



DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871



Modifiche: §4;
Suppressioni: -

LIAISON® Borrelia IgG (REF 310880)

1. FINALITÀ DEL TEST

Il test LIAISON® Borrelia IgG impiega la tecnologia della chemiluminescenza (CLIA) in un saggio immunologico per la determinazione quantitativa di anticorpi specifici di classe IgG diretti contro *Borrelia burgdorferi sensu lato* (incluso i ceppi *Borrelia burgdorferi sensu strictu*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*) in campioni di siero, plasma o liquido cefalo-rachidiano umano.

Il test deve essere eseguito sulla linea di strumenti LIAISON® Analyzer*.

2. SIGNIFICATO CLINICO

Scoperta nel 1982, la spirocheta *Borrelia burgdorferi* è l'agente etiologico della borreliosi di Lyme, malattia trasmessa da diverse specie di zecche del genere *Ixodes*. La borreliosi di Lyme è un'affezione multisistemica che può colpire diversi organi, come la pelle, il sistema nervoso, le articolazioni maggiori e il sistema cardiovascolare. Sebbene i batteri agenti della malattia di Lyme inducano una risposta immunitaria vigorosa, le spirochete sopravvivono e persistono nella circolazione dei pazienti infettati. La borreliosi di Lyme evolve generalmente in modo simile alla sifilide attraverso diversi stadi clinici, dalla infezione precoce a quella tardiva:

- Stadio 1: lesione della pelle a livello del morso della zecca; in assenza di terapia, l'infezione precoce con esantema localizzato (erythema chronicum migrans, EM) può trasformarsi in infezione disseminata.
- Stadio 2: affezioni neurologiche (neuroborreliosi).
- Stadio 3: artrite che si può osservare anche anni dopo l'infezione.

La somiglianza dei sintomi clinici tra la borreliosi di Lyme e altre malattie non correlate crea delle difficoltà a livello diagnostico a causa della variabilità delle manifestazioni cliniche coinvolte. La diagnosi della borreliosi può essere difficile sulla base delle osservazioni cliniche soprattutto in assenza di prove anamnestiche (morso di zecca o erythema chronicum migrans). Inoltre, la malattia può rimanere asintomatica fino a quando raggiunge stadi clinici molto avanzati. Quando è assente l'erythema chronicum migrans, i sintomi clinici di ehrlichiosi granulocitica umana (human granulocytic ehrlichiosis, HGE) – nel caso in cui si manifesti nella stessa area dove è presente la borreliosi – possono essere confusi con quelli della borreliosi di Lyme.

Di conseguenza, i clinici si servono della rilevazione degli anticorpi per determinare la causa della malattia. L'uso di cellule intere di *Borrelia burgdorferi* sonicate provoca ben conosciuti risultati falsi positivi a causa della reattività crociata degli anticorpi specifici con proteine che mostrano una notevole omologia con diversi batteri patogeni, soprattutto il *Treponema pallidum*, l'agente etiologico della sifilide. I test diagnostici che usano il lisato batterico come antigene, anche proveniente da diversi ceppi di *Borrelia burgdorferi*, spesso non raggiungono risultati sicuri nelle fasi precoci dell'infezione.

I test LIAISON® Borrelia impiegano antigeni ricombinanti specifici ottenuti in *E. coli* per aumentare l'accuratezza della diagnosi della borreliosi di Lyme. I kit LIAISON® Borrelia IgM utilizzano una fase solida rivestita con la proteina superficiale esterna OspC, immunodominante per la risposta di tipo IgM durante la fase precoce dell'infezione, così come l'antigene *Borrelia* VlsE (variable major protein-like sequence, expressed, sequenza variabile maggiore di tipo proteico, espressa) di recente identificazione. Il test LIAISON® Borrelia IgG utilizza l'antigene VlsE. Questo antigene è una lipoproteina della superficie esterna che gioca un ruolo probabilmente importante nella risposta immunitaria alla malattia di Lyme. È formata da regioni conservate (che si comportano *in vivo* come regioni di transmembrana), regioni variabili e invariabili (esposte all'esterno della membrana batterica). Durante l'infezione, le regioni variabili subiscono continue variazioni nella sequenza per ricombinazione. Le variazioni antigeniche delle proteine esposte sulla superficie cellulare sono un meccanismo importante che permette di sfuggire al riconoscimento immunologico. All'interno della regione variabile sono disseminate sei regioni invariabili (IR 1-6), conservate nei diversi ceppi e specie della *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Nei batteri *Borrelia* vivi le regioni invariabili sono mascherate dalle regioni variabili e pertanto sono protette dall'attacco diretto del sistema immunitario dell'ospite. I batteri *Borrelia* sono trasformati da cellule che presentano l'antigene sulla superficie e lo espongono all'attacco del sistema immunitario. È interessante osservare che le regioni invariabili sono quelle immunodominanti nella borreliosi di Lyme. I pazienti affetti da malattia di Lyme presentano sempre una risposta immunitaria vigorosa contro la proteina VlsE, in tutti gli stadi della malattia, compresi quelli precoci. Questa reattività, rivelata dai test Western blot che impiegano la proteina ricombinante VlsE, è assente o diminuisce di intensità quando si usa come antigene il lisato di cellule intere provenienti da colture *in vitro* di *Borrelia burgdorferi* propagate con basso numero di passaggi. La proteina ricombinante VlsE è caratterizzata da elevata sensibilità e specificità diagnostiche e pertanto è l'indicatore più adatto per la diagnosi di laboratorio della risposta immunitaria di tipo IgG alla borreliosi di Lyme, sia precoce sia tardiva.

La rilevazione degli anticorpi specifici anti-*Borrelia burgdorferi* nel liquido cefalo-rachidiano è più significativa di quella eseguita nel siero o nel plasma ed è considerata una prova a favore della presenza di anticorpi intratecali (ossia di neuroborreliosi) quando viene valutata insieme con altri riscontri di laboratorio.

*(LIAISON®, LIAISON® XL, LIAISON® XS)

3. PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il metodo per la determinazione quantitativa di IgG specifiche anti-*Borrelia burgdorferi* è un test indiretto basato sul principio della chemiluminescenza (CLIA). Antigeni ricombinanti specifici per *Borrelia burgdorferi* sono usati per rivestire le particelle magnetiche (fase solida) e un anticorpo monoclonale di topo è legato ad un derivato dell'isoluminolo (coniugato anticorpo-isoluminolo). Durante la prima incubazione, gli anticorpi anti-*Borrelia burgdorferi* presenti nei calibratori, nei campioni o nei controlli legano la fase solida. Durante la seconda incubazione, l'anticorpo coniugato reagisce con le IgG anti-*Borrelia burgdorferi* già legate alla fase solida. Dopo ciascuna incubazione, il materiale non legato è rimosso mediante un ciclo di lavaggio.

In seguito, vengono aggiunti i reagenti starter che inducono una reazione di chemiluminescenza. Il segnale luminoso, e quindi la quantità di coniugato anticorpo-isoluminolo, è misurato da un fotomoltiplicatore in unità relative di luce (RLU, relative light units) ed è indicativo della concentrazione di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* presente nei calibratori, nei campioni o nei controlli.

4. MATERIALI FORNITI

Integrale di reattivi

Particelle magnetiche (2,3 mL)	[SORB]	Particelle magnetiche rivestite con antigene ricombinante VlsE di <i>Borrelia burgdorferi</i> (<i>Borrelia garinii</i> ceppo pBi) (ottenuto in <i>E. coli</i>), sieroalbumina bovina, tampone PBS, < 0,1% sodio azide.
Calibratore 1 (3,8 mL)	[CAL1]	Siero/plasma umano contenente bassi livelli di IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> , sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin® 300 e un colorante giallo inerte. Le concentrazioni dei calibratori (AU/mL) sono tarate contro una preparazione anticorpale interna.
Calibratore 2 (3,8 mL)	[CAL2]	Siero/plasma umano contenente alti livelli di IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> , sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin® 300 e un colorante blu inerte. Le concentrazioni dei calibratori (AU/mL) sono tarate contro una preparazione anticorpale interna.
Diluyente dei campioni (28 mL)	[DILSPE]	Sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin® 300 e un colorante giallo inerte.
Coniugato (23 mL)	[CONJ]	Anticorpi monoclonali di topo anti-IgG umane coniugati con un derivato dell'isoluminolo, sieroalbumina bovina, tampone PBS, 0,2% ProClin® 300, conservanti.
Numero di dosaggi		100

Tutti i reattivi sono forniti pronti per l'uso. L'ordine dei reattivi riflette quello con cui sono assemblati i contenitori nell'integrale di reattivi.

Materiali richiesti, ma non forniti (relativi al sistema)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® XL Cuvettes ([REF] X0016). LIAISON® XL Disposable Tips ([REF] X0015) oppure LIAISON® Disposable Tips ([REF] X0055). LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200) oppure LIAISON® EASY Starter Kit ([REF] 319300). – – LIAISON® Wash/System Liquid ([REF] 319100). LIAISON® XL Waste Bags ([REF] X0025). –	LIAISON® Module ([REF] 319130). – – LIAISON® Starter Kit ([REF] 319102) oppure LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200) oppure LIAISON® EASY Starter Kit ([REF] 319300). LIAISON® Light Check 12 ([REF] 319150). LIAISON® Wash/System Liquid ([REF] 319100). LIAISON® Waste Bags ([REF] 450003). LIAISON® Cleaning Kit ([REF] 310990).

