

VIROTECH Borrelia Vet. + OspA IgG LINE Імуноблот
(Borrelia Vet. + OspA IgG LINE Hund/Dog)

Номер замовлення: DE226G32

Borrelia Vet. + OspA IgG LINE Set Pferd/Horse

Номер замовлення: DE226K62

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул.
Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18,
info@ivset.ua, www.ivset.ua

**ЛИШЕ ДЛЯ ДІАГНОСТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ IN VITRO на
собаках і конях**



Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Німеччина

тел.: +49 6074 23698-0

Факс: +49 6074 23698-900

Електронна

пошта: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com

сайт: Clinical.goldstandarddiagnostics.com

Зміст

1.	Використання за призначенням.....	3
2.	Діагностичне значення	3
3.	Принцип аналізу	3
4.	Вміст упаковки	3
4.1	Набір на 32 визначення	3
4.2	Набір для коня	4
5.	Зберігання та стабільність	4
6.	Запобіжні заходи та попередження.....	4
7.	Додатково необхідний матеріал (не входить до набору).....	4
8.	Процедура аналізування.....	5
8.1	Підготовка зразків	5
8.2	Приготування реагентів	5
8.3	Процедура імуноблот аналізу	5
8.4	Використання імуноблот-процесорів	6
9.	Інтерпретація результатів.....	6
9.1	Інтерпретація зразків собаки та коня	6
9.2	Використання порогового контролю	6
9.3	Значення антигенів	6
9.4	Критерії інтерпретації	8
9.5	Межі аналізу	9
10.	Дані продуктивності.....	9
10.1	собака	10
10.2	Кінь	10
11.	Список літератури	10
12.	Схема процедури аналізування	12

1. Використання за призначенням

Лінійка VIROTECH Borrelia Veterinary plus OspA — це набір імуноблотів LINE для якісного виявлення специфічних антитіл IgG Borrelia (B.) burgdorferi sensu lato в сироватці крові собак або коней. Цей набір для аналізу може відрізнити інфекцію дикого типу від вакцинації у собаки.

2. Діагностичне значення

Загальне

Збудник Лайм-бореліозу (LB), спірохета *B. burgdorferi*, була відкрита в 1981 році Бургдорфером і Барбуром і класифікована як вид роду *Borrelia* (1).

Лайм-бореліоз (ЛБ) — це системне захворювання, спричинене зараженням спірохетою *B. burgdorferi* (7,8). Захворювання передається при укусі зараженого кліща. Кліщ *Ixodes ricinus* визначено як головний переносник у Європі (2, 5). Наступні види були ідентифіковані як (людини) патогени в Європі: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis* і *B. spielmanii* (5, 6, 9, 10, 11). Вони підпадають під термін *B. burgdorferi sensu lato* (sl)

Наразі неясно, якою мірою тварини (собаки та коні) також страждають від LB після інфікування *B. burgdorferi* sl. В даний час вважається, що у більшості інфікованих тварин (спочатку) клінічні зміни не розвиваються. Власник тварини, як правило, звертається до ветеринара лише після розвитку симптомів (наприклад, паралічу). Потім показано серологічне визначення IgG (12,13). Клінічні характеристики у собаки:

Найкращими ознаками LB у собаки є погіршення загального стану з анорексією та лихоманкою разом із змінною кульгавістю внаслідок артриту. Крім цих симптомів, лімфаденопатії спостерігалися приблизно у 5% випадків і тяжке порушення функції нирок у бл. 2% випадків (3).

Клінічні характеристики коня:

У німецькому дослідженні було вивчено симптоми 50 коней після зараження *B. burgdorferi*. Вражаючою була частота захворювань очей (кон'юнктивіт, кератокон'юнктивіт, ретиніт). З іншого боку, загальні менш специфічні симптоми, такі як втрата ваги та погіршення працездатності (24%), запалення суглобів (12%) і кульгавість (10%) були найчастішими симптомами, які спонукали до візиту до ветеринара. Часто зустрічається поліартрит, причому практично у всіх суглобах кінцівок (4).

3. Принцип аналізу

Антигенні білки патогенів наносяться на нітроцелюлозну мембрану за допомогою спеціального розпилення. Потім нітроцелюлозна мембрана розрізається на окремі стріпи.

