

**VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA  
(HSV Screen IgG/IgM ELISA)**

**Bestell-Nr.: EC108.00**

**HSV Screen IgG Liquor/CSF Standards**

**Bestell-Nr.: EC108L60**

**HSV Screen IgG Liquor/CSF AI Ctrl-Set**

**Bestell-Nr.: EN108L65**

**Farbcodierung: rot metallic**

**NUR ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK**

**VIROTECH Diagnostics GmbH  
Löwenplatz 5  
D- 65428 Rüsselsheim**

**Tel.: +49-6142-6909-0  
Fax: +49-6142-966613**

**<http://www.virotechdiagnostics.com>**



# Inhalt

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Verwendungszweck</b> .....   | <b>3</b>  |
| <b>2. Diagnostische Bedeutung</b> .....  | <b>3</b>  |
| <b>3. Testprinzip</b> .....  | <b>4</b>  |
| <b>4. Packungsinhalt (IgG und IgM Testkit)</b> .....                                       | <b>4</b>  |
| <b>5. Lagerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien</b> ..... | <b>4</b>  |
| <b>6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise</b> .....  | <b>5</b>  |
| <b>7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert)</b> .....                   | <b>5</b>  |
| <b>8. Testdurchführung</b> .....   | <b>5</b>  |
| 8.1 Untersuchungsmaterial .....  | 5         |
| 8.2 Vorbereitung der Reagenzien .....  | 5         |
| 8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung.....   | 6         |
| 8.4 Einsatz von ELISA-Prozessoren .....  | 6         |
| <b>9. Testauswertung</b> .....   | <b>6</b>  |
| 9.1 Testfunktionskontrolle .....   | 6         |
| 9.2 Auswertungsschema IgG und IgM .....  | 7         |
| 9.3 Grenzen des Tests.....   | 7         |
| <b>10. Leistungsdaten</b> .....  | <b>7</b>  |
| 10.1 Sensitivität und Spezifität .....   | 7         |
| 10.2 Kreuzreaktivität .....  | 8         |
| 10.3 Durchseuchung (erwartete Werte) .....   | 8         |
| 10.4 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit) .....                            | 9         |
| 10.5 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit) .....                          | 9         |
| <b>11. Literatur</b> .....   | <b>9</b>  |
| <b>12. Testablaufschemata</b> .....  | <b>11</b> |

## 1. Verwendungszweck

---

VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA dient dem semiquantitativen und qualitativen Nachweis spezifischer IgG- und IgM-Antikörper gegen *Herpes simplex Virus* (HSV-1/2) im Humanserum. Der VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA verwendet eine Kombination aus gereinigten HSV 1- und HSV 2-Antigenen. Eine Differenzierung zwischen HSV 1 und HSV 2 ist nur mittels Verwendung der Glykoproteine G möglich. Wir empfehlen deshalb bei einem positiven HSV Screen Befund die anschließende Differenzierung mittels eines typspezifischen ELISAs oder VIROTECH HSV IgG LINE Immunoblot (gG1, gG2). Die Serologie ist nur zur Bestimmung des Immunstatus und des Herpes-Ausschlusses geeignet. Das IgM-Ergebnis darf nicht isoliert vom IgG-Ergebnis betrachtet werden.

Die Diagnose des Genital-Herpes muss durch den Erregernachweis gesichert werden.

Da zum Zeitpunkt der Geburt das Immunsystem des Säuglings noch nicht vollständig ausgebildet ist, ist die Serologie zum Nachweis des Neugeborenen Herpes nicht geeignet, sie kann aber retrospektiv zur Messung der transplazentar übertragenen anti-HSV IgG-Antikörper Anwendung finden.

## 2. Diagnostische Bedeutung

---

Herpes simplex Viren sind in der Bevölkerung weit verbreitet. Sie werden durch engen körperlichen Kontakt über die Schleimhäute übertragen, so dass die Durchseuchung meist schon im frühen Kindesalter einsetzt. Obwohl diese Primärinfektionen zu über 90% asymptomatisch bleiben, etabliert sich in der Regel eine latente Infektion in den regionalen Ganglien. Für das Verständnis der Pathogenese von HSV-Infektionen ist die Tatsache entscheidend, dass latent in Ganglienzellen persistierende Viren reaktiviert werden können. Durch die asymptomatische Virusausscheidung über Speichel und Genitalsekret wird die Weiterverbreitung des Virus begünstigt. Im orofazialen Bereich überwiegen die HSV 1-Infektionen während im Genitalbereich die Infektionen überwiegend durch HSV 2 hervorgerufen werden, nur ein geringer Teil (5-30%) wird durch HSV 1 verursacht (7, 11).

