

VIROTECH Liquor/CSF Standards

Borrelia + VlsE IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC022L60

Borrelia IgM Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC022L80

CMV IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC113L60*

EBV IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC102L60

FSME/TBE IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC117L60

FSME/TBE IgM Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC117L80

HSV 1 (gG1) IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC130L60

HSV 2 (gG2) IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC131L60

HSV Screen IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC108L60

Masern/Measles IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC105L60

Masern/Measles IgM Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC105L80

Mumps IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC106L60

Rubella IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC109L60

VZV IgG Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC110L60

VZV IgM Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC110L80

VZV IgA Liquor/CSF Standards Rendelési szám: EC110L40

Kérjük, vegye figyelembe külön alkalmazási útmutatóval ellátott liquordiagnostikai eljárásunkat Rubellához IgG EC109L00

CSAK IN VITRO DIAGNOSZTIKAI CÉLOKRA

**VIROTECH Diagnostics GmbH
Löwenplatz 5
D- 65428 Rüsselsheim**

Tel.: +49-6142-6909-0

Fax: +49-6142-966613

<http://www.virotechdiagnostics.com>





0483

Tartalom

1. Alkalmazás célja.....	3
2. A teszt működési elve	3
3. A csomag tartalma.....	3
4. A teszt készlet és a felhasználásra kész reagensek tárolása és eltarthatósága.....	3
5. Óvintézkedések és biztonsági előírások	4
6. A vizsgálat elvégzése	4
6.1 Vizsgálati anyag.....	4
6.2 A reagensek előkészítése	4
6.3 A VIROTECH ELISA vizsgálat elvégzése.....	5
6.4 ELISA-processzor alkalmazása.....	5
7. A vizsgálati eredmények kiértékelése.....	6
7.1 A teszt helyes működésének ellenőrzése.....	6
7.2 Kiértékelési szempontok	6
7.3 Az antitestindex (AI) számítása (példával).....	6
7.4 Interpretáció.....	8
7.5 A teszt határai	8
8. Irodalom	8
9. A vizsgálat folyamatábrája vázlata.....	9

1. Alkalmazás célja

A liquor-standardok egy kalibrációs görbe készítésére szolgálnak, melyet a központi idegrendszer anitesttermelésének kimutatásában használnak, szérumból-liquor párok párhuzamos vizsgálata során. A liquorból és a szérumból egy kórokozóspezifikus hányados kerül kiszámításra. A kórokozóspezifikus hányados és a teljes immunglobulin hányados arányát anitestindexnek (AI) nevezzük.

2. A teszt működési elve

A humán szérumból és liquorból kimutatandó antitest immunkomplexet alkot a mikrotiter lemezre rögzített antigénnel. A meg nem kötött immunglobulinokat a mosási eljárás eltávolítja. Az említett immunkomplexhez kötődik az enzimkonjugátum. A meg nem kötött immunglobulinokat a mosási eljárás ismét eltávolítja. A szubsztátoldat (TMB) hozzáadása után az enzim (peroxidáz) aktivitása egy kék színanyagot képez, mely a fixáló (stop) oldat hozzáadása után sárga színűre változik.

A színes oldat extinkciója (OD) közvetlenül, egyenesen arányos az analizált, kórokozóspezifikus IgG-, IgM- ill. IgA-antitestek szérumból illetve liquor-koncentrációjával. A központi idegrendszer antitestképzésének kimutatásához szükség van a mért és extinkciós értékben kimutatott antitestkoncentráció mennyiségi meghatározására. Ezt a célt szolgálják a fokozatos kórokozóspezifikus antitest-koncentrációjú standardszérumból sorok, melyekből manuálisan vagy megfelelő számítógépes program segítségével egy standardgörbét lehet képezni. Ez a standardgörbe lehetővé teszi a megállapított OD-értékek átváltását önkényes, dimenzió nélküli mérési egységekre (öME). A megállapított mérési egységekből (öME) és a nephelometrián mért szérumból és liquor összes IgG-, IgM- ill. IgA-koncentrációból határozható meg az úgynevezett anitestindex (AI; számítását ld. 8.3). Az anitestindex a keresett kórokozó-specifikus antitesthányados a megfelelő teljes immunglobulin-hányados sokszorosaként illetve törtszeként adja meg. Az érték így függ a vér-agy gát egyedi állapotától. Az anitestindex ismeretében következtetni lehet a központi idegrendszerben folyó kórokozó-specifikus antitestképzés létre és mértékére. Ez az eljárás nem érvényes intratekális immunglobulin szintézis esetén, mivel ebben az esetben a össz-IgX-hányados nem alkalmazható vér-agy gát paraméterként és helyette az úgynevezett limesértéket kell alkalmazni (ld. limes számítás, 8.3.4.B).

