

# RIDASCREEN<sup>®</sup> Borrelia IgG, IgM

N° art.: K3221 (IgG)  
K3231 (IgM)



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Germany  
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



## 1. Utilisation prévue

Pour diagnostics *in vitro*. Les tests RIDASCREEN® Borrelia (K3221, K3231) sont des immunoessais enzymatiques utilisés pour caractériser de manière quantitative les anticorps IgG ou les anticorps IgM dirigés contre les espèces *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*) dans le sérum humain.

Ces tests sont à utiliser en cas de soupçons fondés d'une borréliose ou pour clarifier l'état immunitaire du patient.

## 2. Résumé et explication du test

*Borrelia burgdorferi sensu lato* comporte des espèces connues pathogènes pour l'homme comme *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia spielmanii* et *Borrelia bavariensis* présentes en Europe. Les espèces comme *Borrelia valaisiana* et *Borrelia lusitaniae* sont considérées comme potentiellement pathogènes.

En raison de la réaction du système immunitaire, des anticorps spécifiques dirigés contre l'agent pathogène se forment après une infection par *Borrelia*. Ces anticorps peuvent être caractérisés dans le sérum à l'aide d'une réaction immunologique. La valeur d'un test va dépendre de la méthode utilisée ainsi que du choix de l'antigène spécifique à l'agent pathogène recherché. Un immunoessai enzymatique est une très bonne méthode de dépistage qui permet de formuler des avis clairs sur l'état immunologique d'un patient.

## 3. Principe du test

Les antigènes purifiés sont fixés à une plaque de microtitration. Les anticorps présents dans les échantillons de sérums des patients se lient aux antigènes de façon spécifique et sont caractérisés au cours d'une deuxième étape à l'aide d'anticorps anti-humains marqués par une enzyme (conjugué). L'enzyme transforme un substrat incolore ( $H_2O_2$  / TMB) en un produit final bleu. La réaction enzymatique est stoppée en ajoutant de l'acide sulfurique. La couleur passe alors instantanément du bleu au jaune. La mesure s'effectue à une longueur d'onde de 450 nm (longueur d'onde de référence  $\geq 620$  nm).

#### 4. Contenu de l'emballage

Tab. 1: Contenu de l'emballage (Les réactifs d'un emballage suffisent à 96 déterminations)

			K3221 IgG	K3231 IgM
<b>Plate</b>	96 déterm.	Plaque de microtitration; 12 barrettes de microtitration (sécables) sur un support; où est fixé l'antigène native de <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> ( <i>B. afzelii</i> , <i>B. garinii</i> , <i>B. burgdorferi</i> ) et l'antigène recombinante de <i>B.afzelii</i> (PKo)		X
<b>Diluent</b>	110 ml	Tampon de dilution, prêt à l'emploi ; solution NaCl avec phosphates; coloration jaune; contient du lysat <i>Treponema phagedenis</i> pour l'absorption des anticorps réagissant de manière croisée contre les autres spirochètes	X	X
<b>SeroWP</b>	100 ml	Tampon de lavage, concentré 10x ; solution NaCl avec tampon Tris	X	X
<b>Control IgG +</b> <i>Bouchon vert</i>	2,5 ml	Contrôle standard IgG, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué, coloration verte	X	
<b>Control IgM +</b> <i>Bouchon rouge</i>	2,5 ml	Contrôle standard IgM, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué, coloration rouge		X
<b>Control IgG -</b> <i>Bouchon transparent</i>	1,2 ml	Contrôle négatif IgG, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué	X	
<b>Control IgM -</b> <i>Bouchon transparent</i>	1,2 ml	Contrôle négatif IgM, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué		X
<b>Control IgG A</b> <i>Bouchon vert</i>	1,2 ml	Contrôle de qualité A IgG, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué	X	
<b>Control IgG B</b> <i>Bouchon vert</i>	1,2 ml	Contrôle de qualité B IgG, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué	X	
<b>Control IgM A</b> <i>Bouchon rouge</i>	1,2 ml	Contrôle de qualité A IgM, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué		X
<b>Control IgM B</b> <i>Bouchon rouge</i>	1,2 ml	Contrôle de qualité B IgM, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué		X
<b>SeroG LD</b> <i>Bouchon vert</i>	12 ml	Conjugué IgG anti-humain LD (chèvre), prêt à l'emploi; conjugué Peroxydase Anticorps dans solution stable de protéines	X	
<b>SeroM HD</b> <i>Bouchon rouge</i>	12 ml	Conjugué IgM anti-humain HD (chèvre), prêt à l'emploi; conjugué Peroxydase Anticorps dans solution stable de protéines		X
<b>SeroSC</b>	12 ml	Substrat H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Tétraméthylbenzidine ; prêt à l'emploi	X	X
<b>Stop</b>	12 ml	Réactif d'arrêt 1 N d'acide sulfurique ; prêt à l'emploi	X	X