LIAISON® XS Analyzer
LIAISON® Cuvettes on Tray ([REF] X0053). LIAISON® Disposable Tips ([REF] X0055). LIAISON® EASY Starter Kit ([REF] 319300). LIAISON® EASY Wash Buffer ([REF] 319301). LIAISON® EASY System Liquid ([REF] 319302). LIAISON® EASY Waste ([REF] X0054). LIAISON® EASY Cleaning Tool ([REF] 310996).

Altri materiali richiesti

Controlli LIAISON® Borrelia IgG (negativo e positivo) ([REF] 310881).
Controlli LIAISON® Borrelia IgG Liquor (negativo e positivo) ([REF] 310882).

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Tutte le unità di siero e plasma utilizzate per la fabbricazione dei componenti di questo kit sono state analizzate e trovate non reattive per la presenza di HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 ed anti-HIV-2. Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può dare assoluta certezza che siano assenti agenti patogeni, tutto il materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infettivo e manipolato come tale.

6. REGOLE DI SICUREZZA

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici durante l'esecuzione del dosaggio.

Non pipettare con la bocca.

Evitare il contatto diretto con il materiale potenzialmente infetto, indossando indumenti da laboratorio, occhiali protettivi e guanti monouso. Lavare accuratamente le mani al termine del dosaggio.

Evitare di provocare schizzi o aerosol. Ogni goccia di reattivo biologico deve essere rimossa con una soluzione di sodio ipoclorito allo 0,5% di cloro attivo ed il mezzo utilizzato deve essere trattato come materiale di rifiuto infetto.

Tutti i campioni e i reattivi contenenti materiali biologici usati per il saggio devono essere considerati potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi; i rifiuti devono essere maneggiati con cura e smaltiti secondo le linee guida del laboratorio e le disposizioni legislative vigenti in ciascun Paese. Qualsiasi materiale che deve essere riutilizzato deve essere trattato con processo di sterilizzazione adeguato in accordo alle leggi e alle linee guida applicabili localmente. Si raccomanda di verificare l'efficacia del ciclo di sterilizzazione/decontaminazione.

Non usare kit o componenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP) i reattivi pericolosi sono classificati ed etichettati come segue:

REATTIVI:	CAL1, CAL2, CONJ, DILSPE
CLASSIFICAZIONE:	Skin sens. 1 H317
SEGNALAZIONI:	Attenzione
SIMBOLI/PITTOGRAMMI:	 GHS07 Punto esclamativo
FRASI DI PERICOLO:	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.
CONSIGLI DI PRUDENZA:	P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
CONTIENE: (solo le sostanze prescritte ai sensi dell'articolo 18 del Regolamento CE 1272/2008).	miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [CE n. 247-500-7] e 2-metil-2H -isotiazol-3-one [CE n. 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP), **[SORB]** è etichettato come EUH210, Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

Per ulteriori informazioni consultare le Schede dati di sicurezza disponibili su www.diasorin.com.

7. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

INTEGRALE DI REATTIVI

Osservare scrupolosamente le seguenti precauzioni importanti per la manipolazione dei reattivi:

Risospensione delle particelle magnetiche

Le particelle magnetiche devono essere completamente risospese prima di posizionare l'integrale nello strumento. Seguire le fasi indicate di seguito per garantire la sospensione completa delle particelle:

Prima di rimuovere le pellicole sigillanti dai contenitori, ruotare avanti e indietro la rotellina dentata posta al di sotto del contenitore delle particelle magnetiche fino a che il colore della sospensione diventa bruno. Agitare orizzontalmente l'integrale di reattivi con delicatezza ed estrema cura può favorire la sospensione delle particelle magnetiche (evitare la formazione di schiuma). Controllare visivamente il fondo del contenitore delle particelle magnetiche per assicurarsi che tutte le particelle magnetiche sedimentate siano state rispese. Asciugare accuratamente la superficie di ciascun setto per eliminare il liquido residuo.

Se necessario ripetere la procedura fino alla completa risospensione delle particelle magnetiche.

Formazione di schiuma nei reattivi

Per garantire prestazioni ottimali dell'integrale, si raccomanda di evitare la formazione di schiuma nei reattivi. Osservare le raccomandazioni seguenti per evitarla:

Prima di usare l'integrale, controllare visivamente i reattivi, in particolare i calibratori (posti in seconda e terza posizione dell'integrale, dopo il contenitore delle particelle magnetiche) per escludere la presenza di schiuma. Se si osserva la presenza di schiuma dopo la risospensione delle particelle magnetiche, posizionare l'integrale nello strumento e lasciare sciogliere la schiuma. L'integrale è pronto per l'uso quando è lasciato riposare nello strumento, le particelle magnetiche sono tenute in agitazione automatica e la schiuma è sciolta.

Caricare l'integrale nell'area reagenti dello strumento

LIAISON® Analyzer

- Posizionare l'integrale di reattivi nell'area reagenti dello strumento con l'etichetta dei codici a barre posta a sinistra e lasciar agitare per 30 minuti prima dell'uso. In questo periodo le particelle magnetiche vengono tenute automaticamente in agitazione per assicurare una risospensione completa.
- Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

Analizzatori LIAISON® XL e LIAISON® XS

- Gli strumenti LIAISON® XL Analyzer e LIAISON® XS Analyzer sono dotati di un dispositivo magnetico integrato che favorisce la dispersione delle microparticelle prima di posizionare un integrale di reattivi nell'area reattivi dello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per i dettagli tecnici.
 - a. Posizionare l'integrale di reattivi nella scanalatura apposita.
 - b. Lasciare riposare l'integrale di reattivi nel dispositivo magnetico per almeno 30 secondi (fino a diversi minuti). Ripetere l'operazione se necessario.
- Posizionare quindi l'integrale di reattivi nell'area reagenti dello strumento con l'etichetta posta a sinistra e lasciar agitare per 15 minuti prima dell'uso. In questo periodo le particelle magnetiche vengono tenute automaticamente in agitazione per assicurare una risospensione completa.
- Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

CONTROLLI

Fare riferimento alle istruzioni del set di controlli LIAISON® Borrelia IgG e Borrelia IgG Liquor per preparare e manipolare i controlli adeguatamente.

8. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DELL'INTEGRALE DI REATTIVI

- **Sigillato:** Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.
- **Aperto a bordo dello strumento o a 2-8°C:** Stabilità minima quattro settimane. Dopo questo intervallo di tempo, si può continuare a usare l'integrale di reattivi, purché i controlli rimangano all'interno dei limiti attesi.
- Usare sempre lo stesso strumento per un integrale di reattivi già aperto.
- Usare il supporto fornito con lo strumento per la conservazione dell'integrale di reattivi in posizione verticale.
- Non congelare.
- Mantenere l'integrale di reattivi in posizione verticale durante la conservazione per facilitare la successiva adeguata risospensione delle particelle magnetiche.
- Tenere al riparo dalla luce diretta.

9. PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Campioni di siero o plasma. Il dosaggio può essere effettuato in campioni di siero o plasma umano. Possono essere utilizzati anticoagulanti come citrato, EDTA e eparina. Prelevare il sangue per puntura venosa, lasciarlo coagulare e separare il siero dal coagulo al più presto. Chiarificare per filtrazione o centrifugazione prima del test i campioni che presentano materiale in sospensione, opalescenza, lipemia o residui eritrocitari. Non usare campioni fortemente emolizzati o lipemici, né campioni che presentano materiale in sospensione o evidente contaminazione microbica. Eliminare le bolle di aria eventualmente presenti prima del dosaggio. Se il dosaggio è eseguito nei sette giorni successivi al prelievo, i campioni possono essere conservati a 2-8°C. In caso contrario, devono essere suddivisi in aliquote congelate a -20°C o a temperature inferiori. Se i campioni sono stati scongelati, agitare con cura prima di dosarli. Dieci campioni di diversa reattività sono stati conservati per sette giorni a 2-8°C e sono stati sottoposti a cinque cicli di congelamento e scongelamento. I risultati non hanno mostrato differenze significative. Il volume minimo di campione necessario è 170 µL incluso il volume morto. Non sono necessarie altre operazioni, perché lo strumento diluisce automaticamente i campioni prima del dosaggio.

Campioni di liquido cefalo-rachidiano. Prelevare il liquor per puntura lombare lo stesso giorno in cui si esegue il prelievo di sangue. Chiarificare per filtrazione o centrifugazione prima del test i campioni che presentano materiale in sospensione, opalescenza o residui eritrocitari. Non usare campioni fortemente emolizzati, né campioni che presentano materiale in sospensione o evidente contaminazione microbica. Un'eccessiva contaminazione ematica dei campioni può causare risultati falsi positivi. Eliminare le bolle di aria eventualmente presenti prima del dosaggio. Se il dosaggio è eseguito nei sette giorni successivi al prelievo, i campioni possono essere conservati a 2-8°C. In caso contrario, devono essere suddivisi in aliquote congelate a -20°C o a temperature inferiori. Se i campioni sono stati scongelati, agitare con cura prima di dosarli. Otto campioni di diversa reattività sono stati conservati per sette giorni a 2-8°C e sono stati sottoposti a cinque cicli di congelamento e scongelamento. I risultati non hanno mostrato differenze significative. Il volume minimo di campione necessario è 200 µL incluso il volume morto. Non sono necessarie altre operazioni, perché lo strumento diluisce automaticamente i campioni prima del dosaggio.