Покриті антигеном нітроцелюлозні стріпи потім інкубують із зразками сироватки собаки або коня, щоб виявити специфічні антитіла. Ці антитіла утворюють імунні комплекси з антигеном, зафіксованим на аналіз-смужці. Незв'язані антитіла видаляють шляхом промивання. Потім окремі нітроцелюлозні стріпи інкубують із кон'югатами анти-собачих або анти-кінських IgG, кон'югованих з лужною фосфатазою. Після того, як незв'язані кон'юговані антитіла були видалені наступним етапом промивання, візуалізація комплексу антиген/антитіло здійснюється додаванням незабарвленого субстрату, який утворює синьо-фіолетові преципітати на кожному місці, де зв'язувалися кон'юговані антитіла проти людини. Реакція фермент/субстрат зупиняється шляхом промивання нітроцелюлозних стріпів дистильованою/дейонізованою водою. Залежно від спостережуваної стрічки можна інтерпретувати наявність специфічних IgG-антитіл.

4. Вміст упаковки

4.1 Набір на 32 визначення

- | | | |
|---|----|-----------|
| 1. Нітроцелюлозні стріпи для аналізу з розпиленням антигеном (тверді стріпи, стабілізовані на поліетиленовій фользі), відсортований у буклет, готовий до використання | 1x | 32 стріпи |
| 2. IgG пороговий контроль, сироватка собаки, попередньо розведена | 1x | 0,5 мл |
| 3. Буфер для розведення/промивання, pH 7,3 (10-кратна концентрація), з Трис і консервантом | 2x | 50 мл |
| 4. Кон'югат анти собачого IgG (100x конц.)
Антисобака-(кролик)-лужна фосфатаза, з консервантом | 1x | 0,7 мл |
| 5. Субстрат (BCIP/NBT), готовий до використання | 1x | 57 мл |

6. Оціночний лист для собаки

для реєстрації та архівації результатів

1x

1 шт.

4.2 Набір для коня

Також доступний за запитом (DE226K62)

Контроль IgG, кінська сироватка, попередньо розведена
Кон'югат проти кінського IgG (100x конц.)

1x

0,5
мл

Антикінська, (кроляча)-лужна фосфатаза, з консервантом
Оціночний лист для коня
для реєстрації та архівації результатів

1x

0,7
мл

1x

1 шт.

5. Зберігання та стабільність

Зберігайте набір для аналізу при 2-8°C. Термін придатності окремих компонентів вказано на відповідній етикетці; щодо терміну придатності набору, будь ласка, зверніться до етикетки коробки набору.

1. Не піддавайте окремі компоненти набору дії високої температури та не заморозуйте їх.
2. Не використовуйте реагенти з набору після закінчення терміну придатності.
3. Не піддавайте реагенти впливу сильного світла під час зберігання або інкубації.
4. Розчин BCIP/NBT-субстрат чутливий до світла і повинен зберігатися в темряві.
5. **Нітроцелюлозні стріпи для аналізу:** Використовуйте стріпи відразу після вилучення з пакета. Знову надійно закрийте пакет із непотрібними стріпами та зберігайте при 2-8°C. Зберігаючи результати в архіві, подбайте про те, щоб нітроцелюлозні стріпи для аналізу та шаблони були захищені від прямих сонячних променів, щоб уникнути вицвітання стріпів.

матеріал	Статус	Зберігання	Стабільність
Зразки для аналізу	нерозбавлений	від +2 до +8°C	1 тиждень
Стріпи для аналізу	Після відкриття	від +2 до +8°C (зберігається в пакеті з набору)	3 місяці
контролі	Після відкриття	від +2 до +8°C	3 місяці
Кон'югат	Після відкриття	від +2 до +8°C	3 місяці
	Розбавлений	від +2 до +8°C	прибл. 6 год
Субстрат	Після відкриття	від +2 до +8°C (захищати від світла)	3 місяці
Промивний розчин	Після відкриття	від +2 до +8°C (захищати від світла)	3 місяці
	Остаточне розведення (готове до використання)	від +2 до +8°C	4 тижні
	Остаточне розведення (готове до використання)	абсолютної температури	2 тижні