Indication des substances dangereuses conformément à l'obligation d'étiquetage. Pour plus de détails, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 5. Instructions de stockage

Le kit doit être conservé à 2 – 8 °C et peut continuer à être utilisé jusqu'à la date d'expiration inscrite sur ce dernier. Après l'ouverture des réactifs ou dilution du tampon de lavage, ces réactifs peuvent être utilisés pendant une durée maximum de 4 semaines à condition d'être conservés à 2 – 8 °C ou pendant 5 jours s'ils sont conservés à température ambiante (20 – 25 °C). La date d'expiration dépassée, la garantie de qualité n'est plus valide.

Le sachet en aluminium contenant la plaque de microtitration doit être ouvert de manière à ne pas déchirer le clip de fermeture. Les bandelettes de microtitration inutilisées doivent être replacées immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Il faut éviter toute contamination des réactifs ainsi qu'une exposition directe à la lumière du substrat incolore.

## 6. Réactifs supplémentaires nécessaires – Matériel requis

### 6.1. Réactifs

Eau distillée ou déionisée

### 6.2. Matériel

- Incubateur à 37 °C
- Tubes à essai
- Agitateur Vortex
- Micropipettes de 10 - 100 µl et 100 - 1 000 µl
- Éprouvette (1 000 ml) Chronomètre
- Appareil de lavage pour plaques de microtitration ou pipette à multicanaux
- Photomètre pour microplaques (450 nm, longueur d'onde de référence  $\geq$  620 nm)
- Papier filtrant (tissus de laboratoire)
- Poubelle avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 %

## 7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test doit être effectué uniquement par du personnel de laboratoire ayant reçu une formation adéquate. Les recommandations relatives au travail dans les laboratoires médicaux doivent être respectées. Les instructions concernant la réalisation du test doivent être rigoureusement suivies. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs par voie buccale. Éviter tout contact avec la peau lésée ou les muqueuses.

Porter des équipements de protection individuelle (gants en matériau adapté, blouse et lunettes de protection) lors de la manipulation de réactifs et d'échantillons et se laver les mains après le test. Ne pas fumer, manger ou boire dans les locaux où des échantillons sont manipulés.

Pour plus de détails, consulter les fiches de données de sécurité (MSDS) sur [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Les sérums de contrôle se trouvant dans le kit (contrôles positifs et négatifs) ont été examinés pour détecter des anticorps HIV et HCV-Ak ainsi que l'HbsAg et ont été jugés négatifs. Ils doivent pourtant être traités, comme les échantillons des patients et tous les matériaux entrant en contact avec ces derniers, comme potentiellement infectieux et être manipulés conformément aux directives nationales de sécurité

Tous les réactifs et les matériels doivent être éliminés après usage de manière appropriée et responsable. Lors de l'élimination, veuillez respecter les dispositions nationales en vigueur!

## 8. Accumulation et stockage des échantillons

Le test a été conçu pour l'étude d'échantillons de sérums humains. Après avoir prélevé du sang, le sérum doit être très rapidement séparé du caillot sanguin pour éviter une hémolyse. Les échantillons doivent rester entreposés au froid ou congelés jusqu'à la réalisation du test. Il faut absolument éviter de décongeler puis de recongeler les échantillons, et éviter également toute contamination microbienne. L'utilisation d'échantillons inactivés à la chaleur, lipémiques, hémolytiques, ictériques ou troubles peut conduire à des résultats faussés.

Tab. 2: Stockage des échantillons

Sérum non dilué		Sérum dilué
2 – 8 °C	-20 °C	2 – 8 °C
1 semaine	> 1 semaine	7 heures

## 9. Réalisation du test

### 9.1. Généralités

Avant de les utiliser, tous les réactifs et la plaque de microtitration doivent être amenés à température ambiante (20 – 25 °C). Les barrettes de microtitration peuvent être sorties du sachet en aluminium uniquement lorsqu'elles sont à température ambiante. Les réactifs doivent être bien mélangés juste avant d'être utilisés. Après utilisation, le kit doit être aussitôt à nouveau entreposé à 2 – 8 °C.