10. TARATURA

Il dosaggio dei calibratori specifici contenuti nell'integrale di reattivi permette di regolare la curva predefinita memorizzata dal fabbricante sulle unità relative di luce (RLU = relative light units) rilevate. Ogni soluzione dei calibratori permette di eseguire otto tarature.

La ritaratura deve essere eseguita in triplicato ogniqualvolta si verifica almeno una delle condizioni seguenti:

- Viene usato un nuovo lotto di reagenti starter.
- La taratura precedente è stata eseguita più di una settimana prima.
- Viene usato un nuovo lotto di integrale di reattivi.
- I valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi.
- Analizzatori LIAISON® e LIAISON® XL: lo strumento ha subito un intervento di assistenza tecnica.
- LIAISON® XS Analyzer: dopo un intervento tecnico, solo se richiesto dalla procedura di assistenza, come comunicato dall'Assistenza tecnica o dal rappresentante DiaSorin.

LIAISON® Analyzer: i valori dei calibratori sono codificati nei codici a barre riportati sull'etichetta dell'integrale.

LIAISON® XL Analyzer: i valori dei calibratori sono codificati nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency Identification transponder, RFID Tag) dell'integrale di reattivi.

LIAISON® XS Analyzer: i valori dei calibratori sono codificati nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency Identification transponder, RFID Tag) dell'integrale di reattivi.

11. PROCEDIMENTO OPERATIVO

Questo test richiede i seguenti file del dosaggio: **Bor-Gc, Bor-G e BoGCSF.**

Per dosare i campioni usare **Bor-G o BoGCSF.**

Mai usare Bor-Gc.

Per ottenere prestazioni analitiche ideali è necessario attenersi scrupolosamente al manuale operativo dello strumento.

LIAISON® Analyzer. Tutti i parametri del test vengono descritti attraverso i codici a barre riportati sull'etichetta dell'integrale di reattivi. Nel caso lo strumento non possa leggere il codice a barre, l'integrale non potrà essere utilizzato. Non gettare l'integrale; contattare il supporto tecnico DiaSorin locale per istruzioni.

Analizzatori LIAISON® XL e LIAISON® XS. Tutti i parametri del test vengono descritti dalle informazioni codificate nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency IDentification transponder, RFID Tag) nell'integrale di reattivi. Nel caso lo strumento non possa leggere il RFID Tag, l'integrale non potrà essere utilizzato. Non gettare l'integrale; contattare il supporto tecnico DiaSorin locale per istruzioni.

Il file per il dosaggio delle IgG anti-*Borrelia burgdorferi* in campioni di siero o plasma è **Bor-G.**

Il file per il dosaggio delle IgG anti-*Borrelia burgdorferi* in campioni di liquido cefalo-rachidiano è **BoGCSF.**

Lo strumento esegue le seguenti operazioni:

Campioni di siero o plasma	Campioni di liquido cefalo-rachidiano
1. Distribuire le particelle magnetiche rivestite e il diluente. 2. Distribuire calibratori, controlli o campioni nel modulo di reazione. 3. Incubare. 4. Lavare con il liquido di lavaggio. 5. Distribuire il coniugato nel modulo di reazione. 6. Incubare. 7. Lavare con il liquido di lavaggio. 8. Aggiungere i reagenti starter e misurare la luce emessa.	1. Distribuire le particelle magnetiche rivestite e il diluente. 2. Distribuire controlli o campioni nel modulo di reazione. 3. Incubare. 4. Lavare con il liquido di lavaggio. 5. Distribuire il coniugato nel modulo di reazione. 6. Incubare. 7. Lavare con il liquido di lavaggio. 8. Aggiungere i reagenti starter e misurare la luce emessa.

12. CONTROLLO DI QUALITÀ

I controlli LIAISON® devono essere analizzati in singolo per valutare le prestazioni del test. Il controllo di qualità deve essere eseguito analizzando i controlli LIAISON® *Borrelia* IgG e *Borrelia* IgG Liquor

(a) almeno una volta per ogni giorno di lavoro,

(b) quando si usa un nuovo integrale di reattivi,

(c) quando si tara il kit,

(d) quando si usa un nuovo lotto di reagenti starter,

(e) quando si determina l'adeguatezza delle prestazioni dell'integrale di reattivi aperto da più di quattro settimane, o secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

I valori dei controlli devono essere compresi nei limiti attesi: ogniquale volta uno o entrambi i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, la taratura (calibrazione) deve essere rieseguita e i controlli devono essere rianalizzati. Se i valori sperimentali dei controlli sono di nuovo al di fuori degli intervalli predefiniti dopo la taratura, il test deve essere ripetuto usando un flacone di controllo non aperto. Se i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, i risultati dei campioni non devono essere refertati.

Le prestazioni di altri controlli devono essere valutate per assicurarne la compatibilità con questo test prima dell'uso. È indispensabile pertanto stabilire gli intervalli dei valori dei materiali usati per il controllo di qualità.

13. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI IN SIERO O PLASMA

13.1. Test *Borrelia* IgG (campioni di siero o plasma)

Lo strumento calcola automaticamente le concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* espresse in unità arbitrarie (AU/mL) e classifica i risultati. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

Calibratori e controlli possono fornire dati diversi espressi in valori di RLU o di concentrazione su LIAISON®, LIAISON® XL e LIAISON® XS, ma i risultati clinici sono equivalenti.

Intervallo di dosaggio. 5-240 AU/mL di IgG anti-*Borrelia burgdorferi*.

I campioni contenenti concentrazioni di anticorpo maggiori dell'intervallo di dosaggio possono essere prediluiti mediante la funzione Dilute dello strumento e ridosati (il fattore di diluizione consigliato è 1:10). I risultati saranno quindi moltiplicati automaticamente per il fattore di diluizione per ottenere i livelli anticorpali dei campioni non diluiti. Il diluente dei campioni disponibile in eccesso nell'integrale di reattivi permette la prediluizione di 10 campioni.

La diluizione di campioni esterni all'intervallo potrebbe fornire misurazioni quantitative non accurate a causa della risposta imprevedibile dei campioni.

I risultati dei campioni devono essere interpretati come segue:

I campioni con concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* al di sotto di 10 AU/mL sono da classificare *negativi*.

I campioni con concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* comprese tra 10 e 15 AU/mL sono da classificare *dubbi*.

Si suggerisce di ritestare i campioni dubbi per confermare il primo risultato. Se un campione è positivo al secondo test, deve essere considerato positivo. Se un campione è negativo al secondo test, deve essere considerato negativo.

Bisogna prelevare e dosare un secondo campione dopo almeno una settimana se il risultato è ripetutamente dubbio.

I campioni con concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* uguali o al di sopra di 15 AU/mL sono da classificare *positivi*.

13.2. Interpretazione dei risultati per campioni di siero o plasma

Un risultato negativo per anticorpi IgM e/o IgG anti-*Borrelia burgdorferi* indica generalmente che non è avvenuta infezione, ma non esclude per certo una borreliosi acuta, perché la malattia può essere in uno stadio molto precoce e il paziente può non aver ancora sintetizzato gli anticorpi specifici anti-*Borrelia burgdorferi*, oppure perché i livelli degli anticorpi possono essere non rilevabili. Gli anticorpi specifici di classe IgM sono di più facile rilevazione negli stadi precoci dell'infezione; negli stadi più avanzati declinano progressivamente. Occorre ricordare in questo caso che i livelli di anticorpi sono negativi durante le prime settimane dopo l'infezione. Se si sospetta che il paziente sia stato esposto alla *Borrelia burgdorferi* anche se il dosaggio degli anticorpi è negativo o dubbio, bisogna prelevare e dosare un secondo campione per IgM e IgG durante il corso dell'infezione.

Un risultato positivo per anticorpi IgM e/o IgG anti-*Borrelia burgdorferi* indica generalmente che il soggetto è stato esposto alla *Borrelia burgdorferi* (infezione acuta o pregressa). Un unico campione, tuttavia, può solo aiutare la valutazione dello stato sierologico del soggetto. Si osserva un risultato positivo isolato per IgM abbastanza di frequente, soprattutto durante gli stadi precoci, ma raramente durante gli stadi avanzati della malattia. Un risultato positivo isolato per IgG può indicare sia malattia di Lyme acuta, sia infezione pregressa con persistenza di anticorpi. La tabella seguente riassume i diversi quadri immunologici. I risultati sono stati ottenuti con i test LIAISON® *Borrelia*.

Risultato per IgM anti- <i>Borrelia burgdorferi</i>	Risultato per IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i>	Interpretazione
negativo	negativo	Assenza di infezione. In caso di incertezza clinica (presenza di morso di zecca o di sintomi neurologici), i pazienti devono essere monitorati nel tempo.
positivo	negativo	Probabile infezione ad uno stadio precoce.
negativo	positivo	Probabile infezione a qualunque stadio.
positivo	positivo	Probabile infezione acuta.

14. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI IN LIQUIDO CEFALO-RACHIDIANO

14.1. Test *Borrelia* IgG (campioni di liquido cefalo-rachidiano)

Lo strumento calcola automaticamente le concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* espresse in unità arbitrarie (AU/mL) e classifica i risultati. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

Calibratori e controlli possono fornire dati diversi espressi in valori di RLU o di concentrazione su LIAISON®, LIAISON® XL e LIAISON® XS, ma i risultati clinici sono equivalenti.