6. Запобіжні заходи та попередження

1. Контрольні сироватки, зразки, розведені зразки, кон'югати та нітроцелюлозні стріпи для аналізу слід розглядати як потенційно інфекційні та лікувати їх відповідним чином. Будь ласка, поведіться з продуктами відповідно до вказівок лабораторії.
2. Використовуйте пластикові щипці та одягайте захисні рукавички під час роботи з Immunoblot.
3. Дотримуйтеся чинних місцевих правил утилізації відходів.
4. Інкубаційні ванни розроблені виробником для одноразового використання. Користувач несе відповідальність за повторне використання інкубаційних ванн. Якщо їх потрібно використовувати повторно, ми рекомендуємо після використання продезінфікувати інкубаційні ванни протягом кількох годин в 1% розчині гіпохлориту натрію, а потім ретельно промити водою з-під крана, а потім дистильованою або дейонізованою водою.

7. Додатково необхідний матеріал (не входить до набору)

1. Інкубаційний лоток (номер замовлення див. у каталозі)
2. Платформа гойдалка (вертикальна, не відцентрова)
3. Промивна пляшка для зупинки

4. Піпетка або мийка для рук
5. Мікропіпетки 5 мкл - 1500 мкл
6. Наповнювач для піпеток
7. Пробірки об'ємом 2-20 мл
8. Щипці пластикові
9. Вода дистильована або дейонізована
10. Фільтрувальний папір

8. Процедура аналізу

Точне дотримання посібника користувача є необхідною умовою для отримання правильних результатів.

8.1 Підготовка зразків

1. Для зразка потрібно 15 мкл сироватки.
2. Зразки крові слід брати в асептичних умовах шляхом венепункції. Після повної коагуляції сироватку необхідно відокремити. Зразки можна зберігати при 2-8°C протягом одного тижня. Якщо вони будуть зберігатися довше, сироватки необхідно заморозити при -20°C.
3. Слід уникати повторного заморожування та розморожування.
4. Не використовуйте каламутні зразки (особливо після розморожування), центрифугуйте, якщо необхідно (5 хвилин при 1000 sg), піпетуйте прозорий супернатант і використовуйте в аналізуванні.

8.2 Приготування реагентів

1. Перед приготуванням розчину доведіть відповідний концентрат до кімнатної температури (20-25°C). Використовуйте лише високоякісну воду дистильовану або дейонізовану і доведіть до кімнатної температури (20-25°C) перед використанням.
2. Добре перемішайте розведення перед початком аналізу.
3. **Розрідження/промивний буфер:**

Буфер для розведення/промивання поставляється у вигляді 10-кратного концентрату. Розведіть концентрат буфера для розведення/промивання 1:10 дистильованою або деіонізованою водою (10 мл/50 мл/100 мл концентрату + 90 мл/450 мл/900 мл дистильованої або дейонізованої води), добре перемішайте. Буфер для розведення/промивання, концентрований або вже розведений, може з часом показати жовтий барвник. Цей жовтий барвник не впливає на термін придатності буфера для розведення/промивання, а також не впливає на функціональність або діагностичне значення аналізу.

4. **Кон'югат IgG**

Розведіть кон'югат 1 + 100 остаточно розведеним буфером для розведення/промивання та ретельно перемішайте. Для кожного зразка сироватки потрібно 1,5 мл робочого розчину кон'югату. Дивіться таблицю розведення кон'югату (пункт: «Процедура випробування»).

5. **Розчин субстрату**

Субстратний розчин поставляється готовим до використання.

8.3 Процедура імуноблот аналізу

Для правильної роботи та оцінки ЛІНІЙ кожен запуск аналізу повинен включати відповідний параметр і пороговий контроль, специфічний для партії.

