protokolls zu bestimmen.

- a. **Methoden-Vergleich MTTT-IgM:** Das Anti-B. burgdorferi IgM wurde für die Zweitmessung im Rahmen des MTTT-Protokolls verwendet, wie im nachfolgenden Ablaufdiagramm dargestellt. Der EIA, der für die Erstmessung verwendet wurde, war das Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Die Leistungsfähigkeit von MTTT-IgM versus STTT wurde mit zwei separaten Kohorten bestimmt; einer retrospektiven Kohorte und einer prospektiven Kohorte.

Ablaufdiagramm: MTTT-IgM-Algorithmus



- b. **Testen an retrospektiver Kohorte:** Die retrospektive Kohorte mit 356 Proben setzte sich aus Proben von 280 Teilnehmern der Panelkategorie „Premarketing“ der CDC zusammen, die durch 46 Proben von Patienten mit Lyme-Krankheit im Stadium 2 und 30 Proben von Patienten mit Lyme-Krankheit im Stadium 3 ergänzt wurden. Die retrospektiven Serumproben stammten daher von 166 Teilnehmern mit Lyme-Krankheit (60 Stadium 1, 56 Stadium 2 und 50 Stadium 3), 90 Teilnehmern mit Krankheiten außer Lyme-Krankheit und 100 gesunden Kontrollen (50 endemisch und 50 nicht endemisch).

Zu Beginn wurden die 356 retrospektiven Proben mit dem Test für Erstmessung, dem Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM getestet. Es gab 160 positive und 6 fragwürdige Testergebnisse. Im Rahmen des STTT-Protokolls wurden die Proben, die positiv bzw. fragwürdig waren (n=166) mit dem B. burgdorferi IgM-Western-Blot getestet. Im Rahmen des MTTT-IgM-Protokolls wurden die Proben (n=166) mit einem zweiten EIA, dem Anti-B. burgdorferi IgM getestet. Die fragwürdigen und positiven Ergebnisse mit der EIA-Zweitmessung wurden als positiv angesehen. Die fragwürdigen und positiven Ergebnisse wurden addiert und die Ergebnisse mit den positiven Ergebnissen der STTT-Methode verglichen. In Tabelle 5 sind die Ergebnisse des MTTT-IgM- im Vergleich mit dem STTT-Protokoll dargestellt.

Tabelle 5: Vergleich der mit der retrospektiven Kohorte gewonnenen Ergebnisse im Rahmen des MTTT-IgM- und STTT-IgM)-Protokolls

	Stadium I (n=60)		Stadium II (n=56)		Stadium III (n=50)		gesunde Kontrollen (n=100)		Krankheitskontrollen (n=90)	
	STTT-IgM	MTTT-IgM	STTT-IgM	MTTT-IgM	STTT-IgM	MTTT-IgM	STTT-IgM	MTTT-IgM	STTT-IgM	MTTT-IgM
Positiv	28	46	28	42	8	36	0	0	0	2
Negativ	32	14	28	14	42	14	100	100	90	88
Sensitivität bzw. positive prozentuale Übereinstimmung	46,7 %	76,7 %	50,0 %	75,0 %	16,0 %	72,0 %	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
Spezifität oder negative prozentuale Übereinstimmung	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k.A.	100 %	100 %	100 %	97,8 %

- c. **Testen an prospektiver Kohorte:** Zusammenstellung einer prospektiven Kohorte aus Serumproben, die im Labor mittels routinemäßiger serologischer Testung auf *Borrellien* getestet wurden. Diese Proben stammten aus drei verschiedenen geografischen Regionen in den USA, alles Regionen, die für Lyme-Krankheit endemisch sind. In zweien dieser drei Gebiete (US-Bundesstaaten Massachusetts und Minnesota) wurden die Proben gesammelt und der jeweilige ELISA-Test durchgeführt. In einer Region (US-Bundesstaat Wisconsin) wurden die Proben gesammelt und an den Hersteller des jeweiligen ELISA-Tests geschickt. Die drei Regionen und ihre Anzahl Proben wurden in der nachstehenden Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6: Zusammengefasste Daten der prospektiven Kohorte