Intervallo di dosaggio. 0,2-240 AU/mL di IgG anti-*Borrelia burgdorferi*.

I campioni contenenti concentrazioni di anticorpo superiori all'intervallo di dosaggio possono essere prediluiti mediante la funzione Dilute dello strumento e ridosati. Il fattore di diluizione consigliato è 1:10; se i campioni diluiti sono ancora al di sopra dell'intervallo di dosaggio, il test deve essere ripetuto dopo aver prediluito i campioni 1:100. I risultati saranno quindi moltiplicati automaticamente per il fattore di diluizione per ottenere i livelli anticorpali dei campioni non diluiti. Il diluente dei campioni disponibile in eccesso nell'integrale di reattivi permette la prediluizione di 10 campioni.

14.2. Interpretazione dei risultati per campioni di liquido cefalo-rachidiano

I risultati dei campioni devono essere interpretati come segue (interpretazione specifica della matrice di liquido cefalo-rachidiano):

I campioni con concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* al di sotto di 4,5 AU/mL sono da classificare *negativi*.

I campioni con concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* comprese fra 4,5 e 5,5 AU/mL sono da classificare *dubbi*. Si suggerisce di ritestare i campioni dubbi per confermare il primo risultato. Se un campione è positivo nel secondo test, deve essere considerato positivo. Se un campione è negativo nel secondo test, deve essere considerato negativo. Bisogna prelevare e dosare un secondo campione dopo almeno una settimana se il risultato è ripetutamente dubbio.

I campioni con concentrazioni di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* uguali o al di sopra di 5,5 AU/mL sono da classificare *positivi*.

Un risultato negativo per anticorpi IgG anti-*Borrelia burgdorferi* indica un'improbabile sintesi intratecale di anticorpi anti-*Borrelia burgdorferi*. Se esiste fondato sospetto di neuroborreliosi anche se il dosaggio degli anticorpi è negativo, si suggerisce di eseguire ulteriori indagini diagnostiche.

Un risultato positivo per anticorpi IgG anti-*Borrelia burgdorferi* suggerisce la possibile sintesi intratecale di anticorpi anti-*Borrelia burgdorferi*: si sospetta pertanto la presenza di neuroborreliosi.

Si possono osservare risultati positivi nei pazienti con livelli estremamente elevati di anticorpi circolanti anti-*Borrelia burgdorferi* nonché in pazienti positivi per anticorpi sierici anti-*Borrelia burgdorferi* associati con alte concentrazioni di albumina nel liquido cefalo-rachidiano. Quest'ultimo riscontro suggerisce la presenza di un possibile danno alla barriera ematica/cefalo-rachidiana.

Per una quantificazione più affidabile della sintesi intratecale delle immunoglobuline, i risultati dei campioni devono essere interpretati facendo riferimento all'indice anticorpale specifico del liquido cefalo-rachidiano/siero. Il rilevamento specifico di anticorpi anti-*Borrelia burgdorferi* nel liquido cefalo-rachidiano, insieme alla presenza di sintomi neurologici di borreliosi, ha una forte associazione con la diagnosi di neuroborreliosi. La presenza intratecale di anticorpi anti-*Borrelia burgdorferi* specifici può essere determinata come indice anticorpale (AI) attraverso l'analisi di un campione di sangue e di un campione di liquido cefalo-rachidiano prelevati contemporaneamente dallo stesso paziente. Questo indice consente di distinguere tra sintesi intratecale attiva e diffusione passiva di anticorpi IgG anti-*Borrelia burgdorferi* specifici dal siero al liquido cefalo-rachidiano. L'indice anticorpale viene valutato prendendo in considerazione la concentrazione di IgG totale nel siero del paziente (metodo di Reiber) e nel liquido cefalo-rachidiano, negli stessi due campioni (coppia di siero e liquido cefalo-rachidiano prelevati simultaneamente dallo stesso paziente) dove viene eseguita la determinazione degli anticorpi IgG anti-*Borrelia*.

L'indice anticorpale specifico di liquido cefalo-rachidiano/siero viene determinato secondo la formula:

$$\text{Indice anticorpale} = \frac{\text{LIAISON® Borrelia IgG liquido cefalo-rachidiano} / \text{LIAISON® Borrelia IgG siero}}{(\text{Titolo degli IgG totali nel liquido cefalo-rachidiano} / \text{Titolo degli IgG totali nel siero}) * 10^3}$$

Secondo il riferimento (Lange P et al, poster presentato in occasione del congresso ECCMID di Barcellona, Spagna, nel 2008), il normale intervallo degli AI è compreso tra 0,7 e 1,3, a condizione che gli anticorpi specifici anti-*Borrelia* siano presenti nel siero e in assenza di sintesi intratecale. Valori al di sopra di 1,5 indicano in genere una sintesi di anticorpi specifici anti-*Borrelia* nel sistema nervoso centrale. Valori al di sotto di 0,7 o compresi tra 1,3 e 1,5 non sono conclusivi e il test deve essere ripetuto con un'altra coppia di campioni.

Il risultato della formula di calcolo quando i dosaggi di LIAISON Borrelia sono classificati negativi utilizzando l'interpretazione dei risultati specifica della matrice, va interpretato con cautela. Valori dell'indice anticorpale inferiori a 0,7 possono essere dovuti alle diluizioni dei campioni impostate utilizzate per l'esecuzione del test. È consigliabile procedere a un'interpretazione specifica della matrice di liquido cefalo-rachidiano per risolvere la classificazione diagnostica nel caso di questi risultati incerti.

Il metodo di prova degli IgG totali utilizzato, e il titolo ottenuto, devono essere validati dal laboratorio. Lo stesso metodo deve essere usato per eseguire la titolazione degli IgG totali sia nel sangue sia nel liquido cefalo-rachidiano. Se il titolo degli IgG totali è prossimo a zero, la formula non deve essere applicata in quanto effettua calcoli non affidabili.

La suddetta formula di calcolo deve essere validata per l'uso dal laboratorio prima di definire la diagnosi di neuroborreliosi.

^aIl rapporto invariabile tra volume di liquido cefalo-rachidiano e volume di siero usati nel test LIAISON® Borrelia IgG è 10.

15. LIMITI DEL DOSAGGIO

Le prestazioni metodologiche del kit non sono definite se i test LIAISON® Borrelia sono utilizzati per la rilevazione degli indicatori sierologici di *Borrelia burgdorferi* insieme con i dosaggi di altri produttori. In questo caso, gli utilizzatori sono responsabili di stabilire le loro prestazioni metodologiche.

Per ottenere risultati affidabili è necessario attenersi strettamente alle istruzioni per l'uso e possedere una adeguata manualità tecnica.

Contaminazione batterica dei campioni o inattivazione con il calore possono influenzare i risultati del saggio.

I risultati del test sono riportati in maniera quantitativa come positivi o negativi per la presenza di IgG anti-*Borrelia burgdorferi*. Tuttavia, la diagnosi di una malattia infettiva non deve essere formulata sulla base del risultato di un singolo dosaggio, ma questo deve essere valutato insieme ad altri riscontri clinici, procedure diagnostiche e al giudizio del medico.

Campioni di liquido cefalo-rachidiano prediluuti possono condurre a risultati incerti a causa dei limiti tecnici legati alla diluizione dei campioni impostata utilizzata nel test.

La terapia antibiotica durante gli stadi precoci della malattia impedisce spesso lo sviluppo della risposta immunitaria.

Non è possibile scambiare gli integrali fra i diversi analizzatori (LIAISON®, LIAISON® XL e LIAISON® XS). Quando un integrale è stato inserito in un particolare tipo di analizzatore, dovrà essere sempre utilizzato su quel tipo di analizzatore fino ad esaurimento. A causa di esigenze di tracciabilità derivanti da quanto sopra indicato si richiede di concludere il follow-up dei pazienti con lo stesso tipo di strumento (LIAISON®, LIAISON® XL o LIAISON® XS) senza effettuare scambi o spostamenti.

16. PRESTAZIONI METODOLOGICHE DEL KIT

16.1. Specificità analitica

La specificità analitica è definita come la capacità del test di rilevare esattamente l'analita in presenza di fattori potenzialmente interferenti nella matrice del campione (per esempio, anticoagulanti, emolisi, effetti di trattamenti del campione) o di reazioni crociate con anticorpi potenzialmente interferenti.

Interferenze. Studi controllati su fattori potenzialmente interferenti hanno dimostrato che le prestazioni del test in campioni di siero o plasma non sono influenzate da anticoagulanti (sodio citrato, EDTA, eparina), emolisi (fino a 1000 mg/dL di emoglobina), lipemia (fino a 3000 mg/dL di trigliceridi), bilirubinemia (fino a 20 mg/dL di bilirubina) o da cicli di congelamento e scongelamento dei campioni.

Studi controllati su fattori potenzialmente interferenti hanno dimostrato che le prestazioni del test in campioni di liquido cefalo-rachidiano non sono influenzate da emolisi (fino a 1000 mg/dL di emoglobina) o da cicli di congelamento e scongelamento dei campioni.

Reazioni crociate. Di regola, la presenza di anticorpi potenzialmente interferenti in campioni di siero o plasma non interferisce nel dosaggio. Gli anticorpi studiati sono stati: (a) immunoglobuline dirette contro vari agenti etiologici – come EBV, *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii* – (b) anticorpi anti-nucleari (ANA). La tabella seguente riassume lo studio eseguito.