1. Аналіз потрібно проводити при кімнатній температурі.
2. Для кожного зразка помістіть 1 стріп в канал чистого інкубаційного лотка. Тримайте стріп лише за позначений верхній кінець.
3. Прокачайте по 1,5 мл готового до використання буфера для розведення/промивання та покладіть на платформу для гойдання. Слідкуйте за тим, щоб антигенні стріпи були рівномірно покриті рідиною, стріпи не повинні висихати протягом всієї процедури аналізу.
4. Стріпи твердого антигену повністю зволожуються протягом однієї хвилини та можуть інкубуватися в положенні лежачи, на боці або в положенні обличчям вниз.
5. Нанесіть піпеткою 15 мкл собачої або кінської сироватки (розведення 1+100) або 100 мкл порогового контролю, якщо можливо, у верхній позначений кінець стріпи. Інкубуйте сироватку собаки або коня та контролюйте протягом 30 хвилин на гойдалці. Слідкуйте за тим, щоб під час піпетування та подальшого виливання не відбулося перехресного забруднення окремих зразків пацієнта.

6. Аспіруйте або обережно повністю вилийте рідину з каналів. Під час виливання рідини стріпи антигену залишаються на дні каналу. Злийте рідину, що залишилася, на целюлозний папір.
7. **Промивання** стріпів: інкубуйте з 1,5 мл готового до використання буфера для розведення/промивання кожного протягом 3 x 5 хвилин на гойдалці. Завжди повністю виливайте або аспіруйте промивний буфер. Перед завершенням останнього етапу промивання приготуйте необхідну кількість свіжого розведення кон'югату (див. таблицю).
8. Аспіруйте або повністю вилийте рідину з каналів (див. пункт 6).
9. Внесіть піпеткою 1,5 мл готового розведення кон'югату у відповідний інкубаційний канал та інкубуйте протягом 30 хвилин на гойдалці.
10. Вилийте або повністю аспіруйте рідину з каналів.
11. **Промивання** стріпів: інкубуйте з 1,5 мл готового до використання буфера для розведення/промивання кожного протягом 3 x 5 хвилин на гойдалці. Завжди повністю виливайте або аспіруйте промивний буфер. Після цього змийте 1 x 1 хвилину з **водою дистильованою або дейонізованою**.
12. Вилийте або повністю аспіруйте рідину з каналів (див. пункт 6).
13. Внесіть піпеткою по 1,5 мл готового до використання розчину субстрату в канали і дайте проявитися 10-30 хвилин на гойдалці.
14. **Зупинить** кольорову реакцію шляхом виливання розчину субстрату. Після цього промийте стріпи без інкубації протягом 3 разів з 1,5 мл дистильованої/дейонізованої води кожен раз.
15. Злийте дистильовану/дейонізовану воду та дайте стріпу висохнути на чистому целюлозному папері. Фонове забарвлення, яке можна спостерігати на зволжених антигенних стріпах, повністю зникає, коли стріпи повністю висихають. Твердим антигенним стріпам потрібно трохи більше часу, ніж звичайним антигенним стріпам, поки вони повністю не висохнуть.
16. Для інтерпретації використовуйте включений протокол розрахунку. Оцінка зразків собаки чи коня полегшується, якщо конкретні стріпи позначені на аркуші протоколу.

Для схеми процедури аналізу, будь ласка, зверніться до останньої сторінки

8.4 Використання імуноблот-процесорів

Наступні інструменти були валідовані для автоматичної обробки LINEs: Apollo та Profiblot. В принципі придатні всі комерційно доступні блот-машини.

9. Інтерпретація результатів

Для полегшення інтерпретації кожен стріп LINE забезпечений контрольною функцією аналізу (контроль сироватки):

1. Контроль сироватки

Набір для аналізу має загальну контрольну смугу сироватки як для собак, так і для коней:

Інкубаційна смуга сироватки з'являється під лінією розмітки після інкубації з сироваткою.

Результати аналізу дійсні, якщо контроль сироватки чітко розпізнається на розробленому нітроцелюлозному стріпі для аналізу. Положення контрольної смуги сироватки взято з аркуша протоколу.

9.1 Інтерпретація зразків собаки та коня

Положення та позначення реактивних смуг беруться з протоколу.

Смуги IgG: VlsE-Mix-Dog, OspA-Mix, DbpA-Mix, OspC-Mix, BmpA (p39), p58, p83, VlsE-Mix-Horse

9.2 Використання порогового контролю

Смуги інтенсивності, менші за порогову смугу в контролі порогового значення, виключаються з інтерпретації.

