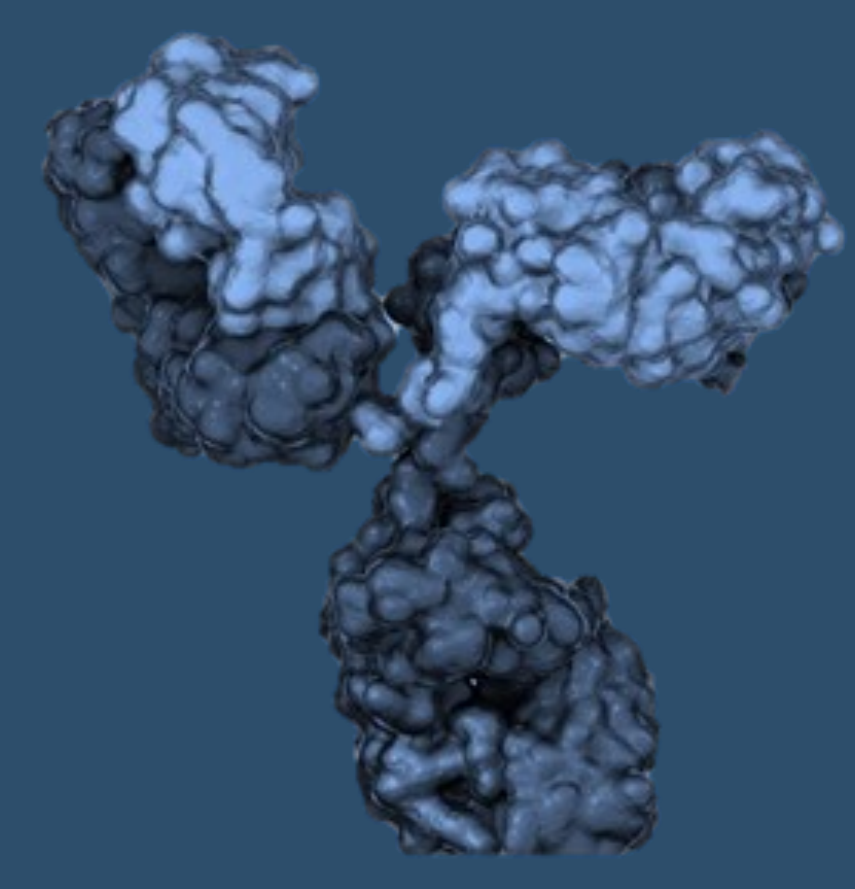


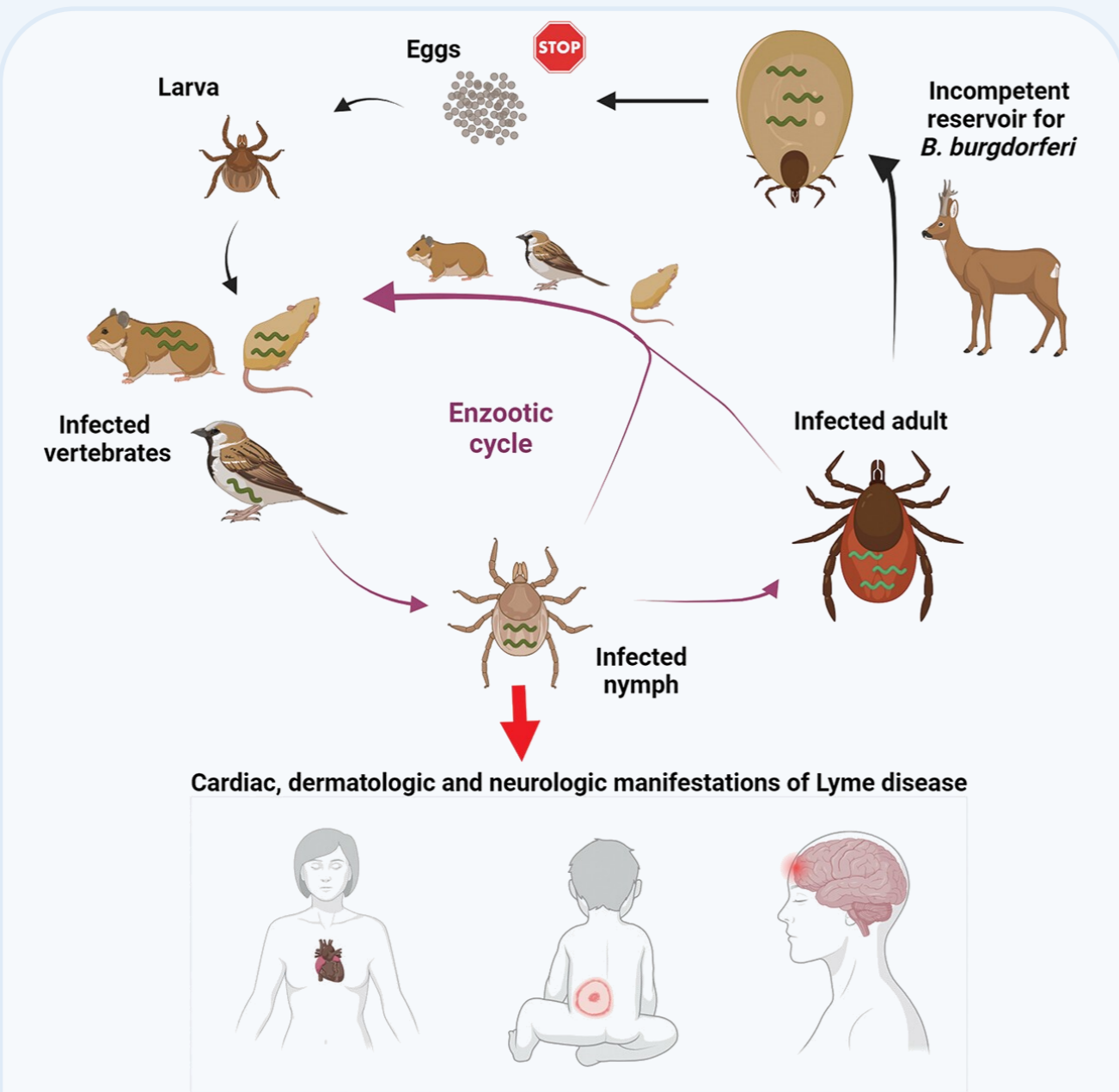
Validatie van Borrelia antistoffen met de EUROLINE kit

L. Van Speybroeck, G. Gysembergt, Ing. E. Houben, Dr. M. Depypere
 UZ Leuven - Laboratoriumgeneeskunde - Infectieuze serologie



Inleiding

Lyme-borreliose, een ziekte die veroorzaakt wordt door de Borrelia bacterie, wordt overgedragen via een tekenbeet van een geïnfecteerde teek. In Europa circuleren meerdere genotypes die worden overgedragen door de teek *Ixodes ricinus*. De levenscyclus van de teek en de symptomen worden afgebeeld in figuur 1. Tijdens onderzoek naar deze Borrelia bacterie worden diverse eiwitten van IgG en IgM antistoffen onderzocht. Deze validatie beoordeelt de performantie, juistheid en precisie voor de analyse van Borrelia met de EUROLINE kit (EUROIMMUN). Zo wordt nagegaan of deze in de routine gebruikt kan worden.

