

VIROTECH VZV IgG/IgM ELISA (VZV IgG/IgM ELISA)

Bestell-Nr.: EC110.00 Farbcodierung: silber/transparent

VZV IgA-Set

Bestell-Nr.: EC110.08

VZV IgG Liquor/CSF Standards

Bestell-Nr.: EC110L60

VZV IgM Liquor/CSF Standards

Bestell-Nr.: EC110L80

VZV IgA Liquor/CSF Standards

Bestell-Nr.: EC110L40

VZV IgG Liquor/CSF AI Ctrl-Set

Bestell-Nr.: EN110L65

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

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

1. Verwendungszweck

Der VIROTECH VZV IgG/IgM ELISA + VZV IgA-Set weist semiquantitativ und qualitativ IgG-, IgM- und IgA-Antikörper gegen VZV im Humanserum nach. Er dient der Differenzierung bzw. Absicherung von Seronegativität, Primärinfektion, abgelaufener Infektion, Reaktivierung und der Ermittlung der Impfnotwendigkeit bzw. der Überwachung des Impferfolges

2. Diagnostische Bedeutung

Die Species Varizella-Zoster-Virus (VZV) – oder auch Human (alpha) Herpesvirus 3 genannt – wird mit einigen ähnlich aufgebauten Herpesviren zum übergeordneten Genus Varicellovirus zusammengefasst (1).

Der Mensch ist das einzige bekannte Reservoir für das VZV. Varizellen sind äußerst kontagiös; nach einer Exposition erkranken über 90 von 100 empfänglichen, d. h. seronegativen Personen (2). Seropositiv sind laut STIKO (ständige Impfkommission, Deutschland) Proben mit >100 IU/l (5). Das Virus kommt endemisch in der Bevölkerung vor und wird vor allem auch im Zuge saisonaler Häufungen – in gemäßigten Breitengraden im Winter und Frühjahr – übertragen. Die Übertragung erfolgt aerogen durch virushaltige Tröpfchen. Ferner ist eine Übertragung durch virushaltigen Bläscheninhalt oder Krusten als Schmierinfektion möglich. Bei Herpes zoster besteht eine geringere Kontagiosität.

Die Inkubationszeit kann 8-28 Tage betragen, sie liegt in der Regel bei 14-16 Tagen. Die Ansteckungsfähigkeit beginnt 1-2 Tage vor Auftreten des Exanthems und endet 7 Tage nach Auftreten der letzten Effloreszenzen.

Das VZV kann zwei verschiedene klinische Krankheitsbilder verursachen: Varizellen (Windpocken) bei exogener Neuinfektion und Herpes zoster (Gürtelrose) bei endogener Reaktivierung.

Varizellen:

Nach uncharakteristischen Prodromi (1-2 Tage vor Krankheitsbeginn) beginnt die Erkrankung mit einem juckenden Exanthem und erhöhten Temperaturen bis Fieber über 39°C für 3-5 Tage. Der Schweregrad der Läsionen kann sehr unterschiedlich sein. Varizellen weisen bei sonst gesunden Personen in der Regel einen gutartigen Verlauf auf und heilen im Normalfall ohne Narben ab. Die Bedeutung der Windpocken ergibt sich vor allem aus den möglichen Komplikationen: Bakterielle Superinfektion der Hautläsionen, Varizellenpneumonie, ZNS-Manifestationen (zur Liquor-Diagnostik empfehlen wir die VIROTECH VZV IgG/IgM/IgA Liquor/CSF Standards), fetales Varzellensyndrom und schwer verlaufende konnatale (neonatale) Windpocken.

Herpes zoster:

Herpes zoster kann sich nur in Individuen mit einer früheren VZV-Infektion oder einer früheren Impfung mit Lebendvakzine ausbilden. Der in Spinal- bzw. Hirnnervenganglien des Organismus persistierende Erreger führt dann bei einer Reaktivierung zu Herpes zoster. Vorwiegend tritt er bei immungeschwächten und älteren Personen auf. Der Herpes zoster ist durch unilaterale, vesikuläre Eruptionen innerhalb eines Dermatoms mit starken Schmerzen gekennzeichnet.

Die direkte Labordiagnostik kann über PCR, Antigennachweis und Virusisolierung geführt werden.

Der indirekte Nachweis spezifischer Antikörper mittels serologischer Verfahren (ELISA, IFT) ist aus Serum oder bei meningitischen Verlaufsformen aus Liquor möglich. Bei Herpes zoster kommt den spezifischen IgA-Antikörpern eine hohe diagnostische Aussagekraft zu. IgM-Antikörper können dagegen fehlen (2).

Obwohl die Windpocken oft typisch verlaufen, so dass sie rein klinisch diagnostiziert werden können, wird in einem Teil der Fälle die virologische Differentialdiagnose zu anderen exanthemischen Erkrankungen notwendig. Verwechslungen mit HSV sind nicht selten (3).