3. A csomag tartalma

Standardok a kórokozó-specifikus antitestkoncentrációk mennyiségi meghatározásához, 4 üveg egyenként 1000 µl tartalommal, humán szérumból fehérjestaabilizátorokkal és tartósítószerrel, felhasználásra kész, 100 öME, 25 öME, 6,2 öME, 1,5 öME, (öME = önkényes mértékegység).

4. A teszt készlet és a felhasználásra kész reagensek tárolása és eltarthatósága

A teszt készletet 2-8°C között kell tárolni. Az egyes komponensek eltarthatósága azok címkéjén található; a kit eltarthatósága tekintetében lásd a minőségellenőrzés tanúsítványt.

1. A szükséges lyukak felhasználása után a fennmaradó lyukakat / csíkokat zárt tasakban, 2-8°C-on, nedvszívó anyaggal együtt kell tárolni. A reagenseket használat után további tárolásra azonnal 2-8°C-ra kell tenni.
2. A felhasználásra kész konjugátum és a TMB oldat fényérzékeny és így ezeket sötétben kell tárolni. Ha a szubsztátoldatot fény éri és ennek következtében elszíneződik, a továbbiakban nem használható fel. ki kell dobni.
3. Csak az elvégzendő teszthez szükséges mennyiségű felhasználásra kész konjugátumot illetve TMB-t vegye ki az üvegekből. A feleslegben kivett konjugátumot illetve TMB-t ki kell önteni, az üvegekbe azokat visszatölteni nem szabad.

Anyag	Állapot	Tárolás	Tartósság
Vizsgálati minták	Hígított	+2 és +8°C között	max. 6 óra
	Hígítatlan	+2 és +8°C között	1 hét
Kontrollok	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
Mikrotiterlemez	felbontás után	+2 és +8°C között (Tárolás a mellékelt tasakban szárítószerrel)	3 hónap
RF-SorboTech	Hígítatlan, felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
	Hígított	+2 és +8°C között	1 hét
Konjugátum	felbontás után	+2 és +8°C között (fénytől védve)	3 hónap
Tetrametil-benzidin (TMB)	felbontás után	+2 és +8°C között (fénytől védve)	3 hónap
PBS hígítópuffer (kék)	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
Leállítóoldat	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap

Mosóoldat	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
	Véghígított (Használatra kész)	+2 és +25°C között	4 hét

5. Óvintézkedések és biztonsági előírások

- Standardként csak tesztelt és HIV1-antitestekre, HIV2-antitestekre, HCV-antitestekre és Hepatitis-B felületi antigénekre negatív eredményt mutatott szérum kerül alkalmazásra. Ennek ellenére valamennyi minta, hígított minta, konjugátum és mikrotiter csík potenciálisan fertőző anyagnak tekintendő. A termékek kezelése a laboratóriumi munkára általánosan vonatkozó szabályok szerint történjen.
- A tartósítószer tartalmazó komponensek, a citrát fixáló (stop) oldat és a TMB irritálják a bőrt, a szemet és a nyálkahártyát. Az érintett testrészt folyó vízzel azonnal le kell mosni, és szükség esetén orvoshoz kell fordulni.
- A keletkezett hulladékot az érintett ország rendelkezéseinek megfelelően kell tárolni és elhelyezni.

6. A vizsgálat elvégzése

Csak a VIROTECH Diagnostics által előírt módszer pontos betartásával kapunk helyes eredményeket.

6.1 Vizsgálati anyag

Vizsgálati anyagként használható szérum és plazma (itt az antikoagulálás módjának nincs jelentősége), még akkor is, ha a csomagmellékletben csak szérumról van szó.

A szérummintáknál kérjük figyelembe venni:

A pácienshígításokat mindig frissen kell elkészíteni.

