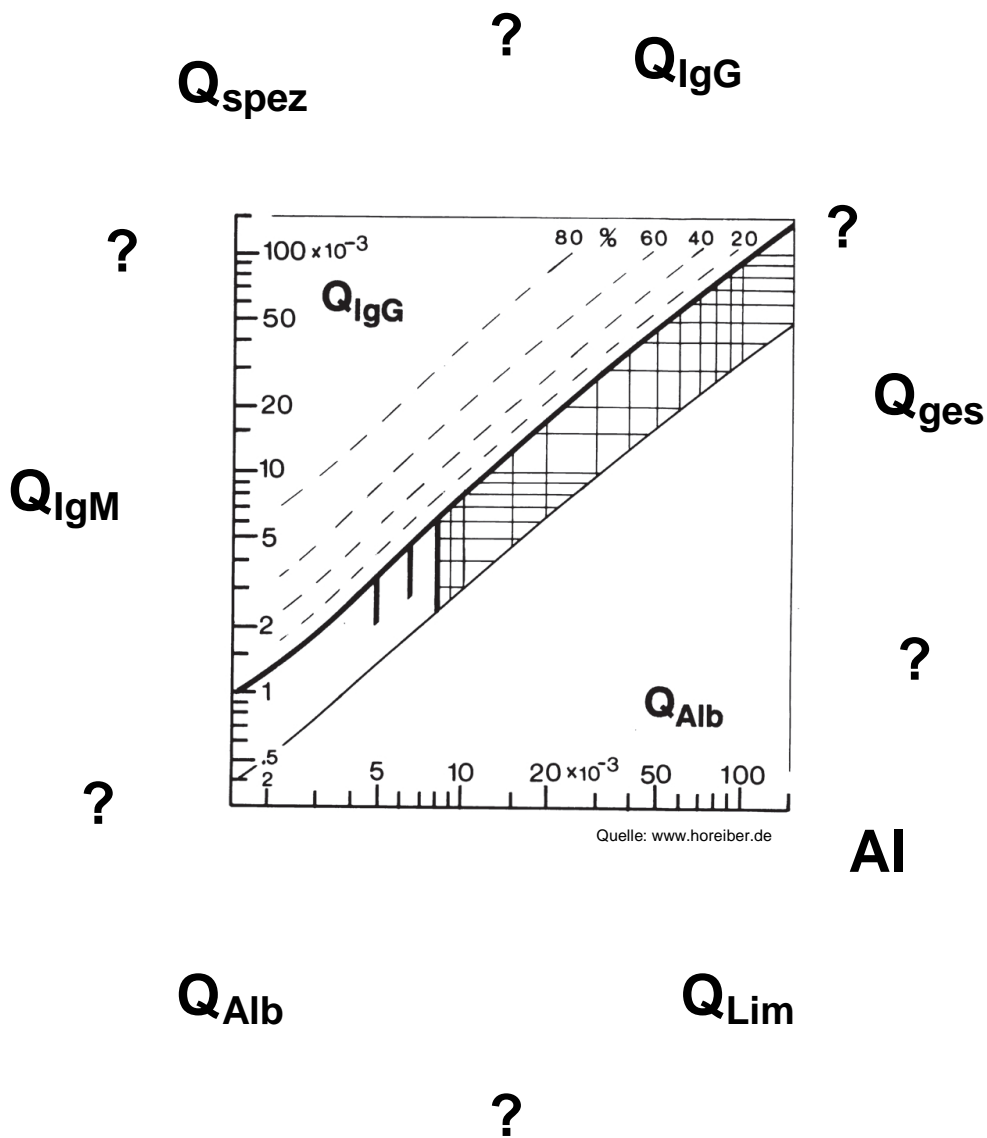




Quelle: www.fotolia.com

Fehlerquellen bei der Bestimmung und Berechnung des Antikörperindex (AI)



1. Allgemeine Fehlerquellen:

- ▼ **Keinen** bluthaltigen Liquor verwenden (Erythrozytenzahl >8000 Mpt/l),
(Vortäuschung positiver Immunglobulinsynthesen)
- ▼ Alle Reagenzien bei **Raumtemperatur** verwenden
- ▼ Liquor/Serum-Paare (zeitnah abgenommen!) in **einem** Testansatz analysieren,
Messung in der Liquoreichkurve
- ▼ Keine Probenmenge **unter 5µl** verwenden => Verdünnungsfehler!
- ▼ Für Kontrollen/Standards und Li/Se-Paare wird ein **Doppelansatz** empfohlen
- ▼ **AI-Kontrollen** sind mitzuführen soweit verfügbar (Qualitätskontrolle nach **RiliBäk**)! und Ergebnisse mit QK-Zertifikat überprüfen
- ▼ **Kontrollen** und **Standards** nur **chargenspezifisch** einsetzen
- ▼ Voradsorption mit RF SorboTech im IgM empfohlen
- ▼ **Cut-off-Werte** zur Berechnung des AI sind für die **Liquordiagnostik**
unbrauchbar (Blut-Liquor-Schrankenfunktion wird nicht berücksichtigt)