Смуга порогова IgG для собак: OspA-Mix

Смуга порогова IgG коня: VlsE-Mix

9.3 Значення антигенів

Список високоочищених рекомбінантних антигенів *B. burgdorferi* в аналізі:

1. VlsE-Mix складається з двох рекомбінантних антигенів геновидів *B. burgdorferi sensu stricto* (B31) і *B. garinii* (IP90).
2. OspA-Mix складається з трьох рекомбінантних антигенів геновидів *B. afzelii* (PKo), *B. garinii* ZQ1 і *B. burgdorferi* ssZS7.

3. OspC-Mix складається з трьох рекомбінантних антигенів генотипів *B. afzelii* (PKo), *B. bavariensis* (PBi) і *B. burgdorferi sensu stricto* (ZS7).

4. DbpA-Mix складається з двох рекомбінантних антигенів генотипів *B. bavariensis* (PBi) і *B. garinii* (PBr) і високоочищеного *B. afzelii* (PKo).

антиген/ Позначення	Значення антигенів	Специфіка Антитіла в LINE
VlsE-Mix рекомбінантний	<p>Варіабельний головний білок, подібний до послідовності E . E. VlsE є ліпопротеїном, що експресується in vivo.</p> <p>Він містить високоімуногенні епітопи, які зберігаються в різних генотипах. VlsE - це антиген 35 кДа, кодований на lp28-1.</p> <p><u>Біологічне значення:</u> <i>B. burgdorferi</i> sl може зберігатися в інфікованих ссавців, незважаючи на активний імунітет</p> <p>відповідь. Хоча комбінована варіація антигену на поверхні VlsE білок діє як імунний механізм порятунку і сприяє цьому стійкість. Маркер контакту з патогеном або дикої інфекції <i>B. burgdorferi</i> sl</p>	Специфічний
OspA-Mix рекомбінантний	<p>Білок А зовнішньої поверхні</p> <ul style="list-style-type: none"> • Титри антитіл OspA особливо виявляються після вакцинації. 	Дуже специфічний
DbpA-мікс Високоочищений й/ рекомбінантний	<p>Декорин-зв'язуючий білок А (також білок зовнішньої поверхні 17 або p17).</p> <p>Плазмідно-кодований ліпопротеїн. DbpA з різних ізолятів виду <i>B. burgdorferi</i>, <i>B. afzelii</i>, <i>B. garinii</i>, <i>B. bavariensis</i> і <i>B. spielmanii</i> описуються як чутливі та специфічні антигени з комплементарною активністю.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Антитіла DbpA, як правило, виявляють до прогресуючого або дисемінованого Лайма бореліозні інфекції. 	Дуже специфічний
OspC-Mix (стор. 23) рекомбінантний	<p>Білок С зовнішньої поверхні. Ліпопротеїн, кодований плазмідом</p> <p>Поверхневий білок</p> <ul style="list-style-type: none"> • OspC виявляються як при диких інфекціях, так і іноді після вакцинації. 	Дуже специфічний
VmpA (p39) Рекомбінантний <i>B.afzelii</i>(PKo)	<p>Бореліальний мембранний білок А. Хромосомно кодований, центральний маркер в IgG</p> <p>серологія на дисеміновані інфекції Лайм-бореліозу</p>	Дуже специфічний
p58 рекомбінантний <i>B.bavariensis</i> (PBi)	<p>Білок олігопептид пермеаза А-2 (OspA-2). Хромосомно закодований</p> <p>ліпопротеїн, збережений між видами</p> <ul style="list-style-type: none"> • Антитіла p58, як правило, виявляють до прогресуючого або дисемінованого Лайма бореліозні інфекції. 	Дуже специфічний
p83 рекомбінантний <i>B.afzelii</i>(PKo)	<p>Хромосомно кодований антиген, пов'язаний з протоплазматичним циліндром,</p> <p>зберігається в <i>B. burgdorferi sensu lato</i>.</p> <p>Центральний маркер у серології IgG розвиненого бореліозу Лайма.</p>	Дуже специфічний

9.4 Критерії інтерпретації

9.4.1 Тлумачення для собаки:

Рекомендована інтерпретація IgG для собаки

Загальна інформація для смуг \geq інтенсивність порогової смуги. Виняток: ізольований VlsE