Die genitalen HSV 1-Infektionen rezidivieren wesentlich seltener als HSV 2-Infektionen. Eine vorausgegangene genitale Infektion mit HSV 1 scheint einen gewissen Schutz vor Infektion mit HSV 2 zu bieten bzw. die Symptome zu mildern oder gänzlich zu verhindern (6). Eine vorausgegangene orale HSV 1-Infektion stellt keinen Schutz gegen eine genitale HSV 2-Infektion dar (11). Das klinische Erscheinungsbild des genitalen Herpes entspricht in etwa demjenigen anderer Geschwürbildungen an den Geschlechtsorganen und ist demnach differentialdiagnostisch gegenüber *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum* und *Chlamydia trachomatis* zu unterscheiden (4).

Zur Diagnose einer HSV-Infektion kann die Isolation des Virus, direkte Fluoreszenzantikörper Tests (DFA) und serologische Tests herangezogen werden. Nachteile der ersten beiden Methoden sind jedoch die Länge der Kultivationsdauer, Schwierigkeiten bei der Gewinnung der Proben und deren Transport, sowie die Komplexität des Verfahrens und andere Variablen in Verbindung mit DFA-Tests und Kultivierung (1, 4).

Aufgrund der hohen Kreuzreaktivität zwischen HSV 1 und HSV 2 sind die serologischen Verfahren, die Viruslysate als Antigene benutzen, nicht ausreichend geeignet, HSV 1- von HSV 2-Infektionen zu unterscheiden. Aufgrund der hohen Durchseuchung mit HSV 1 kann der serologische Status für HSV 2 mit solchen Verfahren nur schwer zuverlässig bestimmt werden (11).

Bei der Herpesenzephalitis treten intrathekale IgG-Antikörper erst 8-10 Tage nach den klinischen Symptomen auf, IgM-Antikörper werden nicht regelmäßig und wenn nur kurzzeitig und in geringer Konzentration gebildet, d.h. die Serologie kann hier nachträglich zur Bestätigung der klinischen Diagnose genutzt werden.

### Herpes-simplex Liquordiagnostik

In der Liquordiagnostik hat im Gegensatz zur serologischen HSV-Infektionsdiagnostik der sichere Nachweis einer ZNS-eigenen erregerspezifischen Antikörpersynthese immer Vorrang vor einer eventuellen Differenzierung zwischen den Erregerspezies HSV-1 und HSV-2. Durch die Kombination hochaufgereinigter HSV-1- und HSV-2-Lysatantigene im VT HSV-Screen-Test, steht mit diesem Testsystem ein für die Liquordiagnostik sehr gut geeigneter, weil hochsensitiver Screening-Test auf HSV-Infektionen des ZNS zur Verfügung. Die Verwendung eines breiten Spektrums hochaufgereinigter HSV-Antigene im VT-HSV-Screen bewirkt neben der erwünschten hohen Sensitivität auch eine ebenso wünschenswerte Spezifität bezüglich der Abgrenzung von ZNS-Infektionen durch andere neurotrope Erreger der Herpesvirus-Gruppe.

Wir empfehlen daher, die Antikörper-Index-(AI)-Bestimmung in der Herpes simplex Diagnostik zunächst mit dem HSV Screen-ELISA durchzuführen.

Wird über den erfolgten Nachweis einer HSV-ZNS-Infektion hinaus eine Differenzierung zwischen HSV 1 und HSV 2 angestrebt, kann dies mit Hilfe der beiden speziesspezifischen gG1 und gG2 ELISA -Teste erfolgen.

