



Blotsysteme für die Borreliose-Diagnostik: Hochsensitiv, hochspezifisch, automatisierbar

Neu

Anti-Borrelia-EUROLINE-RN-AT (IgG)



Neu

Anti-Borrelia-EUROLINE-RN-AT (IgM)



Bewährt

Anti-Borrelia-EUROLINE-WB (IgG, IgM)



- Zertifiziert gemäß EN ISO 9001 / EN 46001 / EN ISO 13485
- Entsprechend den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
- Zwei Alternativen stehen zur Verfügung:

1. Anti-Borrelia-EUROLINE-WB

basierend auf einem klassischen Borrelien-Vollantigen-Extrakt mit komplettem Antigenespektrum plus rekombinantem VlsE

2. Anti-Borrelia-EUROLINE-RN-AT

mit klassischen, authentischen, WB-aufgereinigten Antigenen (p83, p39), rekombinantem VlsE bzw. nativem OspC aus *B. burgdorferi*, *B. garinii* und *B. afzelii*, rekombinanten Designer-Antigenen (p18, p19, p20, p21, p58) und neuen Lipid-Antigenen

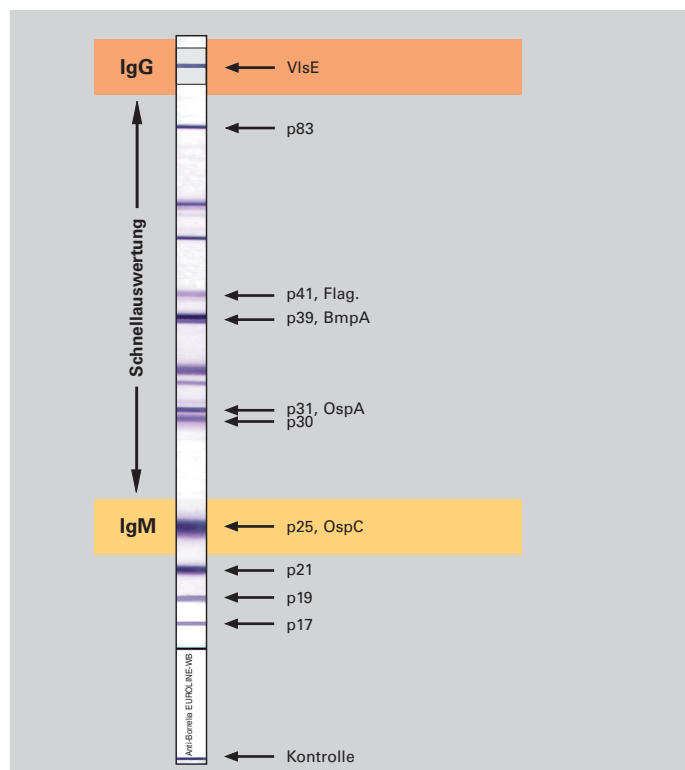


Anti-Borrelia-EUROLINE-WB – bewährte Borreliose-Diagnostik mit Borrelien-Vollantigenextrakt plus VlsE

EUROLINE-WB – eine Kombination aus Linienblot und Westernblot

Beim **Linienblot**-System **EUROLINE** werden aufgereinigte, biochemisch charakterisierte Antigene als parallele Linien an definierter Stelle auf die Membran gedruckt. Die Reaktionen können ohne Mühe abgelesen werden, allerdings ist das Spektrum verfügbarer Antigene begrenzt. Herkömmliche native **Westernblot**-Systeme enthalten das komplette Antigenespektrum von Kulturzellen, Geweben oder Infektionserregern, die einzelnen Proteine sind elektrophoretisch der Größe nach aufgetrennt. Die Antigenvielfalt auf dem Membranstreifen erschwert allerdings die Auswertung, wenn die Antigenbanden sehr eng nebeneinander liegen.