собака	Визначення	Інтерпретація
0 Смуга або Смуга < порогової	негативний	Немає доказів для контакту зі збудником

VlsE-собака		Визначення	Інтерпретація
ізольований	= порогове	негативний	Немає доказів для контакту зі збудник
	> порогового	Інфекція	Зазначена інфекція
+ \geq 1 смуга (крім OspA)		Інфекція	Зазначена інфекція

Без OspA і без VlsE-dog	Визначення	Інтерпретація
0 - 1 смуга	Негативний	Немає доказів для контакту з збудник
2-3 смуга	Сумнівний	Докази контакту зі збудником
\geq 4 смуги	Інфекція	Зазначена інфекція

OspA	Визначення	Інтерпретація
Ізольовані або + \geq 1 стріпи (виняток VlsE)	щеплення	щеплення
+ VlsE-собака ізольована	= порогове	щеплення
	> порогового	Щеплення + Інфекція
+ VlsE-собака + \geq 1 смуга	Щеплення + Інфекція	Щеплення та свідчення щодо інфекції

Не розглядайте VlsE-смугу коня для інтерпретації IgG собаки.

9.4.2 Тлумачення для коня:

Рекомендована інтерпретація IgG для коня
Загальна інформація для смуг \geq інтенсивність смуги
порогової.

кінь	Визначення	Інтерпретація
0 Смуга або Смуга < порогової	негативний	Немає доказів для контакту зі збудником

ВлсЕ-кінь	Визначення	Інтерпретація
+ 0 - 2 смуги	Сумнівний	Докази контакту зі збудником
+ \geq 3 смуги	Інфекція	Свідчення наявності інфекції

Особливий випадок	Визначення	Інтерпретація
VisE-кінь + DbpA + 1 смуга	Інфекція	Свідчення наявності інфекції

Без VisE-коня	Визначення	Інтерпретація
0 - 2 смуги	Негативний	Немає доказів для контакту зі збудником
3 смуги	Прикордонний	Докази контакту зі збудником
\geq 4 смуги	Інфекція	Свідчення наявності інфекції

Не розглядайте VisE-смугу собаки для інтерпретації IgG коня.

OspA не слід розглядати як специфічну смугу в імунних реакціях коней на *B. burgdorferi* sl.

Після негативного або прикордонного результату та якщо все ще є клінічна підозра на Лайм-бореліоз, додаткове обстеження слід провести приблизно через 4-6 тижнів. Це стосується як собак, так і коней.

9.5 Межі аналізу

1. При інтерпретації серологічних результатів завжди слід враховувати клінічну картину та будь-які інші лабораторні результати.
2. Негативний результат блоту не виключає повністю ймовірність зараження *Borrelia*, оскільки антитіла все ще можуть бути нижче межі виявлення. Якщо все ще є клінічна підозра, слід взяти другий зразок крові приблизно через 4-6 тижнів.
3. Антитіла IgG можна виявити навіть через роки після клінічної ремісії.
4. Відомо, що можуть бути перехресні реакції між *B. burgdorferi* sl та іншими спірохетами, зокрема лептоспірами.

10. Дані продуктивності

Походження сироваток:

217 визначених сироваток собак і 149 визначених сироваток коней було отримано професором Рейнхардом Штраубінгером, DVM з факультету ветеринарної медицини, кафедри ветеринарії, Інституту інфекційних хвороб і зоонозів.

Було проведено порівняння з двоетапним аналізом факультету ветеринарної медицини, визначеним тут як стандартний аналіз. Порівняння проводилося під керівництвом професора Штраубінгера в Інституті інфекційних хвороб і зоонозів у Департаменті ветеринарії. Результати такі:

10.1 собака

Аналіз або процедура Інтерпретації	Собачі сироватки (n=217)			
Тлумачення з Двоетапним аналізом Професор Штраубінгер	49 негативний	46 щеплення	94 інфекція 8 прикордонний	20 щеплення + інфекція
Боррелії ветеринарні плюс OspA LINE	49 негативний	42 щеплення 3 щеплення + інфекція 1 негативний	95 інфекція 2 прикордонний 3 щеплення + інфекція 2 негативний	18 щеплення + інфекція 1 щеплення 1 інфекція

Усі негативні сироватки були правильно визначені.