Geografische Region	Stichprobengröße (n)
Massachusetts	900
Wisconsin	990
Minnesota	1042
Gesamt	2932

Zu Beginn wurden die 932 prospektiven Proben mit dem Test für Erstmessung, dem Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Es gab 663 positive und 58 fragwürdige Testergebnisse. Im Rahmen des STTT-Protokolls wurden die Proben, die positiv bzw. fragwürdig waren (n=421) mit dem B. burgdorferi IgM-Western-Blot getestet. Im Rahmen des MTTT-IgM-Protokolls wurden die Proben (n=421) mit einem zweiten ELISA, dem Anti-B. burgdorferi IgM getestet. Die fragwürdigen und positiven Ergebnisse mit der EIA-Zweitmessung wurden als positiv angesehen. Die fragwürdigen und positiven Ergebnisse wurden addiert und die Ergebnisse mit den STTT positiven Ergebnissen verglichen. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse mit der STTT- versus MTTT-IgM-Methode befindet sich in der nachstehenden Tabelle 7:

Tabelle 7: MTTT-IgM-Methode im Vergleich mit der STTT - (IgM)-Methode an der prospektiven Kohorte

		STTT (IgM)		
		Positiv	Negativ	Gesamt
MTTT-IgM	Positiv	101	126**	227
	Negativ	4*	2701	2705
	Gesamt	105	2872	2932

Positive Übereinstimmung: 96,2 % (101/105) 95%-KI: 90,6 % – 98,5 %

Negative Übereinstimmung: 95,5 % (2701/2827) 95%-KI: 94,7 % – 96,2 %

*Von den 4 Proben, die STTT-IgM-positiv/MTTT-IgM-negativ waren, wiesen drei keine klinischen Informationen auf, die mit der Lyme-Krankheit übereinstimmen, und zu einer Probe lagen keine klinischen Informationen vor.

**Von den 126 Proben, die MTTT-M-positiv/STTT-M-negativ waren, wiesen 28 keine klinischen Informationen auf, die mit der Lyme-Krankheit übereinstimmen, bei zweien lag der Nachweis einer früheren Infektion vor, bei fünf lagen klinische Informationen vor, die mit der Lyme-Krankheit Stadium 1 übereinstimmen, und bei 91 waren keine klinischen Daten verfügbar.