Seule la quantité de réactifs nécessaire à la réalisation du test doit être prélevée. Le réactif excédentaire ne doit pas être reversé dans le récipient puisque cela pourrait entraîner une contamination.

Les barrettes de microtitration ne peuvent pas être réutilisées plusieurs fois. Les réactifs et les barrettes de microtitration ne doivent pas être utilisés lorsque l'emballage est endommagé ou lorsque le récipient n'est plus étanche.

Certains des réactifs contenus dans le kit ne sont pas spécifiques au test. Ces réactifs caractérisés par Sero (par ex. **SeroWP**) peuvent également être utilisés dans d'autres ELISA RIDASCREEN® Sero ELISA avec les réactifs correspondants.

**Les sérums de contrôle sont spécifiques aux lots. Il est interdit d'intervertir les sérums de contrôle provenant de kits de différents numéros de lots.**

**Les contrôles A et B RIDASCREEN® Sero Elisa sont ajoutés en tant que composant optionnels dans les kits respectifs RIDASCREEN Sero Elisa. Ils sont utilisés comme un contrôle de qualité supplémentaire qui peut être fait à titre optionnel. Ils contiennent des sérums humains avec des concentrations en anticorps différentes.**

## 9.2. Préparation du tampon de lavage

1 mesure du concentré du tampon de lavage **SeroWP** est mélangée à 9 mesures d'eau distillée. 100 ml du concentré sont versés dans une éprouvette à pied de 1 000 ml et complétés par de l'eau distillée pour obtenir 1 000 ml. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissous au préalable en réchauffant le mélange (bain-marie à 37 °C). Le tampon de lavage dilué peut être utilisé pendant 4 semaines maximum à condition d'être conservé à 2 – 8 °C ou pendant 1 semaine s'il est conservé à température ambiante (20 – 25 °C).

## 9.3. Préparation des échantillons

### 9.3.1. Test des échantillons de sérum

Avant de commencer le test, diluer les échantillons de sérum à examiner avec le tampon de dilution **Diluent** au 1 : 100.

*par ex.* 10 µl de sérum + 990 µl de **Diluent**

Pour les déterminations d'IgM, les sérums doivent être soumis avant le test à une absorption des IgG (par ex. avec le RIDA® RF-Absorbens, n° art. Z0202).

### **Attention !**

**Les contrôles négatif et standard, les contrôles A et B sont prêts à l'emploi et ne doivent pas être dilués ou absorbés.**

#### 9.4. Première incubation

Après avoir introduit un nombre suffisant de puits dans le cadre, 100 µl des sérums dilués et des contrôles prêts à l'emploi sont pipetés dans les puits correspondants, la position A1 (valeur d'essai du réactif) reste vide. Le contrôle négatif **Control IgG | -** ou **Control IgM | -** est effectué de manière unique et le contrôle standard **Control IgG | +** ou **Control IgM | +** est effectué deux fois. Ajouter les contrôles de qualité **Control IgG | A** et **Control IgG | B** ou les contrôles de qualité **Control IgM | A** et **Control IgM | B** qu'une seule fois. La plaque est mise à incuber pendant 30 minutes à 37 °C dans un incubateur. Le fond des puits ne doit pas entrer en contact avec des matériaux ayant une bonne conductibilité thermique (métal ou papier humide). La plaque de microtitration doit être recouverte au cours de l'incubation.

Les contrôles correspondants à la détermination (IgG ou IgM) doivent être utilisés.

A1	Blanc réactif
B1	Contrôle négatif
C1	Contrôle standard
D1	Contrôle standard
E1	Contrôle de qualité A
F1	Contrôle de qualité B
G1, H1	Serum de patient 1, 2 etc....

#### **Attention !**

**La plaque de microtitration ne doit pas être mise dans un récipient d'incubation froid qui se réchauffe à 37 °C uniquement au cours de l'incubation. Le récipient doit déjà se trouver à 37 °C.**

#### 9.5. Lavage

Les puits doivent être vidés dans une poubelle contenant une solution d'hypochlorite pour être désinfectée. Puis la plaque est retournée sur du papier absorbant, légèrement agitée afin d'éliminer l'humidité résiduelle. Un lavage est effectué ensuite 4 fois successivement avec 300 µl de tampon de lavage. Après chaque lavage, la plaque doit être à nouveau retournée sur une zone non utilisée du papier absorbant et agitée pour la vider complètement.