Grenzen: Die zum Zeitpunkt der Liquorentnahme im ZNS synthetisierte erregerspezifische Antikörpermenge gegen die Epitope der gG1- oder gG2-Antigene kann jedoch (noch oder schon) zu gering sein, um eine AI-Erhöhung zu bewirken. Die alleinige Durchführung des gG1 oder gG2 Testes kann daher zur Folge haben, dass in einigen bzw. bestimmten Fällen ein falsch negatives Ergebnis im Sinne nicht berechenbarer oder normaler Antikörper-Indizes generiert wird.

### 3. Testprinzip

Der im Humanserum gesuchte Antikörper bildet mit dem auf der Mikrotiterplatte fixierten Antigen einen Immunkomplex. Nicht gebundene Immunglobuline werden durch Waschprozesse entfernt. Mit diesem Komplex verbindet sich das Enzym-Konjugat. Nicht gebundene Immunglobuline werden wiederum durch Waschprozesse entfernt. Nach Zugabe der Substratlösung (TMB) entsteht durch Enzymaktivität (Peroxidase) ein blauer Farbstoff, der nach Zugabe der Stopplösung nach Gelb umschlägt.

### 4. Packungsinhalt (IgG und IgM Testkit)

1. **1 Mikrotiterplatte**, bestehend aus 96 mit Antigen beschichteten, abbrechbaren Einzelkavitäten, lyophilisiert
2. **PBS-Verdünnungspuffer (blau, gebrauchsfertig), 2x50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
3. **PBS-Waschlösung (20x konzentriert), 50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
4. **IgG negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
5. **IgG cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
6. **IgG positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
7. **IgM negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
8. **IgM cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
9. **IgM positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
10. **IgG-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
11. **IgM-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit FCS und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
12. **Tetramethylbenzidin-Substratlösung (3,3',5,5'TMB), 11ml**, gebrauchsfertig
13. **Citrat-Stopplösung, 6ml**, enthält ein Säuregemisch

### 5. Lagerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien

Testkit bei 2-8°C aufbewahren. Die Haltbarkeit der einzelnen Komponenten ist auf dem jeweiligen Etikett vermerkt; Kit-Haltbarkeit siehe Qualitätskontrollzertifikat.

1. Nach Entnahme der benötigten Einzelkavitäten die restlichen Einzelkavitäten/Streifen in verschlossenem Beutel mit Trockenmittel bei 2-8°C lagern. Reagenzien sofort nach Gebrauch wieder bei 2-8°C lagern.
2. Das gebrauchsfertige Konjugat und die TMB Substratlösung sind lichtempfindlich und müssen im Dunkeln aufbewahrt werden. Kommt es durch Lichteinfall zu einer Farbentwicklung der Substratlösung, so ist diese zu verwerfen.
3. Nur die für den Testansatz benötigte Menge vom gebrauchsfertigen Konjugat bzw. TMB entnehmen. Zuviel entnommenes Konjugat bzw. TMB darf nicht zurückgeführt werden, sondern ist zu verwerfen.

| Material            | Zustand                       | Lagerung   | Haltbarkeit |
|---------------------|-------------------------------|--|-------------|
| Untersuchungsproben | verdünnt                      | +2 bis +8°C  | max. 6h     |
|                     | unverdünnt                    | +2 bis +8°C  | 1Woche      |
| Kontrollen          | nach Öffnen                   | +2 bis +8°C  | 3Monate     |
| MTP                 | nach Öffnen                   | +2 bis +8° (Lagerung im mitgelieferten Beutel mit Trockenmittelbeutel) | 3Monate     |
| RF Sorbo Tech       | unverdünnt, nach Öffnen       | +2 bis +8°C  | 3Monate     |
|                     | verdünnt                      | +2 bis +8°C  | 1Woche      |
| Konjugat            | nach Öffnen                   | +2 bis +8°C (lichtgeschützt)   | 3Monate     |
| TMB                 | nach Öffnen                   | +2 bis +8°C (lichtgeschützt)   | 3Monate     |
| Stopplösung         | nach Öffnen                   | +2 bis +8°C  | 3Monate     |
| Waschlösung         | nach Öffnen                   | +2 bis +8°C  | 3Monate     |
|                     | endverdünnt (gebrauchsfertig) | +2 bis +25°C   | 4Wochen     |