Hosszabb tároláshoz a szérumokat le kell fagyasztani. A többszöri felolvasztást kerülni kell.

- Csak friss, nem inaktivált szérumot szabad felhasználni.
- Hiperlipémiás, hemolitikus és mikrobiológiailag fertőzött mintákat, valamint zavaros szérumokat nem szabad felhasználni (hamis pozitív illetve negatív eredmények).

A liquormintáknál kérjük figyelembe venni:

A betegektől vett szérumot mindig frissen, közvetlenül a teszt előtt kell hígítani.

Hosszabb tárolás esetén a liquor mintákat javallott alikotokban -80°C-on fagyasztva tárolni az ismételt felolvasztás elkerülése érdekében.

- A vénás és lumbális punkciókat mindig közelítőleg egyidőben kell elvégezni.
- Csak optikailag tiszta, sejtmentesített, nem inaktivált liquort szabad felhasználni.
- Hemolitikus, mikrobiálisan fertőzött illetve zavaros liquort nem szabad felhasználni.
- Mélyhűtött liquor alkalmazható, ha felengedés után a 2. és 3. pontokban megfogalmazott feltételek teljesülnek.

6.2 A reagensek előkészítése

A VIROTECH Diagnostics System Diagnostik nagyfokú rugalmasságot kínál azért, hogy a hígító- és mosópufferek, a TMB és a citrát fixáló (stop) oldat valamint a konjugátum különböző paraméterek mellett és eltérő gyártási tételek esetén is alkalmazhatóak. A standardok paraméterspecifikusak, és csak a hozzájuk rendelt mikrotiter lemez sarzsokkal együtt használhatóak. A megfelelő szérumkészlet minőségi tanúsítványa felvilágosítást nyújt a mikrotiter lemez és standard sarzsok megengedett kombinációjáról.

- Állítsa be az inkubátorszekrény hőmérsékletét 37°C-ra és az inkubáció megkezdése előtt bizonyosodjon meg róla, hogy az elérte a beállított hőmérsékletet.
- Minden reagenst engedjen felmelegedni szobahőmérsékletre; csak ezután nyissa fel a tesztcsíkokat tartalmazó csomagot.
- Minden folyékony komponens jól rázzon fel használat előtt.
- A mosóoldat-koncentrátumot 1 l-re fel kell tölteni desztillált vagy demineralizált vízzel (ha a koncentrátumban esetleg kristályképződés látható, kérjük az oldatot hígítás előtt szobahőmérsékletre melegíteni, és használat előtt jól felrázni).
- IgM-diagnosztika: Előabszorpció RF-SorboTech-hel**
A specifikus IgM-antitestek kimutatását zavarhatja a túl magas IgG-titer illetve reumafaktorok jelenléte, hamis pozitív illetve negatív eredményekhez vezetve. A **szérumokat elő kell kezelni RF-SorboTech** (VIROTECH-adszorpciószér) készítménnyel (kérjük, ügyeljen rá, hogy a VZV- IgM meghatározásnál a zöld hígítópuffert használja). IgM kontrollok és standardok esetében az előadszorpció lépés kimarad.

6.3 A VIROTECH ELISA vizsgálat elvégzése

- A liquor/szérum párokat elvben együtt, ugyanabban a mérési sorozatban, egy teszt lemezen kell analizálni.
- Az üres érték mérések, standardszérumok, betegszérumok és liquorminták esetében javasoljuk hogy két párhuzamos mérést végezzen.
- A mátrix-hatás lehető legkisebb mértékre csökkentése érdekében a liquort 1:2, a szérumot 1:404 arányú munkahígításban alkalmazzuk. Az IgM diagnosztika esetében javasolt 1:101 hígítással kezdeni, és szükség esetén (100 öME értéket meghaladó mért értékek esetén) 1:404 arányú hígítást is készíteni. IgG, IgM és IgA diagnosztikánál ajánlott liquor és szérum esetén két hígítást alkalmazni, pl. liquor esetén 1:2 és 1:4; szérum esetén 1:101 és 1:404 hígítást, hogy az antitest-túlsúly melletti tesztelés kizárható legyen.
- Az IgM-diagnosztika során kérjük, végezze el az RF-SorboTech előkezelést (kérjük, ügyeljen rá, hogy a VZV- IgM meghatározásnál a zöld hígítópuffert használja).