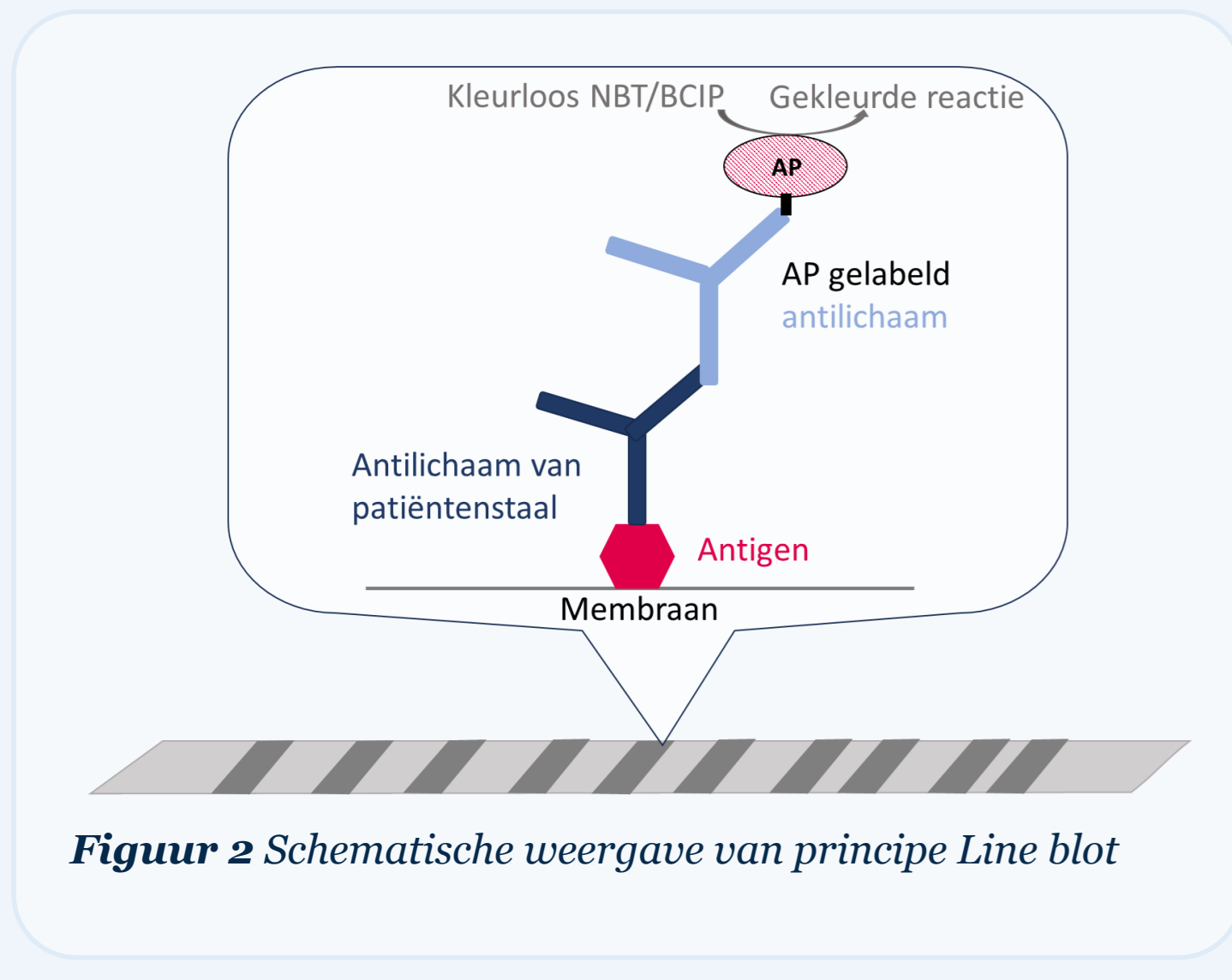


Figuur 1 Enzootische cyclus voor het in stand houden van *B. burgdorferi* in tekenpopulaties. [1]