## 6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

---

1. Als Kontrollseren werden nur Seren verwendet, die getestet und als HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK und Hepatitis-B-surface-Antigen negativ befundet wurden. Trotzdem sollten alle Proben, verdünnte Proben, Kontrollen, Konjugate und die Mikrotiterstreifen als potentiell infektiöses Material betrachtet und entsprechend sorgfältig gehandhabt werden. Es gelten die jeweiligen Richtlinien für Laborarbeiten.
2. Die Komponenten, die Konservierungsmittel enthalten, Citrat-Stopplösung und TMB, wirken reizend auf die Haut, Augen und Schleimhäute. Bei Berührungen die betroffenen Körperstellen sofort unter fließendem Wasser abwaschen und eventuell den Arzt aufsuchen.
3. Die Entsorgung der verwendeten Materialien erfolgt nach länderspezifischen Richtlinien.

## 7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert)

---

1. Aqua dest./demin.
2. Mehrkanalpipette 50µl, 100µl
3. Mikropipetten: 10µl, 100µl, 1000µl
4. Reagenzgläser
5. Zellstofftücher
6. Abdeckung für ELISA-Platten
7. Abfallbehälter für infektiöses Material
8. ELISA Handwascher bzw. automatischer Wascher für Mikrotiterplatten
9. Spektralphotometer für Mikrotiterplatten mit 450/620nm Filter (Referenzwellenlänge 620-690nm)
10. Brutschrank

## 8. Testdurchführung

---

Die exakte Einhaltung der VIROTECH Diagnostics Arbeitsvorschrift ist Voraussetzung für das Erzielen korrekter Ergebnisse.

### 8.1 Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial kann Serum und Plasma (hierbei ist die Art der Antikoagulanzen nicht von Relevanz) eingesetzt werden, auch wenn in dieser Gebrauchsanweisung nur Serum erwähnt ist.

Patienten-Verdünnungen immer frisch ansetzen.

Für eine längere Aufbewahrung müssen die Seren eingefroren werden. Mehrmaliges Auftauen sollte vermieden werden.

1. Nur frische, nicht inaktivierte Seren benutzen.
2. Hyperlipämische, hämolytische, mikrobiell kontaminierte Proben und trübe Seren nicht verwenden (falsch positive/negative Ergebnisse).

### 8.2 Vorbereitung der Reagenzien

Die VIROTECH Diagnostics System Diagnostik bietet ein hohes Maß an Flexibilität durch die Möglichkeit, Verdünnungs- und Waschpuffer, TMB, Citrat-Stopplösung sowie Konjugat parameter- und chargenübergreifend einzusetzen. Die gebrauchsfertigen Kontrollen (positive Kontrolle, cut-off Kontrolle, negative Kontrolle) sind parameterspezifisch und ausschließlich mit der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen Plattencharge zu verwenden.

14. Brutschrank auf 37°C einstellen und sich vor Inkubationsbeginn vom Erreichen der Temperatur überzeugen.
15. Alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen; erst dann die Verpackung mit den Teststreifen öffnen.
16. Alle Flüssigkomponenten vor Gebrauch gut schütteln.
17. Waschlösungs-Konzentrat auf 1Liter mit Aqua dest./demin. auffüllen (bei eventueller Kristallbildung des Konzentrates dieses bitte vor dem Verdünnen auf Raumtemperatur bringen und vor Gebrauch gut schütteln).
18. Hohe IgG-Titer oder Rheumafaktoren können den spezifischen Nachweis von IgM-Antikörpern stören und zu falsch positiven bzw. falsch negativen Ergebnissen führen. **Für eine korrekte IgM-Bestimmung ist es daher erforderlich, die Seren mit RF-SorboTech (VIROTECH-Adsorptionsmittel) vorzubehandeln.** Bei IgM-Kontrollen entfällt die Voradsorption.