Condizione clinica	Numero di casi	Risultato positivo per IgG
Infezione da EBV pregressa	17	1
Sifilide	48	3
Toxoplasmosi pregressa	14	0
Anticorpi anti-nucleari	20	0
Numero totale di campioni analizzati	99	4

16.2. Precisione con gli strumenti LIAISON® Analyzer (campioni di siero o plasma)

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni di riferimento a diverse concentrazioni di analita. I risultati si riferiscono ai gruppi di pazienti presi in considerazione all'interno dei laboratori dove il kit è stato sviluppato; non si tratta di prestazioni garantite, perché possono sussistere differenze tra i diversi laboratori.

Ripetibilità. Per valutare la ripetibilità nei laboratori dove il kit è stato sviluppato sono stati dosati venti replicati nella stessa sessione analitica.

Ripetibilità	H	I	J	K
Numero di determinazioni	20	20	20	20
Media (AU/mL)	1,6	36,4	63,0	135,1
Deviazione standard (AU/mL)	0,18	2,54	2,28	8,64
Coefficiente di variazione (%)	10,9	7,0	3,6	6,4
Valore minimo (AU/mL)	1,4	32,5	59,7	120,3
Valore massimo (AU/mL)	2,1	41,4	69,0	158,9

Riproducibilità. Per valutare la riproducibilità sono stati dosati venti replicati in giorni diversi (due o tre sessioni analitiche al giorno), usando lo stesso strumento.

Riproducibilità	H	L	M	N
Numero di determinazioni	20	20	20	20
Media (AU/mL)	1,7	16,8	52,9	87,1
Deviazione standard (AU/mL)	0,29	1,67	5,10	8,64
Coefficiente di variazione (%)	16,9	10,0	9,7	9,9
Valore minimo (AU/mL)	1,3	13,9	43,6	71,0
Valore massimo (AU/mL)	2,5	20,4	64,1	104,9

16.3. Precisione con gli strumenti LIAISON® Analyzer (campioni di liquido cefalo-rachidiano)

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni di riferimento a diverse concentrazioni di analita. I risultati si riferiscono ai gruppi di pazienti presi in considerazione all'interno dei laboratori dove il kit è stato sviluppato; non si tratta di prestazioni garantite, perché possono sussistere differenze tra i diversi laboratori.

Ripetibilità. Per valutare la ripetibilità nei laboratori dove il kit è stato sviluppato sono stati dosati dieci replicati nella stessa sessione analitica.

Ripetibilità	1	2	3	4	5	6
Numero di determinazioni	10	10	10	10	10	10
Media (AU/mL)	2,77	8,64	35,04	99,54	148,94	195,38
Deviazione standard (AU/mL)	0,05	0,23	0,75	4,30	6,06	9,04
Coefficiente di variazione (%)	1,74	2,68	2,13	4,32	4,07	4,63
Valore minimo (AU/mL)	2,70	8,20	34,00	94,50	141,10	176,70
Valore massimo (AU/mL)	2,80	9,00	36,50	106,30	157,80	210,80

Riproducibilità. Per valutare la riproducibilità sono stati dosati dieci replicati in cinque giorni diversi (due sessioni analitiche al giorno), usando lo stesso strumento.

Riproducibilità	1	2	3	4	5	6
Numero di determinazioni	10	10	10	10	10	10
Media (AU/mL)	3,10	9,10	33,27	89,51	146,64	175,57
Deviazione standard (AU/mL)	0,54	0,69	3,39	9,39	11,36	15,94
Coefficiente di variazione (%)	17,34	7,56	10,18	10,49	7,75	9,08
Valore minimo (AU/mL)	2,10	7,60	26,90	73,40	131,30	145,20
Valore massimo (AU/mL)	3,50	9,70	36,70	106,50	165,40	198,80

16.4. Precisione con gli strumenti LIAISON® XL Analyzer (campioni di siero o plasma)

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni di riferimento a diverse concentrazioni di analita. La variabilità osservata non ha dato luogo ad errata classificazione dei campioni.

Ripetibilità. Per valutare la ripetibilità sono stati dosati venti replicati nella stessa sessione analitica.

Ripetibilità	1	2	3	4	5	6	7	Contr. negativo	Contr. positivo
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (AU/mL)	7,253	22,86	24,88	42,35	52,98	88,03	106,4	0,7324	31,70
Deviazione standard	0,37	1,51	2,34	2,98	2,58	8,69	10,90	0,056	1,12
Coefficiente di variazione (%)	5,0	6,6	9,4	7,0	4,9	9,9	10,2	7,6	3,5
Valore minimo	6,280	19,76	17,79	35,74	48,55	59,36	80,08	0,5898	29,53
Valore massimo	7,844	25,45	27,33	47,12	59,04	96,45	118,0	0,8157	33,13

Riproducibilità. Per valutare la riproducibilità sono stati dosati venti replicati in giorni diversi (una o due sessioni analitiche al giorno).

Riproducibilità	1	3	8	4	5	6	7	Contr. negativo	Contr. positivo
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (AU/mL)	7,416	28,31	29,24	47,24	61,72	94,58	116,3	0,9386	34,66
Deviazione standard	0,41	2,49	1,97	3,00	5,10	11,70	15,35	0,10	2,57
Coefficiente di variazione (%)	5,5	8,8	6,8	6,4	8,3	12,4	13,2	11,1	7,4
Valore minimo	6,592	23,99	25,90	41,44	53,59	69,30	77,96	0,7476	30,84
Valore massimo	7,959	32,79	34,52	52,23	70,10	125,3	140,5	1,097	39,61

16.5. Precisione con gli strumenti LIAISON® XL Analyzer (campioni di liquido cefalo-rachidiano)

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni di riferimento a diverse concentrazioni di analita. La variabilità osservata non ha dato luogo ad errata classificazione dei campioni.

Ripetibilità. Per valutare la ripetibilità sono stati dosati venti replicati nella stessa sessione analitica.

Ripetibilità	1	2	3	4	Controllo negativo	Controllo positivo
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20
Media (AU/mL)	10,82	21,70	138,1	328,9	0,01491	49,37
Deviazione standard (AU/mL)	0,42	1,29	16,37	23,96	0,020	1,80
Coefficiente di variazione (%)	3,9	5,9	11,8	7,0	133,4	3,6
Valore minimo (AU/mL)	9,822	18,19	96,61	283,1	0,0000	46,48
Valore massimo (AU/mL)	11,34	23,14	158,2	366,9	0,08103	53,46

Riproducibilità. Per valutare la riproducibilità sono stati dosati venti replicati in giorni diversi (una o due sessioni analitiche al giorno).

Riproducibilità	1	2	3	4	Controllo negativo	Controllo positivo
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20
Media (AU/mL)	12,05	22,58	135,8	268,1	0,1096	56,54
Deviazione standard (AU/mL)	1,38	2,12	34,09	12,53	0,060	3,97
Coefficiente di variazione (%)	11,5	9,4	25,1	4,7	55,0	7,0
Valore minimo (AU/mL)	10,14	18,56	64,03	246,0	0,02772	49,77
Valore massimo (AU/mL)	15,19	25,93	193,9	295,0	0,2496	61,97

16.6. Precisione con gli strumenti LIAISON® XS Analyzer (campioni di siero o plasma)

Uno studio di precisione della durata di cinque giorni è stato condotto su tre analizzatori LIAISON® XS per verificare la precisione con il dosaggio LIAISON® Borrelia IgG. Nella preparazione del protocollo di analisi è stato consultato il documento CLSI EP15-A3.

Per lo studio è stato utilizzato un pannello codificato composto da 6 campioni congelati.

I campioni sono stati preparati raggruppando campioni con titolo simile in modo da rappresentare livelli negativi, borderline e positivi.

Anche il set di controlli LIAISON® Control Borrelia IgG è stato incluso nello studio di cinque giorni.

Il pannello codificato è stato analizzato su tre analizzatori LIAISON® XS, in replicati di sei in un'unica sessione analitica per giorno, per 5 giorni operativi.

Il valore medio, la deviazione standard e il coefficiente di variazione (CV %) dei risultati sono stati calcolati per ogni campione analizzato per ciascuno strumento e tra gli strumenti.

Ripetibilità.

Ripetibilità	8	9	10	11	12	13	Controllo negativo*	Controllo positivo
Numero di determinazioni	90	90	90	90	90	90	90	90
Media (AU/mL)	6,913	9,812	16,70	29,40	39,94	85,14	1147	29,52
Deviazione standard	0,161	0,217	0,517	0,680	0,932	2,657	35,73	0,746
Coefficiente di variazione (%)	2,3	2,2	3,1	2,3	2,3	3,1	3,1	2,5
Valore minimo	6,038	8,913	12,89	26,52	36,30	74,50	1024	25,58
Valore massimo	7,668	10,80	17,64	31,02	43,34	92,79	1324	32,14

*Il controllo negativo è espresso in RLU perché esterno al range del test

Riproducibilità.