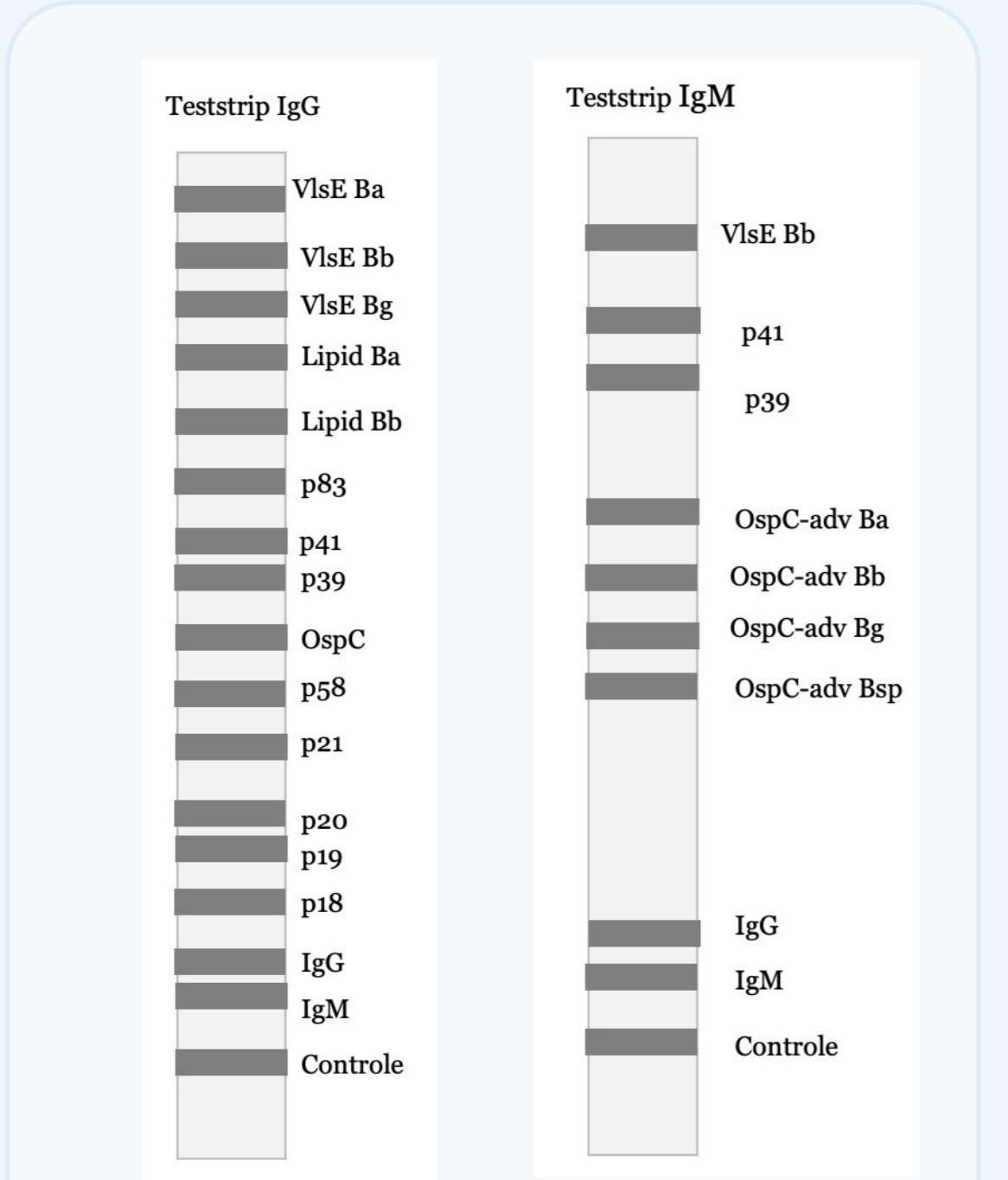
Materialen en methode

Principe van de analyse

De analyse van Borrelia antistoffen wordt uitgevoerd op de EUROBlotMaster (EUROIMMUN) aan de hand van de EUROLINE reagentiakit (EUROIMMUN) voor IgG en IgM. Door middel van een Line blot worden de eiwitten van de antistoffen opgespoord in serum. Deze procedure wordt uitgevoerd aan de hand van de testinstructies in de bijsluiters. Indien de patiënt IgG of IgM antistoffen tegen Borrelia heeft, zullen deze met behulp van een conjugaat en substraat een kleurreactie weergeven. De intensiteit van de aangekleurde band zal bepalen of het om een positief of negatief resultaat gaat. Dit principe wordt weergegeven in figuur 2. De teststrips voor IgG en IgM worden geïllustreerd in figuur 3.



Figuur 2 Schematische weergave van principe Line blot



Figuur 3 Overzicht eiwitbandjes op de teststrips

Validatiecriteria

Methodevergelijking: Historische serumstalen (n=84) waarvan de intensiteiten bepaald werden met Virotech op de Auto-Lia 48, worden geanalyseerd op de EUROBlotMaster volgens bijsluitersinstructies. Voor het uitsluiten van vals positieven wordt de specificiteit bepaald aan de hand van serumstalen met Syphilis (n=10), Epstein-Barr virus (EBV) (n=10), rheumafactor (RF) (n=10) en atypische klachten (n=10).