1. Pipettázzon ki tesztenként 100 µl felhasználásra kész hígítópuffert (üres minta), felhasználásra kész standardszérumokat, felhasználásra kész AI kontrollokat (ha rendelkezésre állnak) vagy szérum minőségi kontrollokat, vagy hígított liquor- és szérummintákat.
A szérumminták munkahígítása:
IgG: 1:404; (például. 5 µl szérum + 500 µl hígítópuffer (1: 101 hígítás), majd folytatjuk az 1: 4 arányú felhasználást, pl. 100 pl 1: 101 hígítás + 300 ul hígító puffer).
IgM: 1:101; (pl.10 µl szérum + 1 ml hígítópuffer/RF-SorboTech).
IgA: 1:404; (például. 5 µl szérum + 500 µl hígítópuffer (1: 101 hígítás), majd folytatjuk az 1: 4 arányú felhasználást, pl. 100 pl 1: 101 hígítás + 300 ul hígító puffer).
A liquorminták munkahígítása: 1:2; pl. 150µl liquorminta + 150µl hígítópuffer.
2. A reagensok kipipetázása után 30 perc 37°C-on történő inkubáció következik (fedő alatt).
3. Az inkubációs idő lejártá után mossa ki a lyukakat 4-szer 350-400 µl mosóoldattal (lyukanként). Mosóoldatot ne hagyjon lyukakban állni. Papírtörölközőre csepegtesse ki a maradék oldatot.
4. Minden lyukba pipettázzon 100 µl felhasználásra kész konjugátumot.
5. Inkubálja a konjugátumot 30 percig 37°C-on (fedő alatt).
6. A konjugátum inkubálását 4-szeri mosással állítsa le. (ld. 3.pont).
7. Pipettázzon 100 µl felhasználásra kész TMB szubsztrátoldatot minden lyukba.
8. A hordozóoldat inkubációja: 30 perc 37°C-on (lefedve, sötét helyen).
9. Minden lyukba pipettázzon 50 µl citrát fixáló (stop) oldatot, így leállítva a szubsztrátreakciót. Óvatosan kevertesse a lemezt, amíg a folyadékok teljesen összekeverednek és egy egységes sárga szín láthatóvá válik.
10. Mérjen extinkciót 450/620 nm-en (referenciahullám hossza 620-690nm). Állítsa úgy be a fotométert, hogy a mért vak érték a többi extinkciós értékből levonásra kerüljön (nullázza a fotométert az üres értékre). A fotometriás mérést a fixáló (stop) oldat hozzáadása után egy órán belül el kell végezni.

A vizsgálat folyamatábráját ld. az utolsó oldalon

6.4 ELISA-processzor alkalmazása

Valamennyi VIROTECH Diagnostics ELISA termék alkalmas ELISA processzorokkal való használatra. A felhasználó köteles a műszer érvényesítését rendszeresen elvégeztetni.

A VIROTECH Diagnostics a következő eljárást javasolja:

1. Az ELISA processzor üzembehelyezése ill. nagyobb javítása esetén javasoljuk, hogy végeztesse el a készülék hitelesítését a gyártó előírásai szerint.
2. Javasoljuk, hogy az ELISA processzort ellenőrizze a hitelesítő kit (EC250.00) segítségével is. A hitelesítő kittel történő ellenőrzést legalább negyedévenként ajánlott elvégezni.
3. Minden mérési sorozat során meg kell felelni a termék minőségi tanúsítványában szereplő minőségellenőrzési kritériumoknak.

Ez az eljárás mód biztosítja az ELISA processzor kifogástalan működését, és ezen túl a labor minőségbiztosítását is szolgálja.

7. A vizsgálati eredmények kiértékelése

7.1 A teszt helyes működésének ellenőrzése

A teszt kit optimális működésének biztosítására a 100 öME IgG-, IgM- és IgA-AK standardszérumok valamint a 6,2 öME IgG-, IgM- és IgA-AK standardszérumok OD-értékeinek a minőségi tanúsítványban megadott minimális érték fölött kell lennie. AI kontrollok alkalmazása esetén az eredményeknek a kontroll tanúsítványban megadott tartományba kell esni.