**En cas d'utilisation d'automates de lavage, l'appareil doit être réglé sur le bon type de plaque utilisée. A l'issue du lavage, la plaque doit être retournée sur du papier absorbant propre et être agitée pour éliminer l'humidité résiduelle.**

## 9.6. Deuxième incubation

Ajout de 100 µl de Conjugué IgG anti-humain LD **SeroG LD** ou Conjugué IgM anti-humain HD **SeroM HD** dans les puits correspondants (y compris A1). Puis la plaque est mise à incuber pendant 30 minutes à 37 °C dans un incubateur (voir point 9.4.).

## 9.7. Lavage

Effectuer 4 lavages comme indiqué à la partie 9.5.

## 9.8. Troisième incubation

Ajout de 100 µl de substrat **SeroSC** dans tous les puits. La plaque est ensuite mise à incuber pendant 30 minutes à 37 °C dans un incubateur. En ajoutant 100 µl de solution d'arrêt **Stop** dans tous les puits, la réaction est stoppée. A l'issue d'un mélange précautionneux (en tapant légèrement sur le bord de la plaque), l'extinction est mesurée dans un photomètre à plaques à 450 nm (longueur d'onde de référence  $\geq 620$  nm). L'équilibrage de la valeur nulle s'effectue contre la valeur d'essai du réactif (position A1).

## 10. Contrôle de qualité et signes d'une dénaturation du réactif

Pour le contrôle de qualité, le contrôle standard (en détermination double) et le contrôle négatif doivent être effectués à chaque réalisation de test. Le test s'est déroulé correctement lorsque la valeur moyenne de densité optique des contrôles standard à 450/620 nm se trouve dans la plage de valeurs indiquée sur la fiche signalétique ci-jointe. Si les deux mesures individuelles diffèrent de plus de 20 % de la valeur moyenne, le test doit être renouvelé. Le contrôle négatif doit indiquer à 450/620 nm une valeur d'extinction  $< 0,3$ .

Les contrôles A et B RIDASCREEN® Sero ELISA sont des contrôles additionnels pour un contrôle de qualité supplémentaire qui peut être fait à titre optionnel. Les valeurs cibles sont fournies dans les certificats d'assurance qualité inclus dans les kits. Les valeurs obtenues (U/ml, UI/ml ou mUI/ml) sont recommandées comme valeurs de référence pour les contrôles de qualité dans les laboratoires accrédités.

Un écart par rapport aux valeurs requises, comme une turbidité du réactif ou une coloration en bleu du substrat avant de le verser dans les puits, peuvent être le signe d'une dénaturation du réactif.

Si les valeurs données ne sont pas satisfaites, il est nécessaire de respecter les points suivants avant de renouveler le test :

- Conservation des réactifs utilisés
- Capacité à fonctionner des appareils utilisés (par ex. étalonnage)
- Réalisation correcte du test



- Contrôle visuel des composants du kit pour détecter une éventuelle contamination ou un éventuel défaut d'étanchéité; une solution du substrat colorée en bleu ne doit plus être utilisée.

Si, lors du renouvellement du test, les conditions ne sont pas satisfaites, adressez-vous au fabricant ou à votre revendeur local R-Biopharm.

## 11. Analyse et interprétation

L'analyse du test peut être effectuée de trois manières différentes :

1. via la courbe standard fournie
2. via le tableau des valeurs (voir la fiche signalétique fournie)
3. de manière mathématique selon la méthodes des 4 paramètres ou la méthode  $\alpha$

**Avant d'effectuer l'analyse, la valeur d'essai du réactif doit être déduite de toutes les valeurs d'extinction.**

### 11.1 Analyse via la courbe standard

Afin d'effectuer une analyse au moyen de la courbe standard, il est d'abord nécessaire de procéder à une correction de la variation quotidienne (c'est-à-dire de la variation normale des valeurs d'un jour à l'autre) via la valeur moyenne du contrôle standard. Le facteur de correction F est déterminé à partir de la valeur cible du contrôle standard et de la valeur mesurée lors de chaque utilisation de ce même contrôle. La valeur cible, dépendante du lot, est notée sur la fiche signalétique ci-jointe.

$$F = \frac{\text{Valeur théorique du contrôle standard}}{\text{valeur moyenne d'extinction du contrôle standard}}$$

Toutes les valeurs DO des échantillons sont multipliées par le facteur F. La valeur U/ml correspondante est alors relevée avec ces valeurs corrigées dans la courbe standard.