### 8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung

1. Pro Testansatz 100µl des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers (Leerwert), der negativen, cut-off und der positiven IgG- und IgM-Kontrolle, sowie der verdünnten Patientenseren pipettieren. Wir empfehlen jeweils einen Doppelansatz (Leerwert, Kontrollen und Patientenseren); bei der cut-off Kontrolle ist ein Doppelansatz zwingend notwendig. Arbeitsverdünnung der Patientenseren: 1+100; z.B. 10µl Serum + 1ml Verdünnungspuffer.
2. Nach Pipettierung erfolgt die Inkubation für 30 Min. bei 37 °C (mit Abdeckung).
3. Beenden der Inkubationsperiode durch 4 maliges Waschen mit je 350-400µl Waschlösung pro Kavität. Waschlösung nicht in den Kavitäten stehen lassen, sondern letzte Flüssigkeitsreste durch Ausklopfen auf einer Zellstoffunterlage entfernen.
4. 100µl des gebrauchsfertigen Konjugats in alle Kavitäten pipettieren.
5. Inkubation der Konjugate: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung).
6. Beenden der Konjugatinkubation durch 4 maliges Waschen (siehe Pkt. 3).
7. 100µl der gebrauchsfertigen TMB-Substratlösung in jede Kavität pipettieren.
8. Inkubation der Substratlösung: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung, dunkel stellen).
9. Abstoppen der Substratreaktion: in alle Kavitäten je 50µl Citrat-Stopplösung pipettieren. Die Platte vorsichtig und sorgfältig schütteln bis sich die Flüssigkeiten vollständig durchmischt haben und eine einheitliche gelbe Farbe sichtbar wird.
10. Extinktionen bei 450/620nm (Referenzwellenlänge 620-690nm) messen. Photometer so einstellen, dass der gemessene Leerwert von allen anderen Extink-tionen abgezogen wird. Die photometrische Messung sollte innerhalb einer Stunde nach Zugabe der Stopplösung durchgeführt werden.

Testablaufschemata siehe letzte Seite

### 8.4 Einsatz von ELISA-Prozessoren

Alle VIROTECH Diagnostics ELISAs können mit Hilfe von ELISA-Prozessoren abgearbeitet werden. Der Anwender ist verpflichtet eine regelmäßige Gerätevalidierung durchzuführen.

VIROTECH Diagnostics empfiehlt die folgende Vorgehensweise:

1. Bei Gerätestellung bzw. größeren Reparaturen Ihres ELISA Prozessors empfiehlt VIROTECH Diagnostics, die Validierung des Gerätes gemäß den Vorgaben des Geräteherstellers vorzunehmen.
2. Es wird empfohlen, anschließend den ELISA Prozessor mit dem Validierungskit (EC250.00) zu überprüfen. Diese regelmäßige Überprüfung mit dem Validierungskit sollte mindestens einmal pro Quartal durchgeführt werden.
3. Bei jedem Testlauf müssen die Freigabekriterien des Qualitätskontrollzertifikates zum Produkt erfüllt werden.

Diese Vorgehensweise gewährleistet die einwandfreie Funktion Ihres ELISA Prozessors und dient darüber hinaus der Qualitätssicherung des Labors.

## 9. Testauswertung

---

Die gebrauchsfertigen Kontrollen dienen einer semiquantitativen Bestimmung spezifischer IgG- und IgM-Antikörper, deren Konzentration in VIROTECH Einheiten (=VE) angegeben wird. Durch die Testdurchführung bedingte Schwankungen werden über die Berechnungsmethode ausgeglichen und es wird damit eine hohe Reproduzierbarkeit erreicht. Für die Berechnung der VE werden die Mittelwerte der OD-Werte eingesetzt.

### 9.1 Testfunktionskontrolle

#### a) OD-Werte

Der OD-Wert des Leerwertes sollte <0,15 sein.

Die OD-Werte der negativen Kontrollen sollten unterhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte, die OD-Werte der positiven Kontrollen sowie der cut-off Kontrollen sollten oberhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte liegen.

#### b) VIROTECH Einheiten (VE)

Die VIROTECH Einheiten (VE) der cut-off Kontrollen sind mit 10 VE definiert. Die berechneten VE der positiven Kontrollen sollten innerhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen Bereiche liegen.

Werden die Anforderungen (OD-Werte, VE) nicht erfüllt, so ist der Test zu wiederholen.

$$VE_{\text{(positive Kontrolle)}} = \frac{OD_{\text{(positive Kontrolle)}}}{OD_{\text{(cut - off Kontrolle)}}} \times 10$$

$$VE_{\text{(Patientenserum)}} = \frac{OD_{\text{(Patientenserum)}}}{OD_{\text{(cut - off Kontrolle)}}} \times 10$$

Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)

Die Extinktion des Leerwertes (450/620nm) muß von allen Extinktionen abgezogen werden.