Ellenkező esetben (AI kontrollok nélkül) a teszt futás érvényességét szérum minőségi kontrollok segítségével kell ellenőrizni.

a) OD-értékek

Az üres minta OD-értéke <0,15 kell, hogy legyen.

A negatív kontrollok OD-értékei a minőségi tanúsítványban megadott OD-értékek alatt, míg a pozitív kontrollok és a cut-off kontrollok OD-értékei a minőségi tanúsítványban megadott OD-értékek felett kell, hogy legyenek.

b) VIROTECH egységek (VE)

A cut-off kontrollok VIROTECH egységekben (VE) megadott értéke 10 VE-ben van meghatározva. A pozitív kontrollok VE-értékei a minőségi tanúsítványban megadott értéktartományon belül kell, hogy legyenek.

Amennyiben a fenti feltételek (OD-értékek, VE értékek) nem teljesülnek, a tesztet meg kell ismételni.

7.2 Kiértékelési szempontok

A liquor diagnosztika esetén a határérték (cut-off) kontrollokon alapuló számítás (mint a szerológiában) nem alkalmazható!

A szérum/liquor párok kórokozóspezifikus antitesttartalmának mennyiségi meghatározásához az IgG-, IgM- ill. IgA standardszérumok segítségével manuálisan vagy műszeresen egy referenciagörbét kell felvenni. A referenciagörbe elkészítéséhez vegyük fel a standardszérumok OD értékét az ordinátára (Y tengely), az antitestkoncentrációkat (önkéntes mértékegységben, öME) pedig az abszcisszára (X tengely). A manuálisan vagy műszeresen elkészített standardgörbének (100 öME, 25 öME, 6,2 öME, 1,5 öME) kellően meredeknek kell lennie, a koordináta rendszer nullpontja közeléből kell indulnia, és a görbe valamennyi pontjának elfogadhatóan kicsi eltérést kell mutatnia a pontokból extrapolált görbétől.

A szérum/liquor párok OD-értékei ezután a görbéről leolvastva öME értékben kifejezhetők, és a hígítási faktoralattal történő szorzás a szérumban és a liquorban található, kórokozóspezifikus IgG-, IgM- ill. IgA-antitestek koncentrációját adják. Ahhoz, hogy numerikusan elfogadható antitestindex értékeket kapjunk, 0,05 alatti OD-értékeket és 1,5 öME alatti, ill. 100 öME feletti értékeket a kiértékelés során nem szabad felhasználni. 100 öME feletti értékekhez vezető OD értékek esetén, a megváltoztatott hígítási arányok figyelembevételével, 1:101 / 1:404 -nál magasabb szérumhígítás ill. 1:2-nél magasabb liquorhígítás alkalmazható.

A teljes antitestindex-számítási folyamat megkönnyítésére a VIROTECH felhasználóbarát liquor-szoftvermegoldásokat kínál.

7.3 Az antitestindex (AI) számítása (példával)

Rövidítések:

IgXössz.=Összes IgX (IgG, IgM vagy IgA, mg/l)

IgXspec.= Kórokozóspezifikus IgX (IgG, IgM vagy IgA)

Q = hányados

Qalb = A liquor és a szérum albumintartalmának hányadosa (mg/l) / csak a limesszámítással összefüggésben szükséges!

7.3.1 QIgXspec (kórokozó-spezifikus antitesthányados)

Szérum

- leolvasott OD-érték: 0,700

- ebből a standardgörbe segítségével meghatározott koncentráció: 3,5 öME

- Hígítás: 1:400

Liquor

- leolvasott OD-érték: 0,500

- ebből a standardgörbe segítségével meghatározott koncentráció: 2,5 öME

- Hígítás: 1:2

$$Q \text{ IgX}_{\text{spec.}} = \frac{\text{IgX}_{\text{spec. liquor}} (\text{öME}) \times \text{hígítás}}{\text{IgX}_{\text{spec. szérum}} (\text{öME}) \times \text{hígítás}} = \frac{2,5 \text{ öME} \times 2}{3,5 \text{ öME} \times 400} = 3,6 \times 10^{-3}$$

7.3.2 QIgX (össz-immunglobulin hányados: klinikai kémiai érték)

- IgXliquor= 33mg/l
- IgXszérum= 10000mg/l

$$QIgX_{\text{össz.}} = \frac{IgX_{\text{össz. liquor}}}{IgX_{\text{össz. szérum}}} = \frac{33\text{mg/l}}{10.000\text{mg/l}} = 3,3 \times 10^{-3}$$