Riproducibilità	8	9	10	11	12	13	Controllo negativo*	Controllo positivo
Numero di determinazioni	90	90	90	90	90	90	90	90
Media (AU/mL)	6,913	9,812	16,70	29,40	39,94	85,14	1147	29,52
Deviazione standard	0,190	0,263	0,593	0,772	1,104	3,009	60,38	1,001
Coefficiente di variazione (%)	2,7	2,7	3,6	2,6	2,8	3,5	5,3	3,4
Valore minimo	6,038	8,913	12,89	26,52	36,30	74,50	1024	25,58
Valore massimo	7,668	10,80	17,64	31,02	43,34	92,79	1324	32,14

*Il controllo negativo è espresso in RLU perché esterno al range del test

16.7. Precisione con gli strumenti LIAISON® XS Analyzer (campioni di liquido cefalo-rachidiano)

Uno studio di precisione della durata di cinque giorni è stato condotto su tre analizzatori LIAISON® XS per verificare la precisione con il dosaggio LIAISON® Borrelia IgG. Nella preparazione del protocollo di analisi è stato consultato il documento CLSI EP15-A3.

Per lo studio è stato utilizzato un pannello codificato composto da 3 campioni congelati.

I campioni sono stati preparati raggruppando campioni con titolo simile in modo da rappresentare livelli negativi, borderline e positivi.

Anche il set di controlli LIAISON® Control Borrelia IgG è stato incluso nello studio di cinque giorni.

Il pannello codificato è stato analizzato su tre analizzatori LIAISON® XS, in replicati di sei in un'unica sessione analitica per giorno, per 5 giorni operativi.

Il valore medio, la deviazione standard e il coefficiente di variazione dei risultati sono stati calcolati per ogni campione analizzato per ciascuno strumento e tra gli strumenti.

Ripetibilità.

Ripetibilità	5	6	7	Controllo negativo*	Controllo positivo
Numero di determinazioni	90	90	90	90	90
Media (AU/mL)	7,055	32,23	108,7	400	51,06
Deviazione standard (AU/mL)	0,148	0,866	5,901	18,15	1,764
Coefficiente di variazione (%)	2,1	2,7	5,4	4,5	3,5
Valore minimo (AU/mL)	6,403	27,33	71,37	357	42,14
Valore massimo (AU/mL)	7,536	34,19	122,5	462	55,43

*Il controllo negativo è espresso in RLU perché esterno al range del test

Riproducibilità.

Riproducibilità	5	6	7	Controllo negativo*	Controllo positivo
Numero di determinazioni	90	90	90	90	90
Media (AU/mL)	7,055	32,23	108,7	400	51,06
Deviazione standard (AU/mL)	0,201	0,961	6,280	24,27	2,080
Coefficiente di variazione (%)	2,9	3,0	5,8	6,1	4,1
Valore minimo (AU/mL)	6,403	27,33	71,37	357	42,14
Valore massimo (AU/mL)	7,536	34,19	122,5	462	55,43

*Il controllo negativo è espresso in RLU perché esterno al range del test

16.8. Esattezza (campioni di siero o plasma)

L'esattezza del dosaggio LIAISON® Borrelia IgG è stata controllata mediante il test di diluizione.

Test di diluizione. Sono state dosate diluizioni scalari di quattro sieri a concentrazione elevata di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* effettuate con il diluente dei campioni. Le concentrazioni misurate di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* ottenute in funzione delle concentrazioni attese sono state analizzate con la regressione lineare. I coefficienti di correlazione (r) erano compresi tra 0,995 e 0,999.

Diluizione	Concentrazione attesa, AU/mL	Concentrazione misurata, AU/mL	% Recupero	Diluizione	Concentrazione attesa, AU/mL	Concentrazione misurata, AU/mL	% Recupero
in toto	—	112,5	—	in toto	—	144,3	—
1:2	56,3	43,8	78,0	1:2	72,2	60,6	84,0
1:4	28,1	23,9	85,0	1:4	36,1	32,1	89,0
1:8	14,1	13,7	97,0	1:8	18,0	19,7	109,0
1:16	7,0	6,4	91,0	1:16	9,0	7,7	85,0
1:32	3,5	2,7	77,0	1:32	4,5	3,0	67,0
in toto	—	176,6	—	in toto	—	184,0	—
1:2	88,3	99,0	112,0	1:2	92,0	84,4	92,0
1:4	44,2	45,4	103,0	1:4	46,0	48,8	106,0
1:8	22,1	22,4	101,0	1:8	23,0	24,4	106,0
1:16	11,0	9,9	90,0	1:16	11,5	13,7	119,0
1:32	5,5	4,4	80,0	1:32	5,8	6,4	111,0
				1:64	2,9	2,6	90,0

16.9. Esattezza (campioni di liquido cefalo-rachidiano)

L'esattezza del dosaggio LIAISON® Borrelia IgG è stata controllata mediante il test di diluizione.

Test di diluizione. Sono state dosate diluizioni scalari di quattro campioni di liquido cefalo-rachidiano a concentrazione elevata di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* effettuate con il diluente dei campioni. Le concentrazioni misurate di IgG anti-*Borrelia burgdorferi* ottenute in funzione delle concentrazioni attese sono state analizzate con la regressione lineare. I coefficienti di correlazione (r) erano compresi tra 0,997 e 0,999.

Diluizione	Concentrazione attesa, AU/mL	Concentrazione misurata, AU/mL	% Recupero	Diluizione	Concentrazione attesa, AU/mL	Concentrazione misurata, AU/mL	% Recupero
in toto	—	141,0	—	in toto	—	141,9	—
1:2	70,5	78,3	111,1	1:2	71,0	67,2	94,7
1:4	35,3	43,1	122,3	1:4	35,5	31,3	88,2
1:8	17,6	23,0	130,5	1:8	17,7	16,7	94,2
1:16	8,8	12,2	138,4	1:16	8,9	8,0	90,2
1:32	4,4	6,1	138,4	1:32	4,4	3,0	67,7
1:64	2,2	2,2	99,9				
in toto	—	184,7	—	in toto	—	196,4	—
1:2	92,4	85,1	92,1	1:2	98,2	101,2	103,1
1:4	46,2	40,3	87,3	1:4	49,1	56,8	115,7
1:8	23,1	20,4	88,4	1:8	24,6	26,4	107,5
1:16	11,5	10,1	87,5	1:16	12,3	14,4	117,3
1:32	5,8	4,6	79,7	1:32	6,1	7,0	114,1
				1:64	3,1	2,8	91,2

16.10. Effetto saturazione ad alte dosi

Quando si dosano campioni contenenti concentrazioni anticorpali estremamente elevate, è possibile ottenere dei livelli apparenti di anticorpo inferiori al reale per effetto della saturazione. Un metodo ben ottimizzato a due incubazioni esclude però che si ottengano risultati grossolanamente sottostimati, perché il segnale analitico resta sempre elevato (curva a saturazione).

La presenza di un effetto saturazione per il dosaggio LIAISON® Borrelia IgG è stata valutata analizzando tre campioni di siero e quattro campioni di liquido cefalo-rachidiano positivi per IgG anti-*Borrelia burgdorferi* ad alto titolo. Tutti i campioni hanno presentato valori di concentrazione al di sopra dell'intervallo di dosaggio, come ci si aspetta da campioni ad alto titolo, indicando che la classificazione dei campioni resta corretta.

17. DATI CLINICI

17.1. Specificità e sensibilità diagnostiche (campioni di siero o plasma)

La specificità e la sensibilità diagnostiche sono state stimate dosando 394 campioni di diverse popolazioni provenienti da centri di raccolta ubicati in aree endemiche (Germania e Nord-Est dell'Italia). I campioni sono stati esaminati con diversi metodi di confronto e si sono impiegati la regola del consenso generale e i dati clinici e sierologici disponibili per stabilire i risultati attesi.

Specificità diagnostica. Sono stati analizzati 100 campioni di siero prelevati da soggetti che vivono in un'area endemica per la borreliosi e sono stati classificati negativi con test di riferimento (dosaggio immunoenzimatico, Western blot). Nello stesso gruppo di soggetti, il test Borrelia IgG ha fornito risultati negativi con specificità diagnostica del 98,0% (intervallo di confidenza al 95%: 93,0-100%).

Sensibilità diagnostica. 294 campioni di siero prelevati da pazienti affetti da borreliosi di Lyme clinicamente caratterizzata sono stati analizzati con il test Borrelia IgG. Sono stati ottenuti i seguenti dati di sensibilità diagnostica.

Condizione clinica	Numero di casi	Risultato per IgG	
		% di campioni positivi	Intervallo di confidenza al 95%
Erythema chronicum migrans	98	66,3	56,1-75,5
Neuroborreliosi	87	90,8	82,7-95,9
Artrite	109	93,6	87,2-97,4
Totale	294	83,7	78,9-87,7

I risultati dubbi non sono stati presi in considerazione per il calcolo della sensibilità diagnostica.

17.2. Concordanza diagnostica (campioni di liquido cefalo-rachidiano)

In uno studio clinico, sono stati analizzati 209 campioni di liquido cefalo-rachidiano di routine con il test LIAISON® Borrelia IgG e mediante un dosaggio immunoenzimatico di riferimento. Non sono stati calcolati indici anticorpali ma i risultati dei campioni sono stati interpretati seguendo l'interpretazione specifica della matrice del liquido cefalo-rachidiano. I campioni non sono stati clinicamente caratterizzati ma sono stati prelevati da soggetti esaminati per sospetta infezione da *Borrelia burgdorferi* che vivono in un'area endemica per la borreliosi (Germania). Cinque campioni sono stati classificati positivi e 194 campioni sono stati classificati negativi con entrambi i test, due campioni sono stati classificati negativi con il dosaggio immunoenzimatico di riferimento e positivi con LIAISON® e cinque campioni sono stati classificati positivi con il dosaggio immunoenzimatico di riferimento e negativi con LIAISON®. Tre campioni sono stati classificati dubbi con uno o entrambi i test e pertanto sono stati esclusi dall'analisi dei risultati. La concordanza diagnostica è stata di 96,6% (199/206) - intervallo di confidenza al 95%: 93,1-98,6%.