### 11.2 Analyse via le tableau des valeurs

La valeur moyenne d'extinction du contrôle standard détermine dans le tableau des valeurs la colonne contenant la plage de valeurs valable pour la mesure en cours. La valeur d'extinction mesurée de l'échantillon est affectée dans la colonne à la plage d'extinction correspondante et le titre correspondant est relevé en U/ml dans la deuxième colonne de gauche.

La valeur moyenne d'extinction du contrôle standard est par exemple de 1,02 au cours d'une mesure. Dans ce cas, pour la détermination du résultat, la colonne du tableau contenant la plage 1,00 à 1,05 est déterminante.

Un échantillon de patient avec une valeur d'extinction de 1,38 se trouve donc dans une plage de titre de 60,1 à 100,0 Unités/ml. (Les valeurs mentionnées doivent être considérées comme exemples et peuvent s'écarter des valeurs actuelles de la fiche signalétique.)

L'analyse du résultat déterminé - positif (+), négatif (-) ou limite (?) – doit être relevée dans la première colonne du tableau des valeurs.

	U/ml	Plage de valeurs pour le contrôle standard		
			1,00 - 1,05	
-	< 10,0		< 0,22	
?	10,0 - 14,0		0,22 - 0,31	
+	14,1 - 30,0		0,32 - 0,62	
	30,1 - 60,0		0,63 - 1,06	
	60,1 - 100,0		1,07 - 1,42	
	100,1 - 200,0		1,43 - 1,81	
	200,1 - 400,0		1,82 - 2,05	
	> 400,0		> 2,05	

Fig. 1 : exemple d'une détermination IgG (extrait d'une fiche signalétique spécifique à un lot)

### 11.3 Analyse mathématique

Les valeurs nécessaires pour une analyse mathématique selon la méthode des 4 paramètres ou la méthode sont notées sur la fiche signalétique jointe.

### 11.4. Résultat du test

Tab 3: Analyse des unités déterminées

	IgG	IgM
Négatif	< 10 U/ml	< 12 U/ml
Équivoque	10-14 U/ml	12-17 U/ml
Positif	> 14 U/ml	> 17 U/ml

## 12. Limites de la méthode

Les ELISA RIDASCREEN® Borrelia permettent de caractériser des anticorps IgG ou IgM contre Borrelia. Ces tests ne peuvent pas servir à déduire un rapport entre la valeur d'absorbance déterminée et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés en liaison avec le tableau clinique.

Le tampon de dilution contient l'antigène *Treponema phagedenis* utilisé pour l'absorption des anticorps réagissant de manière croisée, comme décrit dans les documents techniques relatifs aux spirochètes. Cela permet d'exclure en majeure partie les résultats faussement positifs induits par des réactions avec des anticorps qui ne sont pas spécifiques aux *B. burgdorferi s.l.*

Un résultat négatif n'exclut pas d'infection déjà existante. À un stade précoce de l'infection, la formation d'anticorps peut être encore si faible que le test donne un résultat négatif. En cas d'une infection par borréliose, les anticorps IgM peuvent être caractérisés au plus tôt 5 jours après une morsure de tique. Par conséquent, un échantillon de sérum prélevé peu de temps après une morsure de tique n'est pas adapté à la caractérisation d'une infection récente, même lorsque le test IgG donne un résultat incertain ou positif (cicatrice du sérum). Même au stade II de l'infection, aucun niveau d'anticorps mesurable n'est identifié chez 30 % des patients malades. Par conséquent, en cas de soupçons cliniques, un autre échantillon de sérum doit être examiné.

Lors de l'examen des paires de sérum, un résultat IgM positif, tout comme une hausse considérable du titre, doit être considéré comme une indication d'infection active.

Si l'ELISA est utilisé pour le contrôle thérapeutique, il faut prendre en compte que de nettes diminutions du titre ne sont souvent constatées qu'après plusieurs mois malgré la réussite du traitement. Les anticorps IgM peuvent également persister dans ce cas.