## 9.2 Auswertungsschema IgG und IgM

| Ergebnis (VE) | Beurteilung |
|---------------|-------------|
| < 9,0         | negativ     |
| 9,0 – 11,0    | grenzwertig |
| > 11,0        | positiv     |

- Liegen die gemessenen VE der Probe oberhalb des grenzwertigen Bereiches, so werden die Proben als positiv betrachtet.
- Befinden sich die gemessenen VE innerhalb des angegebenen grenzwertigen Bereiches, liegt keine signifikant hohe Antikörperkonzentration vor; die Proben werden als grenzwertig betrachtet. Für den sicheren Nachweis einer Infektion ist es erforderlich, den Antikörpergehalt zweier Serumproben zu bestimmen. Eine Serumprobe sollte direkt nach Beginn der Infektion, eine zweite Probe 5-10 Tage später (rekonvaleszentes Serum) getestet werden. Die Antikörperkonzentration beider Proben muß parallel, d.h. in einem Testansatz bestimmt werden. Eine korrekte Diagnose aufgrund der Bewertung einer einzelnen Serumprobe ist nicht möglich.
- Liegen die gemessenen Werte unterhalb des definierten grenzwertigen Bereiches, sind keine messbaren antigenspezifischen Antikörper in der Probe vorhanden. Die Proben werden als negativ betrachtet.
- Bei Vorliegen eines positiven IgM Ergebnisses wird eine Überprüfung des Ergebnisses mit Hilfe eines IgG-Titerverlaufs empfohlen.

## 9.3 Grenzen des Tests

- Die Interpretation serologischer Ergebnisse sollte immer das klinische Bild, epidemiologische Daten und eventuell weitere zur Verfügung stehende Laborbefunde mit einbeziehen.
- Die Therapie mit Acyclovir kann die Antikörperbildung beeinflussen (2).
- Kreuzreaktivitäten mit anderen Vertretern der Herpesgruppe können nicht völlig ausgeschlossen werden.

## 10. Leistungsdaten

### 10.1 Sensitivität und Spezifität

#### IgG

336 Seren wurden im IgG mit dem VIROTECH HSV 1 (gG1) IgG/IgM ELISA und VIROTECH HSV 2 (gG2) IgG/IgM ELISA verglichen.

| Serenkollektiv (n=336) |             | VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA |             |         |
|------------------------|-------------|-----------------------------------|-------------|---------|
|                        |             | negativ                           | grenzwertig | positiv |
|                        | negativ     | 83                                | 4           | 10      |
|                        | grenzwertig | 1                                 | 0           | 4       |

|  |         |   |   |     |
|--|---------|---|---|-----|
| Gesamtbewertung<br>VIROTECH HSV 1 (gG1)<br>und HSV 2 (gG2) ELISA | positiv | 5 | 1 | 228 |
|--|---------|---|---|-----|

10 Seren, die grenzwertig befundet wurden, bleiben unberücksichtigt.

Daraus errechnet sich im IgG eine Sensitivität von 97,9% und eine Spezifität von 89,2%.

Desweiteren wurden 336 Seren im IgG mit dem VIROTECH HSV IgG LINE Immunoblot verglichen.

| Serenkollektiv (n=336)                                 |             | VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA |             |         |
|--|-------------|-----------------------------------|-------------|---------|
|  |             | negativ                           | grenzwertig | positiv |
| Gesamtbewertung<br>VIROTECH HSV IgG LINE<br>Immunoblot | negativ     | 68                                | 2           | 2       |
|  | grenzwertig | 18                                | 3           | 11      |
|  | positiv     | 3                                 | 0           | 229     |

34 Seren, die grenzwertig befundet wurden, bleiben unberücksichtigt.

Daraus errechnet sich im IgG eine Sensitivität von 98,7% und eine Spezifität von 97,1%.