LITERATUR

1. Steere AC, Taylor E, Wilson ML, Levine JF, and Spielman A: Longitudinal assessment of the clinical and epidemiological features of Lyme disease in a defined population. *J. Infect. Dis.* 154:295–300, 1986.
2. Rosenfeld MEA: Serodiagnosis of Lyme disease. *J. Clin. Microbiol.* 31:3090–3095, 1993.
3. Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorfer W, Schmid GP, Johnson E, and Marawista SE: The spirochetal etiology of Lyme disease. *New Engl. J. Med.* 308:733, 1983.
4. Bakken LL, Callister SM, Wand PJ, and Schell RF: Interlaboratory comparison of test results for detection of Lyme disease by 516 patients in the Wisconsin State Laboratory of Hygiene/College of American Pathologists Proficiency Testing Program. *J. Clin. Microbiol.* 35:537–543, 1997.
5. U.S. Department of Labor (OSHA): Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens. Final Rule. 21CFR 1910.1030.
6. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens: NCCLS Procedure H18. Approved guideline.
7. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture: NCCLS Procedure H3, Approved Standard.
8. Barbour A: Laboratory Aspects of Lyme Borreliosis. *Clin. Microb. Rev.* 1:399–414, 1988.
9. Russel H, Sampson JS, Schmid GP, Wilkinson HW, and Plikaytis B: Enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay for Lyme disease. *J. Infect. Dis.* 149:465, 1984.
10. Magnarelli LA, Anderson JF, and Johnson RC: Cross-reactivity in serological test for Lyme disease and other spirochetal infections. *J. Infect. Dis.* 156:183–188, 1987.
11. Hunter EF, Russell H, *et al.*: Evaluation of sera from patients with Lyme disease in the fluorescent treponeme antibody-absorption test for syphilis. *Sex. Trans. Dis.* 13:236, 1986.
12. Shrestha M, Grodzicki RL, and Steere AC: Diagnosing early Lyme disease. *Am. J. Med.* 78:235, 1985.
13. Steere AC, Hutchinson GJ, Rahn DW, Sigal LH, Craft JE, DeSanna ET, and Malawist SE: Treatment of the early manifestations of Lyme disease. *Ann. Intern. Med.* 99:22, 1983.
14. Craft JE, Grodzicki RL, Shrestha M, Fischer DK, Garcia-Bianco M, and Steer AC: Antibody response in Lyme disease. *Yale J. Biol. Med.* 57:561, 1984.
15. Reik L, Smith L, Khan A, and Nelson W: Demyelinating encephalopathy in Lyme disease. *Neurology* 35:267, 1985.
16. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). CLSI Document GP44–A4 (ISBN 1–56238–724–3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.
17. Branda JA, *et al.* Two-Tiered Antibody Testing for Lyme Disease With Use of 2 Enzyme Immunoassays, a Whole-Cell Sonicate Enzyme Immunoassay Followed by a VlsE C6 Peptide Enzyme Immunoassay. *Clin Infect Dis* **2011**; 53:541–547.
18. Mollins CR, *et al.* Lyme Boreliosis Serology: Performance of Several Commonly Used Laboratory Diagnostic Tests and a Large Resource Panel of Well Characterized Patient Specimens. *J Clin Microbiol* **2016**; 54:2726–2734.
19. Branda JA, *et al.* Advances in Serodiagnostic Testing for Lyme Disease Are at Hand. *Clin Infect Dis* 2018 Mar 19;66(7):1133–1139

GLOSSAR DER SYMBOLE

Bei der Kennzeichnung dieses Produkts wurden möglicherweise die folgenden Symbole verwendet.

Symbol	Description	Symbol	Description
	Hersteller		Von Sonnenlicht fernhalten
IVD	In-vitro-Diagnostika	PLATE	Platte
REF	Katalognummer	CONJ	Konjugieren
	Ausreichend für n Tests	CTRL +	Positivkontrolle
LOT	Chargencode	CTRL -	Negativkontrolle
	Verwendung durch	CAL	Kalibrierer
	Einschränkungen der Lagertemperatur	DIL SPE	Probenverdünnungsmittel
CONT	Inhalt	SOLN TMB	TMB
UDI	Eindeutige Geräteidentifikationsnummer	SOLN STOP	Stopplösung
	Beachten Sie die Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	WASH 10X	Waschpufferkonzentrat (10X)
	Elektronische Gebrauchsanweisung konsultieren	SOLN ABS	Absorbens
	In aufrechter Position aufbewahren	DE	Deutsch
RX Only	Gilt für die USA: Nur für verschreibungspflichtige Zwecke	Made in the USA	Hergestellt in den USA
	Gefahrenkommunikation		Ätzend
CE	Übereinstimmung mit der Richtlinie 98/79	EC REP	Bevollmächtigter Vertreter der Europäischen Kommission



ZEUS Scientific

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA
Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2
International: +1 908-526-3744
Fax: +1 908-526-2058
Website: www.zeusscientific.com

EC **REP**

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Für Kundenservice in den USA wenden Sie sich bitte an Ihren lokalen Vertriebspartner. Für technischen Support in den USA kontaktieren Sie ZEUS Scientific telefonisch über die gebührenfreie Hotline oder per E-Mail an support@zeusscientific.com.

Für Kundenservice- und technische Supportanfragen außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihre lokale Sebia-Niederlassung oder Ihren autorisierten Vertriebspartner.

©2025 ZEUS Scientific. Alle Rechte vorbehalten.