2. Fehlerquellen bei der Immunglobulin-Bestimmung:

- ▼ Methodische Grenzen (Nachweisgrenzen / Verdünnungsstufen der
Analysengeräte kennen bzw. berücksichtigen)
- ▼ Mögliche IgG-Infusion
- ▼ Messung falsch niedriger Immunglobulinwerte

3. Fehlerquellen bei der Verdünnung der Liquor- und Serum-Proben:

- ▼ Liquor **nie unverdünnt** einsetzen um Matrixeffekte zu vermeiden!
- ▼ **Standardverdünnungen** einsetzen:
Liquor: 1:2
Serum: 1:100 (IgM); 1:100, 1:400 (IgG/IgA)
weitere Verdünnungen je nach OD-Werten
- ▼ OD-Werte / wME auf **Verdünnungsechtheit** prüfen
(der AI-Wert sollte für verschiedene Liquor/Serum-Verdünnungen annähernd
gleich bleiben; (**Beispiel 1**))
- ▼ **OD-Werte** von Liquor und Serum müssen **nahezu identisch** sein
(**Beispiel 2**)

- ▼ **OD Werte zwischen dem 2ten und 3ten Standard** verwenden
(OD-Werte im asymptotischen Bereich der Standardkurve nicht verwenden;
(Beispiel 3))
- ▼ **Antigenabsättigung** ausschließen (Berücksichtigung der Heidelberger Kurve)
(Ist der OD-Wert der 1:400 Verdünnung nicht signifikant niedriger, oder sogar höher als die 1:100 Verdünnung, ist weiter zu verdünnen **(Beispiel 4)**)
- ▼ **Geometrische Verdünnungsreihen**, evtl. Zwischenstufen, verwenden
- ▼ Keine Verwendung von OD-Werten unterhalb **des niedrigsten bzw. oberhalb des höchsten** Standards → keine Kurvenlinearität
- ▼ **Keine Extrapolation** im unteren und oberen Kurvenbereich

4. Praktische Hinweise zur Liquor- und Serumverdünnung:

- ▼ Bei bekannter intrathekaler Synthese (Quotientendiagramm) mehrere Liquorverdünnungen ansetzen
- ▼ Ist wenig Liquor vorhanden (z.B. bei Kindern) mehrere Serumverdünnungen ansetzen, damit ein geeignetes Li/Se-Paar gefunden werden kann

5. Fehlerquellen bei der Berechnung des AI:

- ▼ Zur Berechnung des AI **nicht die OD-Werte verwenden**,
Umrechnung in wME ist erforderlich!
- ▼ Wenn $Q_{IgX} > Q_{IgXLim}$ (intrathekale Ig-Synthese) muß zur Berechnung des AI der Q_{IgXLim} verwendet werden **(Beispiel 5)**

Beispiele aus der Routine-Liquordiagnostik

Beispiel 1: Prüfung auf Verdünnungsechtheit

Tabelle 1: Liquor-/Serum Paare müssen bei unterschiedlichen Verdünnungen annähernd den gleichen AI ergeben.

	Verdünnung	OD	wME	Qspez. $\times 10^{-3}$	AI
Liquor	1:2	1,61	82,6	29,3	6,8
Serum	1:100	1,5	2812	29,3	
Liquor	1:30	0,39	78,6	27	6,6
Serum	1:1000	0,429	2905	27	

Beispiel 2: Liquor und Serum OD-Werte weit auseinander liegend

Tabelle 2: Die **rot** markierten OD-Werte liegen zu weit auseinander, weshalb ein falsch negativer AI berechnet wird. Die **grün** markierten OD-Werte liegen nah beieinander, weshalb ein korrekter AI berechnet wird. ($Q_{IgG} = 2,9 \times 10^{-3}$)

	Verdünnung	OD	wME	Qspez. $\times 10^{-3}$	AI
Liquor	1:2	0,61	17,75	2,72	0,93
Serum	1:100	1,7	6519		
Liquor	1:2	0,61	17,75	4,78	1,65
Serum	1:400	0,92	3711		

Beispiel 3: Abhängigkeit des AI von der Standardkurve

Tabelle 3: Liquor und Serum OD-Werte im asymptotischen Bereich der Standardkurve
Werden für die AI-Berechnung OD-Werte für Liquor und Serum herangezogen, die im asymptotischen Bereich der Standardkurve liegen, führt das zu einem falsch positiven oder falsch negativen AI.