### IgM

344 Seren wurden im IgG mit dem VIROTECH HSV 1 (gG1) IgG/IgM ELISA und VIROTECH HSV 2 (gG2) IgG/IgM ELISA verglichen.

| Serenkollektiv (n=344)   |             | VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA |             |         |
|--|-------------|-----------------------------------|-------------|---------|
|  |             | negativ                           | grenzwertig | positiv |
| Gesamtbewertung<br>VIROTECH HSV 1 (gG1)<br>und HSV 2 (gG2) ELISA | negativ     | 293                               | 10          | 28      |
|  | grenzwertig | 2                                 | 2           | 3       |
|  | positiv     | 0                                 | 0           | 6       |

17 Seren, die grenzwertig befundet wurden, bleiben unberücksichtigt.

Daraus errechnet sich im IgM eine Spezifität von 91,3%.

Eine Angabe zur Sensitivität im IgM ist aufgrund der geringen Anzahl von positiven Seren nicht möglich.

## 10.2 Kreuzreaktivität

### IgG

Es wurden 40 potentiell kreuzreaktive Seren (positiver serologischer Befund für mindestens einen der folgenden Erreger: EBV, CMV, VZV, Parvovirus B19, Masernvirus) auf dem dem VIROTECH HSV 1 (gG1) IgG/IgM ELISA und VIROTECH HSV 2 (gG2) IgG/IgM ELISA und dem VIROTECH HSV IgG LINE Immunoblot getestet.

Alle in beiden Referenzsystemen HSV negativ befundenen Seren wurden auch im VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA negativ gefunden. Daraus ergibt sich eine Spezifität von 100% für oben genanntes Panel.

### IgM

Auch im IgM wurden 40 potentiell kreuzreaktive Seren (positiver serologischer Befund für mindestens einen der folgenden Erreger: EBV, CMV, VZV, Parvovirus B19, Masernvirus) auf dem VIROTECH HSV 1 (gG1) IgG/IgM ELISA und VIROTECH HSV 2 (gG2) IgG/IgM ELISA getestet. 2 von 40 im Referenzsystem HSV negativ befundenen Seren wurden im VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA positiv gefunden. Daraus ergibt sich eine Spezifität von 95% für oben genanntes Panel.

## 10.3 Durchseuchung (erwartete Werte)

### IgG

In der nachfolgenden Tabelle sind die mit dem VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA ermittelten Ergebnisse für die ausgewählten Serenkollektive dargestellt.

Zum Vergleich sind die in der Literatur beschriebenen, epidemiologischen Daten aufgeführt.

| Serenkollektiv<br>(n=256) | Grenzwertige/<br>Positive im | Literatur HSV 1 | Literatur HSV 2 |
|---------------------------|------------------------------|-----------------|-----------------|
|---------------------------|------------------------------|-----------------|-----------------|

|                            | <b>HSV-Screen ELISA</b> |   |  |
|----------------------------|-------------------------|---|--|
| Blutspender (n=80)         | 77,5 %                  | 80% in Deutschland (12)<br>75% in Deutschland (6)<br>80% in der Schweiz (3) | 15% in Deutschland (12)<br>14-18% in Deutschland (6)<br>19% in der Schweiz (3) |
| Kinderseren (n=40)         | 32,5 %                  | 30% : 1-5 Jährige<br>50% : 12-16 Jährige (9)                                | 1-5 Jahre < 2%<br>6-11 Jahre < 3%<br>11-16 Jahre ca. 8% (9)                    |
| Prostituiertenseren (n=40) | 95 %                    | -   | 78% in Deutschland (6)<br>49% in der Schweiz (5)                               |
| HIV-Seren (n=16)           | 100 %                   | 91% in Deutschland (12)   | 60% in Deutschland (6)   |
| Schwangerenseren (n=80)    | 81,3 %                  | 70% in den Niederlanden (10)  | -  |

### IgM

In der nachfolgenden Tabelle sind die mit dem VIROTECH HSV Screen IgG/IgM ELISA ermittelten Ergebnisse für die ausgewählten Serenkollektive dargestellt.

| <b>Serenkollektiv (n=224)</b> | <b>Grenzwertige/Positive im HSV-Screen ELISA</b> | <b>Literatur HSV-1 und -2</b>    |
|-------------------------------|--|----------------------------------|
| Blutspender (n=80)            | 5,1 %  |                                  |
| Kinderseren (n=40)            | 7,5 %  |                                  |
| Prostituiertenseren (n=40)    | 12,5 %   |                                  |
| HIV-Seren (n=24)              | 16,7 %   |                                  |
| Schwangerenseren (n=40)       | 2,5 %  | <b>0,5-2%</b> in Deutschland (8) |

#### 10.4 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)

In einem Assay wurden Streifen verschiedener Platten einer Charge mit einem Serum getestet. Der so ermittelte Variationskoeffizient beträgt < 9%.