Der **EUROLINE-WB** kombiniert die Vorteile beider Methoden miteinander: Vorgefertigte **Westernblot-Streifen** werden mit **EUROLINE-Membranchips** bestückt, die zuvor mit affinitätschromatographisch aufgereinigten, nativen oder rekombinanten Antigenen bedruckt wurden. Für jedes Antigen wird die bestgeeignete Membran ausgewählt und das optimale Beschichtungsverfahren eingesetzt.



Warum wird VlsE als zusätzliches rekombinantes Antigen verwendet?

Eine Studie des Max-von-Pettenkofer-Instituts (ehemaliges nationales Referenzzentrum für Borrelien) zeigt, dass durch die zusätzliche Untersuchung der Antikörper gegen VlsE die serologische Trefferquote gegenüber Westernblots mit Vollextrakt um 20% gesteigert werden kann. Von allen untersuchten rekombinanten Antigenen besitzt VlsE die **höchste Sensitivität für den Nachweis einer Borrelien-Infektion** (Schulte-Spechtel et al., J. Clin. Microbiol. 41:1299-1303, 2003). Diese Resultate sind durch eine interne Studie bestätigt worden (Meyer et al., wissenschaftliche Präsentation zum 32. Kongress der dt. Gesellschaft für Rheumatologie, Frankfurt, 2003). Über 85% der IgG-positiven Seren werden allein durch die Beurteilung der VlsE-Bande auf einen Blick identifiziert. VlsE erfasst Antikörper gegen alle Borrelien-Spezies. Dadurch wird das Risiko einer durch Spezies-Unterschiede bedingten falsch-negativen Reaktion zehnmal geringer.

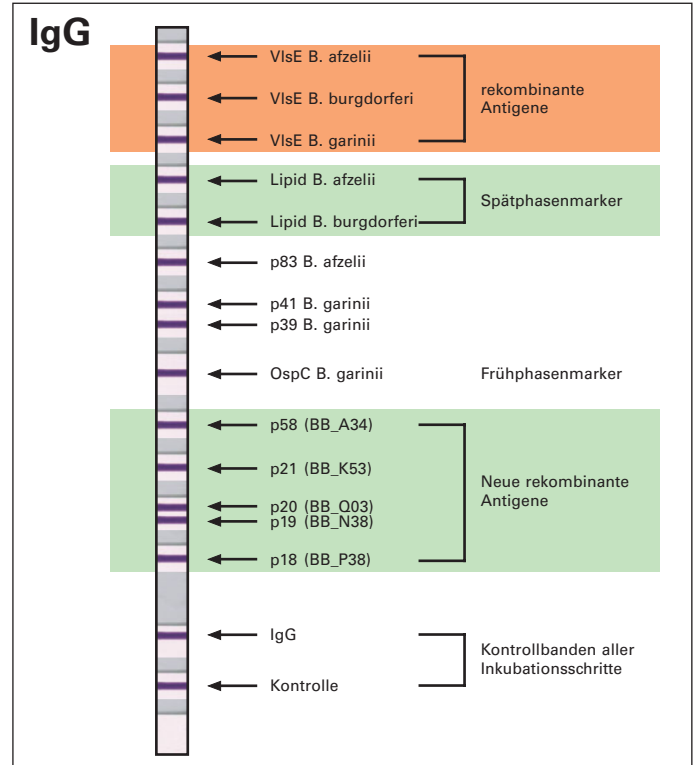
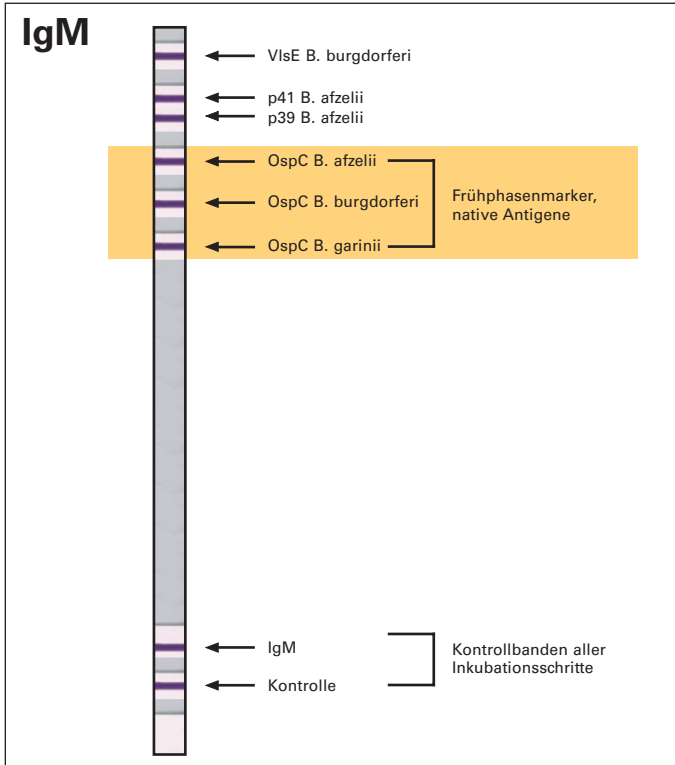
Qualitätsmerkmale des EUROIMMUN-Anti-Borrelia-EUROLINE-WB (Vollantigen plus VlsE)