Standards		Standardkurve HSV-1			
	OD	Verdünnung	OD	wME	
1. Std	0,286	Liquor	1:2	1,24	66,7
2. Std	0,804	Serum	1:400	1,09	5194
3. Std	1,197	$Q_{spez} = 12,8 \times 10^{-3}$			$Q_{IgG} = 3,65 \times 10^{-3}$
4. Std	1,27	AI = 3,5			

Tabelle 4: Liquor und Serum OD-Werte im linearen Bereich der Standardkurve. OD-Werte für Liquor und Serum befinden sich zwischen dem 2ten und 3ten Standard der Standardkurve.

Standards		Standardkurve HSV-1			
	OD		Verdünnung	OD	wME
1. Std	0,368	Liquor	1:4	1,17	57
2. Std	0,891	Serum	1:600	1,26	11714
3. Std	1,376	$Q_{spez} = 4,86 \times 10^{-3}$ $Q_{IgG} = 3,65 \times 10^{-3}$			
4. Std	1,575				
AI = 1,3					

Beispiel 4: Arbeiten bei Antigenabsättigung

Tabelle 5: Führt eine Weiterverdünnung der Proben nicht zu einer Abnahme der OD-Werte oder sogar zu einer Zunahme, ist eine Antigenabsättigung erreicht. Es muss weiter verdünnt werden, bis eine Abnahme der OD-Werte erzielt wird (rot markiert).

	Verdünnung	OD	wME	Qspez. X10 ⁻³	AI
Liquor	1:2	1,177	33,4	2,48	0,23
	1:10	1,392	255	18,98	1,76
	1:20	1,697	971	72,3	6,69
	1:40	1,416	1053	78,4	7,26
	1:100	0,966	1106	82,3	7,62
Serum	1:1000	1,064	13430		

Beispiel 5: Berücksichtigung des Q_{Lim} für die Berechnung des AI

Tabelle 6: Ist $Q_{IgX} > Q_{IgXLim}$, muss für die Berechnung des AI der Q_{IgXLim} herangezogen werden. Unter Berücksichtigung von Q_{Lim} ergibt sich ein positiver AI (grün markiert)! Wird anstelle Q_{Lim} der Q_{IgG} für die Berechnung des AI herangezogen, ergibt sich ein falsch negativer AI (rot markiert).

	Verdünnung	OD	wME	Q _{spez.} x10 ⁻³
Liquor	1:5	0,689	38	7,21
Serum	1:800	0,623	5335	

$Q_{IgG} = 6,57 \times 10^{-3}$	$Q_{Lim} = 2,25 \times 10^{-3}$
$Q_{IgG} > Q_{Lim}$	
$AI = Q_{spez} / Q_{IgG}$	$AI = Q_{spez} / Q_{Lim}$
AI = 1,1	AI = 3,2

Liquordiagnostik mit den VIROTECH Diagnostics ELISA und LINE Produkten

Verantwortungsvolle Diagnostik & praxisnahe Abarbeitung

- ▼ AI-Bestimmung und Bestimmung der Serum AK je Ig Klasse auf einer Mikrotiterplatte und in einem Lauf
- ▼ Ökonomische Abarbeitung mittels fester Standardkurve oder gebrauchsfertiger Standards
- ▼ einheitliche Serum und Liquorverdünnung sowie Inkubationszeiten
- ▼ AI-Kontrollen
- ▼ alle Teste mit CE-Markierung
- ▼ automatisierbare Abarbeitung möglich, Auswertesoftware vorhanden
- ▼ Borrelia Liquor Line/Immunoblot

Liquor-Palette:

- | | |
|-------------------------------|------------------------|
| ▼ Borrelia afzelii + VlsE IgG | ▼ Borrelia afzelii IgM |
| ▼ CMV IgG | ▼ EBV IgG |
| ▼ FSME/TBE IgG/IgM | ▼ HSV Screen IgG |
| ▼ HSV 1 (gG1) IgG | ▼ HSV 2 (gG2) IgG |
| ▼ Mumps IgG | ▼ Masern IgG/IgM |
| ▼ VZV IgG/IgM/IgA | ▼ Rubella Virus IgG |

Antikörper-Index-Kontrollen

Die Bestimmung des Antikörper-Index dient dem Nachweis einer Synthese erregerspezifischer Antikörper im zentralen Nervensystem. Er errechnet sich aus dem Verhältnis des Quotienten aus den Konzentrationen der erregerspezifischen Antikörper im Liquor und Serum und dem zugehörigen Gesamt-Immunglobulinquotienten aus Liquor und Serum.