In un altro studio clinico sono stati analizzati 27 campioni di liquido cefalo-rachidiano con il test LIAISON® Borrelia IgG e con un dosaggio immunoenzimatico di riferimento. I campioni sono stati prelevati da pazienti affetti da neuroborreliosi clinicamente caratterizzata. 26 campioni sono stati classificati positivi con entrambi i test e un campione è stato classificato negativo con il dosaggio immunoenzimatico di riferimento e positivo con LIAISON®. La concordanza diagnostica è stata di 96,3% (26/27) - intervallo di confidenza al 95%: 81,0-99,9%.

17.3. Concordanza diagnostica mediante indice anticorpale

In uno studio clinico sono state analizzate con i test quantitativi LIAISON® Borrelia IgG e IgM e con un test quantitativo ELISA (marchio CE) di riferimento, 90 coppie di campioni di liquido cefalo-rachidiano e siero mediante un'analisi di routine svolta da un ospedale tedesco. I campioni non sono stati clinicamente caratterizzati, ma sono stati prelevati da soggetti esaminati per sospetta infezione da Borrelia burgdorferi che vivono in un'area endemica per la borreliosi (Germania). 50 coppie di campioni hanno evidenziato un aumento dell'AI sopra a 1,5 con il metodo ELISA di riferimento, per IgG o per IgM. Di queste 50 coppie, 34 sono state classificate in modo concordante per gli indici anticorpali di IgG e IgM con i test ELISA e LIAISON® (Tabella 1), diversamente dalle altre 16 coppie (Tabella 2). Per 1 coppia di campioni non è stato possibile completare le determinazioni e pertanto è stata esclusa dai calcoli. 39 coppie di campioni avevano un AI < 1,5 o concentrazioni di IgG e IgM anti-Borrelia non rilevabili nel liquido cefalo-rachidiano, né con il metodo di riferimento ELISA né con i test quantitativi LIAISON® Borrelia.

Tabella 1

AI ELISA		Risultati congruenti fra i due test	AI LIAISON®	
IgG +	IgM +	26	IgG +	IgM +
IgG +	IgM -	8	IgG +	IgM -
IgG -	IgM +	0	IgG -	IgM +
IgG -	IgM -	39	IgG -	IgM -

Tabella 2

AI ELISA		Risultati incongruenti fra i due test	AI LIAISON®	
IgG +	IgM +	1	IgG +	IgM -
IgG +	IgM -	10	IgG +	IgM +
IgG +	IgM -	1	IgG -	IgM -
IgG -	IgM +	1	IgG +	IgM +
IgG -	IgM +	1	IgG +	IgM -
IgG -	IgM +	1	IgG -	IgM -
IgG -	IgM -	1	IgG -	IgM +

In base a questi risultati la sensibilità diagnostica ottenuta per la determinazione dell'AI su coppie di campioni di siero/liquido cefalo-rachidiano per il test LIAISON® Borrelia IgG è stata del 97,8% (45/46, intervallo di confidenza al 95%: 88,5-99,9%), mentre la specificità diagnostica ottenuta è stata del 95,3% (41/43, intervallo di confidenza del 95%: 84,2-99,4%).

LIAISON® Control Borrelia IgG (REF 310881), Borrelia IgG Liquor (REF 310882)

1. FINALITÀ DEL TEST

I controlli LIAISON® Borrelia IgG e Borrelia IgG Liquor (negativo e positivo) devono essere impiegati nei saggi immunologici di chemiluminescenza (CLIA) LIAISON® come mezzo per controllare l'affidabilità delle sessioni di dosaggio. Le prestazioni metodologiche dei controlli LIAISON® Borrelia IgG non sono definite con altri dosaggi o strumenti automatici diversi da LIAISON®, LIAISON® XL e LIAISON® XS.

LIAISON® Analyzer. Il certificato di analisi fornisce informazioni specifiche sul lotto di controlli che devono essere inserite manualmente nel software dello strumento prima di caricare i flaconi dei controlli nello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per i dettagli tecnici.

LIAISON® XL Analyzer. I codici a barre riportati nel certificato di analisi, nell'apposito spazio, forniscono informazioni specifiche sul lotto di controlli e devono essere letti dal lettore manuale di codici a barre dello strumento LIAISON® XL Analyzer prima di caricare i flaconi dei controlli nello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

LIAISON® XS Analyzer. I codici a barre riportati nel certificato di analisi, nell'apposito spazio, forniscono informazioni specifiche sul lotto di controlli e devono essere letti dal lettore manuale di codici a barre dello strumento LIAISON® XS Analyzer prima di caricare i flaconi dei controlli nello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

2. MATERIALI FORNITI

LIAISON® Control Borrelia IgG (REF 310881)

Controllo negativo (2 x 0,7 mL)	CONTROL-	Siero/plasma umano non reattivo per IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> , stabilizzato in tampone PBS, sieroalbumina bovina, 0,2% ProClin® 300.
Controllo positivo (2 x 0,7 mL)	CONTROL+	Siero/plasma umano reattivo per IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> , stabilizzato in tampone PBS, sieroalbumina bovina, 0,2% ProClin® 300 e un colorante giallo inerte.

LIAISON® Control Borrelia IgG Liquor (REF 310882)

Controllo negativo (2 x 1,5 mL)	CONTROL-	Matrice proteica umana non reattiva per IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> , stabilizzata in tampone PBS, sieroalbumina bovina, 0,2% ProClin® 300.
Controllo positivo (2 x 1,5 mL)	CONTROL+	Matrice proteica umana reattiva per IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> , stabilizzata in tampone PBS, sieroalbumina bovina, 0,2% ProClin® 300 e un colorante giallo inerte.

Tutti i reattivi sono forniti pronti per l'uso. L'intervallo delle concentrazioni di ogni controllo è stampato sul certificato di analisi e indica i limiti stabiliti da DiaSorin per i valori dei controlli ottenuti con dosaggi affidabili. Ogni laboratorio è responsabile di adottare limiti diversi per soddisfare esigenze specifiche.

3. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- I controlli non sono specifici per lotto di kit. Si possono scambiare con lotti diversi di integrale di reattivi.
- Tutti i materiali utilizzati per la fabbricazione dei componenti di questo kit sono stati analizzati e trovati non reattivi per la presenza di HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 ed anti-HIV-2. Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può dare assoluta certezza che siano assenti agenti patogeni, tutto il materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infettivo e manipolato come tale.
- Osservare le precauzioni necessarie per la manipolazione dei reattivi di laboratorio.
- I rifiuti devono essere smaltiti in accordo con la regolamentazione locale.

4. REGOLE DI SICUREZZA

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici durante l'esecuzione del dosaggio.

Non pipettare con la bocca.

Evitare il contatto diretto con il materiale potenzialmente infetto, indossando indumenti da laboratorio, occhiali protettivi e guanti monouso. Lavare accuratamente le mani al termine del dosaggio.

Evitare di provocare schizzi o aerosol. Ogni goccia di reattivo biologico deve essere rimossa con una soluzione di sodio ipoclorito allo 0,5% di cloro attivo ed il mezzo utilizzato deve essere trattato come materiale di rifiuto infetto.

Tutti i campioni e i reattivi contenenti materiali biologici usati per il saggio devono essere considerati potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi; i rifiuti devono essere maneggiati con cura e smaltiti secondo le linee guida del laboratorio e le disposizioni legislative vigenti in ciascun Paese. Qualsiasi materiale che deve essere riutilizzato deve essere trattato con processo di sterilizzazione adeguato in accordo alle leggi e alle linee guida applicabili localmente. Si raccomanda di verificare l'efficacia del ciclo di sterilizzazione/decontaminazione.

Non usare kit o componenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP) i reattivi pericolosi sono classificati ed etichettati come segue:

REATTIVI:	CONTROL- CONTROL+ (REF 310881) e CONTROL- CONTROL+ (REF 310882)
CLASSIFICAZIONE:	Skin sens. 1 H317
SEGNALAZIONI:	Attenzione
SIMBOLI/PITTOGRAMMI:	 GHS07 Punto esclamativo
FRASI DI PERICOLO:	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.
CONSIGLI DI PRUDENZA:	P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
CONTIENE: (solo le sostanze prescritte ai sensi dell'articolo 18 del Regolamento CE 1272/2008).	miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [CE n. 247-500-7] e 2-metil-2H -isotiazol-3-one [CE n. 220-239-6] (3:1). (ProClin® 300).

Per ulteriori informazioni consultare le Schede dati di sicurezza disponibili su www.diasorin.com.

5. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Al momento dell'arrivo, i controlli devono essere conservati a 2-8°C e mantenuti in posizione verticale per evitare il contatto della soluzione con il tappo del flacone. Non congelare. Se i controlli sono conservati sigillati in posizione verticale, essi sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza. Dopo l'apertura, i controlli sono stabili per due settimane se conservati refrigerati a 2-8°C tra due usi successivi. Evitare la contaminazione batterica dei controlli. Non usare i controlli oltre la data di scadenza indicata sulle etichette dei flaconi.

6. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- Mettere i flaconi dei controlli nel supporto C sullo strumento. Ogni soluzione di controllo permette di eseguire almeno 20 test.
- Il volume morto è 400 µL.
- Al momento dell'uso, equilibrare i controlli a temperatura ambiente (20-25°C) prima di aprire i flaconi e lasciarli nell'area campioni dello strumento solo durante il tempo necessario ad eseguire il test di controllo di qualità.
- Dopo l'uso, tappare i flaconi al più presto e conservarli a 2-8°C in posizione verticale.
- Durante la manipolazione dei controlli, adottare le precauzioni necessarie per evitare la contaminazione microbica.

7. MANIPOLAZIONE

- Assicurarsi che due controlli identici (negativi o positivi) non siano posti uno dopo l'altro nel supporto sullo strumento e analizzati in sequenza.
- Fare riferimento al manuale operativo dello strumento LIAISON® per informazioni più dettagliate.

8. VALORI ATTESI

I valori obiettivo e gli intervalli delle concentrazioni di IgG anti-*Borrelia* dei controlli sono riportati sul certificato di analisi. Questi sono stati stabiliti considerando la variabilità delle sessioni analitiche rispetto alla curva predefinita memorizzata dal fabbricante, allo scopo di garantire l'accuratezza dei risultati analitici e di ottenere indicazioni sulla stabilità e il deterioramento dei reattivi. Se i valori sperimentali dei controlli sono ripetutamente al di fuori degli intervalli predefiniti, il test molto probabilmente non è stato eseguito in modo corretto.

REFERENCES

- W. BURGDORFER, A. BARBOUR, S. HAYES, J. BENACH, E. GRUNWALD, J. DAVIS
Lyme disease, a tick-borne spirochetosis?
Science, **216** : 1317-1319 (1982).
- C. EIKEN, V. SHARMA, T. KLABUNDE, M. LAWRENZ, J. HARDMAN, S. NORRIS, J. SACCHETTINI
Crystal structure of Lyme disease variable surface antigen VlsE of *Borrelia burgdorferi*.
J. Biol. Chem., **277** (24) : 21691-21696 (2002).
- B.P. FUNG, G.L. MCHUGH, J.M. LEONG, A.C. STEERE
Humoral immune response to outer surface protein C of *Borrelia burgdorferi* in Lyme disease: role of the immunoglobulin M response in the serodiagnosis of early infection.
Infection Immunity, **62** (8) : 3213-3221 (1994).
- H. GOOSSENS, A. VAN DEN BOGAARD, M. NOHLMANS
Evaluation of fifteen commercially available serological tests for diagnosis of Lyme borreliosis.
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., **18** : 551-560 (1999).
- U. HAUSER, H. KRAHL, H. PETERS, V. FINGERLE, B. WILSKE
Impact of strain heterogeneity on Lyme disease serology in Europe: comparison of ELISA using different species of *Borrelia burgdorferi sensu lato*.
J. Clin. Microbiol., **36** (2) : 427-436 (1998).
- U. HAUSER, G. LEHNERT, B. WILSKE
Diagnostic value of proteins of three *Borrelia* species (*Borrelia burgdorferi sensu lato*) and implications for development and use of recombinant antigens for serodiagnosis of Lyme borreliosis in Europe.
Clin. Diagn. Lab. Immunol., **5** (4) : 456-462 (1998).
- K. INDEST, J. HOWELL, M. JACOBS, D. SCHOLL-MEEKER, S. NORRIS, M. PHILIPP
Analysis of *Borrelia burgdorferi* VlsE gene expression and recombination in the tick vector.
Infection Immunity, **69** (11) : 7083-7090 (2001).
- S. JAURIS-HEIPKE, R. FUCHS, M. MOTZ, V. PREAC-MURSIC, E. SCHWAB, E. SOUTSCHEK, G. WILL, B. WILSKE
Genetic heterogeneity of the genes coding for the outer surface protein C (OspC) and the flagellin of *Borrelia burgdorferi*.
Med. Microbiol. Immunol., **182** : 37-50 (1993).
- R. KAISER, S. RAUER
Analysis of the intrathecal immune response in neuroborreliosis to a sonicated antigen and three recombinant antigens of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*.
Eur. J. Microbiol. Infect. Dis., **17** : 159-166 (1998).
- R. KAISER, S. RAUER
Advantage of recombinant borrelial proteins for serodiagnosis of neuroborreliosis.
J. Med. Microbiol., **48** : 5-10 (1999).
- M. LAWRENZ, J. HARDMAN, R. OWENS, J. NOWAKOWSKY, A.C. STEERE, G. WORMSER, S. NORRIS
Human antibody response to VlsE antigenic variation protein of *Borrelia burgdorferi*.
J. Clin. Microbiol., **37** (12) : 3997-4004 (1999).
- F. LIANG, E. ABERER, M. CINCO, L. GERN, C. HU, Y. LOBET, M. RUSCIO, P. VOET, V. WEYNANTS, M. PHILIPP
Antigenic conservation of an immunodominant invariable region of the VlsE lipoprotein among European pathogenic genospecies of *Borrelia burgdorferi sensu lato*.
J. Infect. Dis., **182** : 1455-1462 (2000).
- L. MAGNARELLI, M. LAWRENZ, S. NORRIS, E. FIKRIG
Comparative reactivity of human sera to recombinant VlsE and other *Borrelia burgdorferi* antigens in class-specific enzyme-linked immunosorbent assays for Lyme borreliosis.
J. Med. Microbiol., **51** : 649-655 (2002).
- J. OHNISHI, J. PIESMAN, A. DE SILVA
Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by ticks.
PNAS, **98** (2) : 670-675 (2001).
- S. PADULA, A. SAMPIERI, F. DIAS, A. SZCZEPANSKY, R. RYAN
Molecular characterization and expression of p23 (OspC) from a North American strain of *Borrelia burgdorferi*.
Infection Immunity, **61** (12) : 5097-5105 (1993).
- H. REIBER
Cerebrospinal fluid - physiology, analysis and interpretation of protein patterns for diagnosis of neurological diseases.
Multiple Sclerosis, **4** : 99-107 (1998).
- U. SCHULTE-SPECHTEL, G. LEHNERT, G. LIEGL, V. FINGERLE, C. HEIMERL, B. JOHNSON, B. WILSKE
Significant improvement of the recombinant *Borrelia*-specific immunoglobulin G immunoblot test by addition of VlsE and a DbpA homologue derived from *Borrelia garinii* for diagnosis of early neuroborreliosis.
J. Clin. Microbiol., **41** (3) : 1299-1303 (2003).
- A.C. STEERE, R. GRODZICKY, A. KOMBLATT, J. CRAFT, A. BARBOUR, W. BURGDORFER, G. SCHMIDT, E. JOHNSON, S. MALAWISTA
The spirochetal etiology of Lyme disease.
N. Engl. J. Med., **308** : 733-740 (1983).
- H. TUMANI, G. NÖLKER, H. REIBER
Relevance of cerebrospinal fluid variables for early diagnosis of neuroborreliosis.
Neurology, **45** : 1663-1670 (1995).
- G. WANG, A. VAN DAM, I. SCHWARTZ, J. DANKERT
Molecular typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato*: taxonomic, epidemiological and clinical implications.
Clin. Microbiol. Review, **12** (4) : 633-653 (1999).

Additional references

V. FINGERLE, F. BONELLI, U. SCHULTE-SPECHTEL, AND B. WILSKÉ

Detection of specific intrathecal antibody production in early neuroborreliosis by an IgG-ELISA based on a *Borrelia garinii* VlsE. Poster presented at the Conference of Lyme Borreliosis and other Tick-borne diseases, Vienna, Sept 2005.

V. FINGERLE, S. MATHES, U. SCHULTE-SPECHTEL, G. JINLIANG, C. HIZO-TEUFEL

Evaluation of a CLIA test for detection of *Borrelia burgdorferi* specific IgM-antibody production in cerebrospinal fluid. Poster presented at the ECCMID, Barcelona-Spain, Apr 2008.

PETER LANGE, ANNETTE SPREER, ROLAND NAU

Quantification of the synthesis of antibodies against *Borrelia burgdorferi*-specific antigens in the cerebrospinal fluid by chemiluminescent (CLIA) and enzyme immunoassay (EIA).

Poster presented at the ECCMID, Barcelona-Spain, Apr 2008.

TORBJORN KJERSTADIUS, LOVISA IVARSSON, FREDRIK ARONSSON

Comparison of three commercially available kits for the diagnosis of neuroborreliosis.

Poster presented at 11th Lyme Borreliosis International Conference, Irvine, California, USA, October 19-22, 2008.

A. MARANGONI, V. SAMBRI, S. ACCARDO, F. CAVRINI, V. MONDARDINI, A. MORONI, E. STORNI, R. CEVENINI

A Decrease in the Immunoglobulin G Antibody Response against the VlsE Protein of *Borrelia burgdorferi* Sensitive to Correlates with the Resolution of Clinical Signs in Antibiotic-Treated Patients with Early Lyme Disease.

Clinical and Vaccine Immunology, **13** : 525-529 (Apr. 2006).

200/007-881, 09 - 2020-10