Verschiedene Anti-Borrelia-Westernblots wurden miteinander verglichen und der Nutzen der VlsE-Komponente im Anti-Borrelia-EUROLINE-WB bewertet. Durch den Einsatz des VlsE konnte bei Patienten mit Erythema migrans (n=47) die serologische Trefferquote für Antikörper der Klasse IgG von 40% auf 62% gesteigert werden, bei Patienten mit Neuroborreliose (n=27) von 78% auf 93%. Bei Antikörpern der Klasse IgM bewirkt VlsE keine signifikante Zunahme der Sensitivität, hier spielen Antikörper gegen OspC (p25) die entscheidende Rolle. Untersucht man Anti-Borrelia-Antikörper der Klassen IgG **und** IgM, erhält man mit dem Anti-Borrelia-EUROLINE-WB eine Trefferquote von 89 - 100% für die verschiedenen Stadien der Borreliose (Seren von Prof. H.-J. Hagedorn, Herford; Dr. F. Blaes, Gießen u. a.).

Kollektiv	n	Anti-Borrelia-Ak (IgG)		Anti-Borrelia-Ak (IgM)		Anti-Borrelia-Ak (IgG/IgM)	
		herkömmlicher Anti-Borrelia-Westernblot	Anti-Borrelia-EUROLINE-WB mit VlsE	herkömmlicher Anti-Borrelia-Westernblot	Anti-Borrelia-EUROLINE-WB mit VlsE	herkömmlicher Anti-Borrelia-Westernblot	Anti-Borrelia-EUROLINE-WB mit VlsE
Erythema migrans	47	40%	62%	68%	70%	80%	89%
Neuroborreliose	27	78%	93%	48%	48%	85%	96%
Borreliose-Arthritis	33	94%	94%	15%	15%	94%	94%
Acrodermatitis chronica atrophicans	8	100%	100%	13%	13%	100%	100%



Anti-Borrelia-EUROLINE-RN-AT – neue spezifische Marker zur umfassenden Antikörperdiagnostik