#### 10.5 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)

In 10 unabhängigen Testansätzen wurden in verschiedenen Labors von verschiedenen Testpersonen 3 Seren getestet. Die so ermittelten Variationskoeffizienten liegen unter 15%.

### 11. Literatur

1. Anzivino, E, D Fioriti, M Mischitelli, A Bellizzi, V Barucca, F Chiarini, V Pietropaolo. 2009. Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate: status of art of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention. *Virology* 6, 40
2. Bernstein, DI, LR Stanberry, CJ Harrison, JC Kappes, MG Myers. 1986. Antibody response, recurrence patterns and subsequent herpes simplex virus type 2 (HSV-2) re-infection following initial HSV-2 infection of guinea-pigs: effects of acyclovir. *J Gen Virol*. 67, 1601-1612
3. Bünzli, D, Wietlisbach V, Barazzoni F, Sahli R, Meylan PR. 2004. Seroepidemiology of Herpes Simplex virus type 1 and 2 in Western and Southern Switzerland in adults aged 25–74 in 1992–93 : a population-based study. *BMC Infect Dis*. 4. <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/4/10>
4. CDC. 1998. Guidelines for Treatment of Sexually Transmitted Diseases. *MMWR*. 47, 1-118
5. Eing, BR Lippelt L, Lorentzen EU, Hafezi W, Schlumberger W, Steinhagen K, Kühn JE. 2002. Evaluation of confirmatory strategies for detection of type-specific antibodies against herpes simplex virus type 2. *J Clin Microbiol*. 40, 407-413
6. Rabenau HF, Buxbaum S, Preiser W, Weber B, Doerr HW. 2002. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and type 2 in the Frankfurt am Main area, Germany. *Med Microbiol Immunol*. 190, 153-160
7. Roizman, B, DM Knipe. 2001. Herpes Simplex Viruses and Their Replication. . In Fields, B, D Knipe, P Howley, et al. (eds.). *Fields Virology 4<sup>th</sup> Ed.* Lippincott-Raven, Philadelphia

8. Sauerbrei, A, P Wutzler. 2007. Herpes simplex and varicella-zoster virus infections during pregnancy: current concepts of prevention, diagnosis and therapy. Part 1: herpes simplex virus infections. *Med Microbiol Immunol.* 196,89-94
9. Smith J, N Robinson. 2002, Age-specific prevalence of infection with herpes simplex : a global review. *J Inf Dis.* 186, 3-28
10. Tunbäck, P, Bergström T, Claesson BA, Carlsson RM, Löwhagen GB. 2007. Early acquisition of herpes simplex virus type 1 antibodies in children-A longitudinal serological study. *J Clin Vir.* 40, 26-30
11. Whitley, R. 2001. Herpes Simplex Viruses. In Fields, B, D Knipe, P Howley, et al. (eds.). *Fields Virology 4<sup>th</sup> Ed.* Lippincott-Raven, Philadelphia
12. Wutzler, P, Doerr HW, Färber I, Eichhorn U, Helbig B, Sauerbrei A, Brandstädt A, Rabenau HF. 2000. Seroprevalence of herpes simplex virus type 1 and type 2 in selected German populations - relevance for the incidence of genital herpes. *J Med Virol.* 61, 201-207

## Vorbereitung der Patientenproben und Waschlösung

▼ **Waschlösung:** Konzentrat auf 1 Liter mit aqua dest./demin. auffüllen

▼ **IgG-Proben – Verdünnung**  
1:101

z.B.:  
10 µl Serum/Plasma + 1000 µl Verdünnungspuffer  
(Serumverdünnungspuffer ist gebrauchsfertig)

▼ **IgM-Proben - Verdünnung**  
1:101

**Rheumafaktoradsorption mit RF-SorboTech**

z.B.:  
5 µl Serum/Plasma + 450 µl Verdünnungspuffer +  
1 Tropfen RF-SorboTech bei RT 15 min inkubieren

## Testdurchführung