Було виявлено 98% щеплень, з 3 додатковими випадками інфікування. Єдиний негатив був ідентифікований як «слабка вакцинація» в двоетапному аналізі. На блоті лінії була чітка смуга OspA, хоча вона була < обрізаною. Кількість прикордонних випадків інфекцій явно зменшилася. Виявлено 3 додаткових щеплення.

Таким чином підтверджено 18 випадків вакцинації + інфікування. Виявлено 1 випадок чистої вакцинації та 1 випадок чистої інфекції.

10.2 Кінь

Аналіз або процедура інтерпретації	Кінська сироватка (n=149)		
Тлумачення з Двоетапним аналізом Професор Штраубінгер	50 негативних	41 граничний 9 граничний/ негативний	45 інфекція 4 інфекція/ контакт з антигеном
Borrelia Veterinara плюс OspA LINE	50 негативних	16 граничний 7 інфекція 27 негативний	33 інфекція 11 граничний 5 негативний

Ця таблиця показує, що більше сироваток було класифіковано як явно негативні за допомогою аналізу Borrelia Veterinara plus OspA LINE, який переважно раніше інтерпретувався як позитивний/пороговий.

Це також має тенденцію погоджуватися з реальністю діагностичного аналізування. За даними лабораторії професора Штраубінгера на факультеті ветеринарної медицини, наявні звіти вказують на те, що є тенденція до багатьох позитивних результатів із поточними системами для аналізу та критеріями інтерпретації, які слід розглядати як ненадійні для остаточного діагнозу.

11. Список літератури

1. Burgdorfer, W., Barbour, AG, Hayes SF та ін. (1982); хвороба Лайма – кліщовий спірохетоз?; Наука 216:1317-19.
2. Barbour, AG і Hayes, SF (1986); Біологія видів Borrelia; мікробіол. Rev. 50(4):381-400.
3. Горст, X.; Zeckenborreliose Lyme-Krankheit bei Mensch und Tier; 4. überarbeitete Auflage; Demeter-Verlag im Spitta Verlag; 2003: 194-208;210-215;216-228
4. Лібіш, Г.; Der Nachweis von Borrelien bei Haus und Wildtieren: Patienten oder Reservoir der Lyme-Borreliose?; 22. Kongress der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft; 8.-11. квітень 1997 р.; Бад-Наухайм.
5. Pfister, HW., Wilske, B. (1994) Лайм-бореліоз: основні наукові та клінічні аспекти, The Lancet Vol. 343: 1013-1015.
6. Dressler, F., Ackermann, R. and Steere, AC (1994), Реакція антитіл на три геномні групи Borrelia burgdorferi при європейському бореліозі Лайма, J. Infect. дис. 169: 313-318
7. Burgdorfer, W., Barbour, AG, Hayes SF та ін. (1982), Хвороба Лайма - кліщовий спірохетоз?, Science 216:1317-19.

8. Steere, AC (1989), хвороба Лайма, N. Engl. J. Med. 321:586-96.
9. Fingerle, V., Schulte-Spechtel, UC, Ruzic-Sabljic, E., Leonhard, S., Hofmann, H., Weber, K., Pfister, K., Strle, F., Wilske, B. (2007) Епідеміологічні аспекти та молекулярна характеристика *Borrelia burgdorferi* sl з півдня Німеччини з особливою повагою до нового виду *Borrelia spielmanii* sp. лис. Int J Med Microbiol
10. Герцбергер, П., Зігель, К., Скерка, К., Фінгерле, В., Шульте-Шпехтель, У., ван Дам, А., Вілске, Б., Брейд, В., Зіпфель, П. Ф., Валліх, Р., Крайці, П. (2007) Патогенна для людини *Borrelia spielmanii* sp. лис. протистояти опосередкованому комплементом знищенню шляхом прямого зв'язування фактора імунних регуляторів H і FHL-1. Інфікувати Імун
11. Wang, G., van Dam, AP, Dankert, J. (1999) Фенотипова та генетична характеристика нового ізоляту *Borrelia burgdorferi sensu lato* від пацієнта з лайм-бореліозом. J Clin Microbiol 37: 3025-3028
12. Крупка, І. (2010) Infektionen mit *Borrelia burgdorferi sensu lato* und deren serologischer Nachweis mittels spezifischer C6-Peptide bei Hunden sowie im murinen Infektionsmodell ; Інавгураційна дисертація der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig : 1 ; 8-10
13. Крупка І., Панчев Н., Вайзе М., Штраубінгер Р.К. Durch Zecken übertragbare bakterielle Infektionen bei Hunden: Sero-prävalenzen von *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* und *Ehrlichia canis* in Deutschland. Praktischer Tierarzt 2007 ;10(88) :776-87
14. Мей Катаріна, (2009) Імуноферментний аналіз та Вестерн-блот з Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi sensu lato* bei gesunden Pferden ; Інавгураційна дисертація der Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich

12. Схема процедури аналізу

Процедура аналізу в скороченій версії

Інкубація зразків	30 хвилини	15 мкл сироватки собаки / коня / 100 мкл контролю
промивання	3 x 5 хвилини	в 1,5 мл буфера для розведення/промивання кожен з 1,5 мл буфера для розведення/промивання кожного
Кон'югатна інкубація	30 хвилини	з 1,5 мл робочого розведення (1 + 100)
промивання	3 x 5 хвилини 1 x 1 хвилина	з 1,5 мл буфера для розведення/промивання кожного з Aqua dest./deionised
Інкубація субстрату	10 3 хвилини	з 1,5 мл готового до використання субстрату розчину кожного з 1,5 мл вода дистильована./дейонізована кожен
Зупинка	3 рази без інкубації між ними	

Таблиця розведення кон'югату для кон'югату собаки та коня (округлена)

Кількість стріпів	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Буфер для розведення/промивання	1,5 мкл	3,0мкл	4,5 мкл	6,0 мкл	7,5мкл	9,0мкл	11,0 мкл	12,0 мкл	14,0 мкл	15,0 мкл
Кон'югат-концентрат	15 мкл	30 мкл	45 мкл	60 мкл	75 мкл	90 мкл	110 мкл	120 мкл	140 мкл	150 мкл
Остаточний обсяг	1515 м	3,03 мкл	4545 м	6,06 мкл	7575 м	9,09 мкл	11,11м	12,12м	14,14м	15,15м

Кількість стріпів	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Буфер для розведення/промивання	17,0 мкл	18,0 мкл	20,0 мкл	21,0 мкл	23,0 мкл	24,0 мкл	26,0 мкл	27,0 мкл	29,0 мкл	30,0 мкл
Кон'югат-концентрат	170 мкл	180 мкл	200 мкл	210 мкл	230 мкл	240 мкл	260 мкл	270 мкл	290 мкл	300 мкл
Остаточний обсяг	17,17м	18,18м	20,2 мкл	21,21м	23,23м	24,24м	26,26м	27,27м	29,29м	30,3 мкл

Кількість стріпів	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Буфер для розведення/промивання	32,0 мкл	33,0 мкл	35,0 мкл	36,0 мкл	38,0мкл	39,0 мкл	41,0 мкл	42,0 мкл	44,0 мкл	45,0 мкл
Кон'югат-концентрат	320 мкл	330 мкл	350 мкл	360 мкл	380 мкл	390 мкл	410 мкл	420 мкл	440 мкл	450 мкл
Остаточний обсяг	32,32м	33,33м	35,35м	36,36м	38,38м	39,39м	41,41м	42,42м	44,44м	45,45м

Кількість стріпів	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Буфер для розведення/промивання	47,0 мкл	48,0 мкл	50,0 мкл	51,0 мкл	53,0 мкл	54,0 мкл	56,0 мкл	57,0 мкл	59,0 мкл	60,0 мкл
Кон'югат-концентрат	470 мкл	480 мкл	500 мкл	510 мкл	530 мкл	540 мкл	560 мкл	570 мкл	590 мкл	600 мкл
Остаточний обсяг	47,47м	48,48м	50,5мкл	51,51м	53,53м	54,54м	56,56м	57,57м	59,59м	60,6 мкл