Einmalige Zusammenstellung Borrelien-spezifischer Antigene

Bei der Auswahl der Antigene für den neuen Anti-Borrelia-EUROLINE-RN-AT wurden die biochemischen Charakteristika jedes einzelnen Borrelien-Antigens berücksichtigt, um die Proteine optimal auf dem Teststreifen zu präsentieren. So reagieren viele Patienten mit einer frischen Borrelien-Infektion gegen nativ gewonnenes OspC, es ist bislang jedoch noch niemandem gelungen, rekombinantes OspC in diagnostisch kompetenter Qualität herzustellen. Das VlsE lässt sich hingegen nicht aus einer Borrelien-Kultur gewinnen, weil es von den Bakterien nur dann gebildet wird, wenn sie im Rahmen einer Infektion unter einem Stress stehen, der durch die Immunreaktion des Wirtes erzeugt wird. Mit rekombinanten Techniken kann das VlsE jedoch durchaus hergestellt werden und so zeigen diese Beispiele, dass für ein optimales Testsystem rekombinante und native Antigene kombiniert werden sollten. Bei dem Einsatz von Tests, die nur rekombinante Antigene verwenden, wird in Kauf genommen, dass 25% aller Kontrollseren im IgM falsch positiv reagieren. Der neue Borrelia-EUROLINE vereint die Vorteile von Westernblot und Linienblot auf einem Teststreifen. Antigene wie p83, p39 und OspC, die in ihrer nativen Form am spezifischsten sind, wurden aus einem klassischen Westernblot nach digitaler Auswertung präzise ausgeschnitten und auf einen EUROLINE-Streifen gebracht. Darüber hinaus wurden immunreaktive Lipide aus Borreliemembranen extrahiert und linienförmig auf Membranen beschichtet. Zur Optimierung der Sensitivität wurden in einer bioinformatischen Analyse des Borreliengenoms 68 potenziell immunreaktive Proteine identifiziert und mittels molekularbiologischer Methoden rekombinant hergestellt. Die erhaltenen Antigene wurden anschließend durch molekulares Design hinsichtlich einer möglichst hohen Spezifität optimiert. Die Leistungsdaten des Borrelia-EUROLINE wurden durch einen Vergleich der Resultate mit dem EUROLINE-WB ermittelt (n=617). Im Rahmen einer anschließenden ROC-Analyse (receiver operating characteristics) ergab sich jeweils für die einzelnen Antigene die in der Tabelle aufgeführte Sensitivität und Spezifität.

Borrelien-Antigene	EUROLINE-RN-AT, IgM (n=617)	
	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
VlsE B. burgdorferi	4,9	99,4
p39	15,9	99,0
OspC nativ B. afzelii	88,2	99,0
OspC nativ B. burgdorferi	77,1	99,2
OspC nativ B. garinii	84,1	96,8

Borrelien-Antigene	EUROLINE-RN-AT, IgG (n=617)	
	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
VlsE B. afzelii	65,5	98,6
VlsE B. burgdorferi	88,5	98,6
VlsE B. garinii	67,6	95,3
Lipid B. afzelii	25,1	100,0
Lipid B. burgdorferi	25,1	99,6
p83	53,7	95,3
p39	61,3	98,6
OspC	48,7	95,7
p58 (BB_A34)	20,7	97,5
p21 (BB_K53)	8,9	99,3
p20 (BB_Q03)	7,1	100,0
p19 (BB_N38)	9,1	99,3
p18 (BB_P38)	22,4	99,3

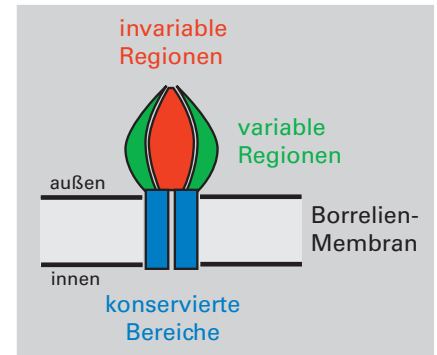


VlsE – das Hauptantigen für die Borrelien-Serologie

Was ist VlsE und welche Funktion hat es?

VlsE (variable major protein-like sequence, expressed) ist ein **Oberflächenprotein von Borrelia burgdorferi**, dessen überragende Bedeutung für die serologische Diagnostik der Borreliose bis vor einigen Jahren völlig übersehen wurde. VlsE spielt eine Schlüsselrolle in der Überlebensstrategie der Borrelien: Nach dem Eindringen in den Wirtsorganismus verändern die Borrelien ständig das auf der Oberfläche exprimierte VlsE und versuchen so, der Erkennung und Eliminierung durch das Immunsystem zu entgehen.