Vorteile der Antikörperindexkontrolle

- ▼ Überprüfung der Richtigkeit und Präzision der AI-Bestimmung
- ▼ Qualitätskontrolle in der täglichen Liquor Routinediagnostik
- ▼ Gebrauchsfertiges Liquor/Serum-Kontrollenpaar für den Normalbereich (AI <1,5)
- ▼ Gebrauchsfertiges Liquor/Serum-Kontrollenpaar für den pathologischen Bereich (AI >1,5)
- ▼ alle benötigten Angaben zur Berechnung auf dem Qualitätskontroll-Zertifikat enthalten

QUALITÄTSKONTROLL-ZERTIFIKAT
QUALITY CONTROL CERTIFICATE
CERT

Borrelia afzelii + VlsE ELISA
B. afzelii + VlsE Europe ELISA
IgG Liquor Antikörper Index Kontrollen

CSF AI 022 E
CSF AI 024 E

Kit		MTP Platte/ Plate							
REF	EN022L65	LOT	12581.01	2013/08	REF	EC022G01	LOT	126	2013/08
IgG									
		CSF AI (<1,5)		CSF AI (≥1,5)					
		CSF AI L1	CSF AI S1	CSF AI L2	CSF AI S2				
LOT		12581	12581	12581	12581				
REF		102242	102244	102243	102245				
		2013/08	2013/08	2013/08	2013/08				
AI		0,6 – 1,4		2,0 – 4,2					
ZW		0,9		2,8					
IgG CONC T Gesamt Konzentration / total concentration		CSF: 25 mg/l SERUM: 8928 mg/l		CSF: 40 mg/l SERUM: 12698 mg/l					
IgG Q Quotient IgG-Gesamt / total IgG quotient		Q = 2,8 x 10 ⁻³		Q = 3,15 x 10 ⁻³					
ALB CONC T Gesamt Konzentration / total concentration		CSF: 210 mg/l SERUM: 41700 mg/l		CSF: 210 mg/l SERUM: 41700 mg/l					
ALB Q Quotient Albumin-Gesamt / total albumin quotient		Q = 5,0 x 10 ⁻³		Q = 5,0 x 10 ⁻³					

Vorhanden für:

- ▼ Borr. afzelii + VlsE IgG
- ▼ EBV IgG
- ▼ FSME/TBE IgG
- ▼ HSV Screen IgG
- ▼ Masern IgG
- ▼ Rubella IgG
- ▼ VZV IgG

Liquor Auswertesoftware

Produkt: _____
Testdatum: _____
Kit-Lotnummer: _____
Patienten-ID _____

Formular unvollständig

IgG

Std 1 Lotar.: _____
Std 2 Lotar.: _____
Std 3 Lotar.: _____
Std 4 Lotar.: _____
AI normal Lotar.: _____
AI pathologisch Lotar.: _____

OD Standards		
Standard	Stärke	Zertifikat
1,5wME		
6,25wME		
25wME		
100wME		

Zertifikatsangabe fehlt
Zertifikatsangabe fehlt

	AI normal	AI pathologisch	Patient	Patient	Patient
Test-OD	Liquor Serum	Liquor Serum	Liquor Serum	Liquor Serum	Liquor Serum
Probenverd.	2 400	2 400	2 400	2 400	2 400
Konz. IgG [mg/L]				0,0 0,0	0,0 0,0
Konz. Alb. [mg/L]				0,0 0,0	0,0 0,0
OD-Werte	kein Wert	kein Wert	kein Wert	kein Wert	kein Wert
Li/Se Relation	kein Wert	kein Wert	kein Wert	kein Wert	kein Wert
Gesamtbeurteilung	kein Wert	kein Wert	kein Wert	kein Wert	kein Wert
wME					
wME x Verd.					
Q spez. IgG					
Q IgG					
Q Albumin					
Q Lim					
AI-Index	kein Index	kein Index	kein Index	kein Index	kein Index
Diagnose	kein Befund	kein Befund	kein Befund	kein Befund	kein Befund
Patienten VE					

- ▼ Einfaches Eingeben der OD-Werte
- ▼ Berechnung mit gemessener oder fester Standardkurve möglich
- ▼ Automatischer Zertifikatsabgleich
- ▼ Automatischer Übertrag der IgX und Alb Konzentration des Patienten zur einfachen Auswertung mehrerer Parameter bzw. Verdünnungen (1 Patient pro Blatt) **oder:**
- ▼ Automatischer Übertrag der Standardwerte zur Diagnostik eines Parameters für mehrere Patienten (1 Parameter pro Blatt)
- ▼ Vergleich der gemessenen OD-Werte mit dem Bereich der Standardkurve
- ▼ Überprüfung der Relation von Liquor OD zu Serum OD
- ▼ Automatische Umrechnung in wME
- ▼ Automatische Berücksichtigung des Q_{Lim}
- ▼ Direkte Berechnung des AI mit Angabe der Diagnose
- ▼ Software mit CE Markierung

B_Liquor_troubleshooting_20170125-04