7.3.3 QLIM számítása (limeshányados számítása)

Polispecifikus intratekális immunglobulin szintézis esetén az össz-IgX-hányados nem alkalmazható az antitestindex kiszámítására. A össz-IgX-hányados helyett az úgynevezett QLIM értéket kell alkalmazni. Ehhez szükséges az albuminhányados meghatározása. (klinikai kémiai érték)

LIMES-érték számítása (Reiber után):

$$\begin{aligned} Q_{\text{LIM-IgG}} &= 0,93 \times \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1,7 \times 10^{-3} \\ Q_{\text{LIM-IgM}} &= 0,67 \times \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + 120 \times 10^{-6}} - 7,1 \times 10^{-3} \\ Q_{\text{LIM-IgA}} &= 0,77 \times \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + 23 \times 10^{-6}} - 3,1 \times 10^{-3} \end{aligned}$$

7.3.4 Antitestindex számítása

A. QIgX < QLIM

Az antitestindex (AI) a kórokozóspezifikus antitest hányados arányát adja meg az össz-immunglobulin hányadoshoz viszonyítva. Ezáltal lehetővé válik a kórokozó-specifikus antitestképzés kimutatása és mennyiségi meghatározása. Ebben az esetben az össz-immunglobulin hányadost mint vér-agy gát paramétert alkalmazzuk.

$$AI = \frac{Q \text{ IgX spec.}}{Q \text{ IgX össz.}} = \frac{\frac{IgX \text{ spec. liquor} \times \text{hígítás}}{IgX \text{ spec. szérum} \times \text{hígítás}}}{\frac{IgX \text{ össz. liquor}}{IgX \text{ össz. szérum}}} = \frac{3,6 \times 10^{-3}}{3,3 \times 10^{-3}} = 1,1$$

B. QIgX > QLIM

Amennyiben intratekális immunglobulin szintézis is folyik, a össz-immunglobulin-hányados nem alkalmazható az antitestindex kiszámítására, mivel a keresett és esetleg egyidőben jelenlévő antitest képzés hamis mértékben vagy egyáltalán nem lesz kimutatható. Ilyen esetekben a külön meghatározandó albuminhányados segítségével az immunglobulin hányados úgynevezett limesértékét kell kiszámítani (ld. képlet) vagy grafikusán meghatározni. Ezt a limesértéket használjuk azután a mért immunglobulin hányados helyett az antitestindex kiszámítására.

$$AI = \frac{Q \text{ IgX spec.}}{Q \text{ Lim}}$$

7.4 Interpretáció

AI-kiértékelések (4):

AI: < 0,6	nem kimutatható:	elméletileg nem várható, néha azonban előfordul a rutinalkalmazás során, nincs patológiás jelentése, hibakeresés javasolt
AI: 0,6 – 1,3	normál:	intratekális antitest-termelés nem valószínű
AI: 1,4 – 1,5	határérték:	javasolt a minta ismételt mérése vagy egy második szérumszám-pár mérése
AI: >1,5	patológiás:	Intratekális antitest-termelésre utaló jel