Das VlsE-Protein unterteilt sich in mehrere Abschnitte: Konservierte Bereiche, die als Transmembran-Domänen das VlsE in der Borrelienmembran verankern, sowie variable und invariable Regionen. Die nach außen gerichteten variablen Regionen des VlsE werden durch Rekombination ständig variiert, wodurch das angreifende Immunsystem immer wieder auf neue, veränderte Antigenepitope trifft. Die invariablen Regionen werden durch die variablen Regionen verdeckt und sind bei lebenden Borrelien dem direkten Zugriff des Immunsystems entzogen. Werden abgestorbene Borrelien von Antigen-präsentierenden Zellen prozessiert und somit das ganze VlsE in Kontakt mit dem Immunsystem gebracht, bildet der Wirtsorganismus auch **Antikörper gegen invariable und konservierte Bereiche des VlsE**. Diese eignen sich auf Grund der hohen Konservierung ihrer Zielantigene hervorragend zur Diagnostik der Borreliose: Mittels Enzymimmuntests (ELISA, EUROLINE-WB, EUROLINE) kann man eine Lyme-Borreliose allein schon durch den Nachweis der Antikörper gegen VlsE in über 85% der Fälle Spezies-übergreifend diagnostizieren.



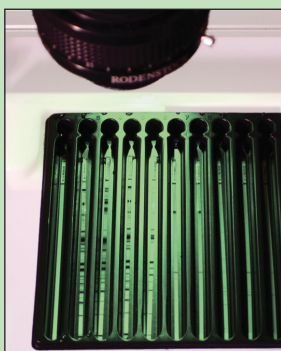
VlsE auf der Borrelien-Oberfläche

Automatische Prozessierung von Immunblotstreifen

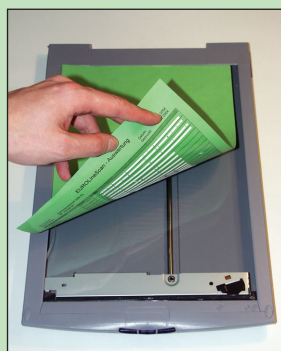
Mit dem **EUROBlotMaster** können nicht nur Borrelien-, sondern alle EUROIMMUN-Immunoblots (EUROLINE, EUROLINE-WB, Westernblot) standardisiert abgearbeitet werden. Dadurch ergibt sich eine bessere Präzision und Reproduzierbarkeit. Die inkubierten Streifen können mittels Flachbett-Scanner (**EUROBlotScanner**) oder mit einem Kamerasystem in der Inkubationswanne (**EUROBlotCamera**) optisch erfasst werden. Anschließend werden die Immunblots mit den von EUROIMMUN zur Verfügung gestellten Computerprogrammen **EUROLineScan** und **EUROLabOffice** maschinell ausgewertet und archiviert.



EUROBlotMaster



EUROBlotCamera



EUROBlotScanner

PatientenID: Serum 3 Test: EUROLINE Borrelia IgG
 Eingangsdatum: 14.03.2008 Rinne: 3
 Befund vom: 04.04.2008

EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG Automatische Auswertung der Teststreifen mit der EUROLineScan-Software

Antigen	Zeichen	o	(+)	+
VlsE Borrelia afzelii (VBa)	+			+
VlsE Borrelia burgdorferi (VBb)	+			
VlsE Borrelia garinii (VBg)	+			
Lipid Borrelia afzelii (LBA)	+			
Lipid Borrelia burgdorferi (LBB)	+			
p83 Borrelia afzelii (p83)	+			
Flagellin Borrelia garinii (p41)	+			
BmpA Borrelia garinii (p39)	+			
OspC Borrelia garinii (OspC)	+			
BB_A34 (p58)	+			
BB_K53 (p21)	+			
BB_Q03 (p20)	+			
BB_N38 (p19)	+			
BB_P38 (p19)	+			
Anti-human-IgG (IgG)	+			
Anti-human-IgM (IgM)	o			
Kontrolle (Ko)	+			
Etikett (Et)	o			

Klasse	Erläuterung
o	keine Färbung
(+)	schwache Färbung
+	starke Färbung

Untersuchung	Ergebnis
EUROLINE Borrelia IgG	positiv

Unterschrift: *Wandinger*

Automatisch erstellter Laborbefund aus EUROLineScan-Software