

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

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 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
Waldstrasse 23 A2
63128 Dietzenbach, Germany**

**Tel.: +49(0)6074-23698-0
Fax.: +49(0)6074-23698-900
www.goldstandarddiagnostics.com**



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 szubsztrátoldat (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 léteire 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 szubsztrátoldatot 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 szárítószertasakkal)	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-adszorpciósszer) készítménnyel. IgM kontrollok és standardok esetében az előadszorpció lépés kimarad.

6.3 A VIROTECH ELISA vizsgálat elvégzése

- A liquor/szérumszámokat elvben együtt, ugyanabban a mérési sorozatban, egy teszt lemezen kell analizálni.
- Az üres érték mérések, standardszérumszámok, betegszérumszámok 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.

1. Pipettázzon ki tesztenként 100 µl felhasználásra kész hígítópuffert (üres minta), felhasználásra kész standardszérumszámokat, 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 reagensek 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 hagyja 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 leolvasva öME értékben kifejezhetők, és a hígítási faktorral 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 liquor-minta-vétellel, 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; haus-eigene Liquor-broschüre 2003
4. Peteriet, Sindern, Wick (2007): Leitlinien der Liquordiagnostik und Methoden-katalog 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

Mintainkubáció

30 perc 37°C-on

100 µl betegszérum

Üres minta (hígítópuffer) és kontrollok

4x mosás

400 µl mosóoldat

jól kiütögetni

Konjugátum inkubáció

30 perc 37°C-on

100 µl konjugátum

IgG, IgM, IgA

4x mosás

400 µl mosóoldat

jól kiütögetni

Szubsztrátinkubáció

30 perc 37°C-on

100 µl szubsztrát

Leállítás

50 µl fixáló (stop) oldat

óvatosan kevertetni

Extinkció mérés

Fotométer 450/620 nm-en
(referenciahullám hossza 620-690nm)