En cas d'examens sérologiques, il est nécessaire de toujours prélever successivement deux échantillons sur un patient afin d'améliorer la qualité du diagnostic. L'évolution du titre est importante pour l'interprétation des résultats.

Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux, cause de maladie.

### 13. Caractéristiques de performances

Tab. 4: Variante inter-essai (n=30)

Variante inter-essai	IgG		IgM	
	OD	CV	OD	CV
Sérum 1	0.126	8.6 %	0.150	4.1 %
Sérum 2	0.488	7.5 %	0.502	4.8 %
Sérum 3	0.956	3.8 %	1.216	6.3 %

Tab. 5: Variante intra-essai (n=24)

Variante intra-essai	IgG		IgM	
	OD	CV	OD	CV
Sérum 1	0.143	5.3 %	0.176	3.1 %
Sérum 2	0.550	3.3 %	0.589	2.4 %
Sérum 3	1.089	3.3 %	0.989	1.8 %

Tab. 6: Sensitivité et spécificité par rapport à deux autres ELISA commercialisés

n=80	IgG	IgM
Sensibilité	100.0 %	100.0 %
Spécificité	97.4 %	93.6 %

Tab. 7: Résultats avec 200 sérums de donneurs de sangs étudiés provenant d'un centre de don sanguin en Allemagne

200 sérums de donneurs de sang	IgG	IgM
négatif	88.5 %	93.5 %
limite	5.5 %	3.0 %
positif	6.0 %	3.5 %

## Bibliographie

1. Agüero-Rosenfeld, M.E., et al.: Evolution of the Serologic responses to *Borrelia burgdorferi* in Treated Patients with Culture-Confirmed Erythema Migrans. *J.Clin.Microbiol.* 34, 1 – 9 (1996)
2. Hauser, U., Wilske, B.: Enzyme-linked immunosorbent assays with recombinant internal flagellin fragments derived from different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato for the serodiagnosis of Lyme neuroborreliosis. *Med. Microbiol. Immunol.* 186, 145 – 151 (1997)
3. Hilton, E., et al.: Temporal Study of Immunoglobulin M Seroactivity to *Borrelia burgdorferi* in Patients treated for Lyme Borreliosis. *J. Clin. Microbiol.* 35, 3, 774 – 776 (1997)
4. Hubalek, Z., Halouzka, J.: Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomic groups in Europe, a review. *European Journal of Epidemiology* 13, 951 – 957 (1997)
5. Kaiser, R., et al.: Prevalence of Antibodies to *Borrelia burgdorferi* and Tick-borne Encephalitis Virus in an Endemic Region in Southern Germany. *Zbl. Bakt.* 286, 534 – 541 (1997)
6. Kamradt, T., et al.: Die Lyme-Arthritis; Klinik, Diagnose und Therapie. *Deutsches Ärzteblatt* 95, 5, 214 – 219 (1998)
7. Köhler, W.: Lyme-Borreliose. *Immun. Infekt.* 2 , 144 – 148 (1998)
8. Reiber, H.: Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. *Lab. Med.* 19: 444-462 (1995)
9. Wilske, B. et al.: MiQ 12 – Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Urban & Fischer (2000)
10. Wilske, B.: Mikrobiologische Diagnostik der Lyme Borreliose. *Hygiene und Mikrobiologie* 3/98, 22 – 25 (1998)
11. Wilske, B., et al.: Phenotypic Analysis of Outer Surface Protein C (OspC) of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato by Monoclonal Antibodies: Relationship to Genospecies and OspA Serotype. *J. Clin. Microbiol.* 33, 1, 103 – 109 (1995)
12. Erkrankungen an Lyme-Borreliose in den Jahren 1994 – 1996, Erhebung in den neuen Bundesländern. *Bericht Bundesgesundhbl.* 12/97, 486 – 491 (1997)
13. Leitlinien: Diagnostik der Lyme-Borreliose. *Mikrobiologie* 8, S. 213 (1998)
14. Lyme-Borreliose. *Deutsches Ärzteblatt* 95, 25, 1587 – 1588 (1998)
15. Merkblatt für Ärzte: Lyme-Borreliose – Erkennung und Verhütung. *Bundesgesundhbl.* 11/96, Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin und Robert Koch-Institut, 436 – 438 (1996)