1. Mivel a diagnosztikai értékű antitestindex értékek számítása során legalább négy különféle mérési eredményt kell felhasználni (kórokozó-specifikus liquor- és szérumszám-mérések; szérumszám- és liquor-IgG-, IgM- ill. IgA-értékek, liquor- és szérumszám mg/l értékben), valamennyi metodikai és véletlenszerű hibát összegezzük az alábbiakban. A legkedvezőtlenebb esetben előfordulhat, hogy a hibák egymást erősítik. Ez a legkönnyebben kettős méréssel, illetve még inkább két különböző minta-hígítás mérésével ismerhető fel. Ezen az alapon a liquorban folyó lokális kórokozó-specifikus antitestképzés kimutatásához a klinikailag releváns antitestindex határérték 1,5-nek adódik.
2. Normál esetben a kórokozó-specifikus IgG-, IgM- ill. IgA-antitestekre ugyanaz a liquor-szérumszám-hányados érvényes, mint ami az össz-IgG-, IgM- ill. IgA-frakciók esetében mérhető. Az elméletileg várható antitestindex érték így 1,0. Idevágó vizsgálatok alapján a valamennyi kórokozó-specifikus antitestre érvényes értéktartomány 0,6 és 1,3 közé adódik. Az 1,4 – 1,5 közötti antitestindex értékeket határértéken levőnek kell tekinteni. 1,5 feletti antitestindex értékek (az összes mért, bemenő adat kielégítő analitikai minősége mellett) patológiásnak tekinthetők és a megfelelő kórokozó-specifikus antitest központi idegrendszerben történő képzésére utalnak.
3. 0,6 alatti antitestindex értékek elméletileg nem fordulhatnak elő és rendszerint analitikai hibára utalnak.
4. Megfelelő klinikai eredmények hiányában a megemelkedett antitestindex értékek önmagukban nem utalnak biztonsággal a központi idegrendszer akut fázisú fertőzésére. Előfordulhat hosszan fennmaradó és polispécifikus központi idegrendszerbeli antitest-képzés, különösen az IgG-osztályban, de ritkán az IgM osztályban is. Magas IgM antitestindex értékek rendszerint a központi idegrendszer akut fertőzésére utalnak. Kétség esetén a titer változásának megfelelő antitestindex érték változás a megismételt mérésnél segíti a központi idegrendszeri fertőzés megítélését. Egy ilyen kontroll szorosan összefügg egy további, megfelelő időintervallum utáni liquormintavételrel, melynek indikációját azonban rendszerint csak klinikai szempontok határozzák meg.

7.5 A teszt határai

1. A szerológiai eredmények interpretációja során mindig figyelembe kell venni a klinikai összképet, az epidemiológiai adatokat valamint az esetlegesen rendelkezésre álló további laboratóriumi leleteket.
2. A liquor vagy a szérumszám nagyon magas kórokozó-specifikus antitest-koncentrációja esetén fennáll a veszélye, hogy a mikrotiter lemez mélyedéseiben rendelkezésre álló antigénmennyiség nem elegendő, és az antitest mennyiségi meghatározásához szükséges optimális feltételek nem teljesülnek. Ha fennáll a gyanú, hogy túl sok antitestet alkalmaztunk (a Heidelberger görbét és a teljes liquorleletet figyelembe véve), egy második meghatározást kell végezni magasabb szérumszám- ill. liquorhígítás mellett.

8. Irodalom

1. Zimmermann K., Liquordiagnostik, MTA 11 (1996)4 ; 258 - 260
2. Reiber H, Lange P., Virus-spezifische Antikörper in Liquor und Serum . ELISA-Analytik und Auswertung mittels Antikörper-Index und Quotientendiagramm, Lab.med. 15: 204 (1991) 204 - 207
3. Linke E, Zimmermann K: Liquordiagnostik; hauseigene Liquorbrochure 2003
4. Peterit, Sindern, Wick (2007): Leitlinien der Liquordiagnostik und Methodenkatalog der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie, Springer Verlag, ISBN 978-3-540-39017-6

A betegminták és a mosóoldat előkészítése

▼ **Mosóoldat:** A koncentrátumot hígítsa fel 1 literre desztillált vagy ioncserélt vízzel.

▼ **IgG-/IgA- minták – hígítás**
1:404

▼ **Liquor-hígítás**
1:2

pl.:
1:101: 5 µl szérum/plazma + 500 µl hígítópuffer
15 percig inkubáció szobahőmérsékleten
1:404: 100 µl szérum 1:101 + 300 µl hígítópuffer

150 µl Liquorminta + 150 µl hígítópuffer

▼ **IgM- minták – hígítás**
1:101/1:404

▼ **Liquor-hígítás**
1:2

Reumafaktor-abszorpció RF-SorboTech-hel

pl.:
1:101: 5 µl szérum/plazma + 450 µl hígítópuffer +
1 csepp RF-SorboTech,
15 percig inkubáció szobahőmérsékleten
1:404: 100 µl szérum/VP/RF-SorboTech keverék + 300 µl
hígítópuffer
50 µl RF-SorboTech + 200 µl hígítópuffer.
225 µl RF-SorboTech- hígítópuffer + 225 µl liquorminta,
15 perc inkubáció szobahőmérsékleten

A vizsgálat elvégzése