Juistheid: Historische externe kwaliteitsevaluatie (EKE) stalen (n=3) moeten kwalitatief overeenkomen met het eerder bepaalde resultaat dat nagekeken is door de EKE instantie.

Precisie: Een historisch staal dat positief test voor Borrelia en een historisch staal dat negatief test voor Borrelia worden in drie verschillende 'runs' op drie verschillende dagen geanalyseerd. Deze moeten in de drie 'runs' kwalitatief overeenkomen met elkaar.

Resultaten en discussie

Methodevergelijking

De resultaten voor zowel IgG als IgM worden weergegeven in tabel 1. De sensitiviteit voor IgG bedraagt 97,1%. De specificiteit bedraagt 100%. De sensitiviteit voor IgM bedraagt 79,4% en de specificiteit 55,0%. Een lage sensitiviteit kan voorkomen tijdens het testen in de vroege gelokaliseerde fase. Een lage specificiteit kan komen door kruisreactiviteit van EBV, RF en Syphilis.

Tabel 1 Resultaten van de methodevergelijking voor IgG en IgM

	Sensitiviteit				Specificiteit			
	Artritis n= 15	EM n= 10	NB n= 5	ACA n= 4	EBV n= 10	RF n= 10	Syphilis n= 10	AK n= 10
IgG	100% (15/15)	90,0% (9/10)	100% (5/5)	100% (4/4)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (10/10)
Totale sensitiviteit IgG: 97,1% (33/34)				Totale specificiteit IgG: 100% (40/40)				
IgM	66,6% (10/15)	100% (10/10)	80,0% (4/5)	75,0% (3/4)	40,0% (4/10)	70,0% (7/10)	80,0% (8/10)	30,0% (3/10)
Totale sensitiviteit IgM: 79,4% (27/34)				Totale specificiteit IgM: 55,0% (22/40)				

Juistheid

Voor het testen van de juistheid werden drie EKE stalen getest. De resultaten worden vergeleken met hun EKE-rapport voor IgG en IgM, weergegeven in tabel 2. Voor IgG komen de resultaten overeen met het rapport, voor IgM komen twee van de drie stalen niet overeen. Hierdoor bedraagt de juistheid 67,0%.

Tabel 2 Resultaten van de EKE stalen vergeleken met hun EKE rapport

	IgG		IgM	
	EuroBlot Master	EKE rapport	EuroBlot Master	EKE rapport
EKE 1	+	+	-	-
EKE 2	-	-	-	+
EKE 3	+	+	+	-

Precisie

De resultaten van het positieve en negatieve precisie staal worden weergegeven in tabel 3. Het positieve staal test telkens positief voor IgG en IgM. Het negatieve staal test telkens negatief voor IgG en IgM. De precisie en herhaalbaarheid van de test bedragen 100%.

Tabel 3 Resultaten van het positieve en negatieve precisie staal voor IgG en IgM

	Positief staal		Negatief staal	
	IgG	IgM	IgG	IgM
Run 1	+	+	-	-
Run 2	+	+	-	-
Run 3	+	+	-	-

Conclusie

De validatie van Borrelia antistoffen met de EUROLINE kit omvat een methodevergelijking, precisie en juistheid. De bekomen resultaten sluiten niet volledig aan bij de verwachtingen. Zowel de specificiteit van IgM als de juistheid liggen te laag om te voldoen aan de criteria. Er zullen nog meer testen uitgevoerd moeten worden voordat de confirmatietest van Borrelia antistoffen met de EUROLINE kit geïmplementeerd kan worden.

Referenties

- Strnad M, Rudenko N, Rego R. Pathogenicity and virulence of Borrelia burgdorferi. *TandF*. 2023; 14(1) <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2023.2265015>
- EUROIMMUN. Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT-adv (IgM). REF DN2131-3201-2 M; Duitsland; 2022
- EUROIMMUN. Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT (IgG). REF DN2131-3201 G; Duitsland; 2022
- Radolf J.D, Strle K, Lemieux J.E, Strle F. Lyme Disease in Humans. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2020; 42(1): 333-384 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7946767/>
- Van Aelst S. Evaluatie van de Borrelia-serologie als diagnostisch middel voor Lyme-Borreliose [thesis]. Leuven: KU Leuven; 2012.