Die Labordiagnostik wird eingesetzt zur Erkennung atypischer und schwerer Verläufe bei Patienten mit Immunsuffizienz, dem Nachweis von ZNS-Infektionen aus Liquor, der Abklärung von Infektionen während der Schwangerschaft sowie des Neugeborenen, der Abgrenzung anderer bläschenbildender Dermatosen (Herpes simplex) sowie der Feststellung der Immunitätslage bei durch VZV-Infektionen gefährdeten Patienten (4).

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

4.1 IgG/IgM Testkit

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

4.2 IgA Set

1. **IgA negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
2. **IgA cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
3. **IgA positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
4. **IgA-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit FCS und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig

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

- 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.
- Die Komponenten, die Konservierungsmittel enthalten, Citrat-Stopp-Lösung 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.
- Die Entsorgung der verwendeten Materialien erfolgt nach länderspezifischen Richtlinien.

7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert)

- Aqua dest./demin.
- Mehrkanalpipette 50µl, 100µl
- Mikropipetten: 10µl, 100µl, 1000µl
- Reagenzgläser
- Zellstofftücher
- Abdeckung für ELISA-Platten
- Abfallbehälter für infektiöses Material
- ELISA Handwascher bzw. automatischer Wascher für Mikrotiterplatten
- Spektralphotometer für Mikrotiterplatten mit 450/620nm Filter (Referenzwellenlänge 620-690nm)
- 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.

- Nur frische, nicht inaktivierte Seren benutzen.
- 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.

- Brutschrank auf 37°C einstellen und sich vor Inkubationsbeginn vom Erreichen der Temperatur überzeugen.
- Alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen; erst dann die Verpackung mit den Teststreifen öffnen.
- Alle Flüssigkomponenten vor Gebrauch gut schütteln.
- 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).

5. 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) im VZV-IgM-Verdünnungspuffer/Dilution buffer ELISA (grün) 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-, IgM-, IgA- 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:
für den IgG/IgA Ansatz: 1+100; z.B. 10µl Serum + 1ml **Verdünnungspuffer (blau)**
für den IgM Ansatz: grünen **Verdünnungspuffer** verwenden und Vorabsorption mit RF SorboTech durchführen.
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 Extinktionen 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-, IgA- 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.

9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)

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

$VE(\text{positive Kontrolle}) = \frac{OD(\text{positive Kontrolle})}{OD(\text{cut - off Kontrolle})} \times 10$
$VE(\text{Patienten serum}) = \frac{OD(\text{Patienten serum})}{OD(\text{cut - off Kontrolle})} \times 10$

9.3 Auswertungsschema IgG, IgM und IgA

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

1. Liegen die gemessenen VE der Probe oberhalb des grenzwertigen Bereiches, so werden die Proben als positiv betrachtet.
2. 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.
3. Liegen die gemessenen Werte unterhalb des definierten grenzwertigen Bereiches, sind keine messbaren antigenspezifischen Antikörper in der Probe vorhanden. Die Proben werden als negativ betrachtet.
4. Es kann nicht zwischen Impfantikörpern und Infektionsantikörpern unterschieden werden. Impfmanagement beachten!
5. **Laut STIKO (ständige Impfkommission, Deutschland) gelten >100 IU/l als seropositiv. Diese STIKO-Angabe ist auf einen internationalen Standard bezogen. Der VIROTECH VZV IgG/IgM ELISA ist im IgG so eingestellt, dass 100 IU/l 9VE entsprechen.**

9.4 Grenzen des Tests

1. Die Interpretation serologischer Ergebnisse sollte immer das klinische Bild, epidemiologische Daten und eventuell weitere zur Verfügung stehende Laborbefunde mit einbeziehen.
2. Es kann zu Kreuzreaktivitäten mit CMV-, EBV- und HSV-positiven Seren kommen.

10. Leistungsdaten

10.1 Sensitivität und Spezifität.

Zur Ermittlung der Sensitivität und Spezifität wurden die Antikörperkonzentrationen der Serenkollektive in einem ELISA eines Mitbewerbers und im VIROTECH VZV IgG/IgM ELISA bestimmt und gegenübergestellt. Die Testung des Serenkollektivs (47 Routineseren, 66 Blutbankseren, 26 Schwangerenser, 23 Kinderseren, 2 WHO Standards mit je 4 Verdünnungen, 36 Ringversuchsseren, 3 sonstige Seren) im VIROTECH VZV IgG/IgM ELISA ergab für IgG in Bezug auf den Vorbefund eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 94%.

Serenkollektiv (n= 209)	VZV IgG
-------------------------	---------

		Negativ	Grenzwertig	Positiv
Befund	Negativ	47	5	3
	Grenzwertig	3	5	2
	Positiv	1	-	143

Die grenzwertigen Ergebnisse wurden bei der Berechnung der Sensitivität und Spezifität nicht berücksichtigt.

Die Testung des Serenkollektivs (60 Routineseren, 63 Blutspenderseren, 20 Schwangerenseren, 14 Kinderseren, 36 Ringversuchsseren, 17 sonstige Seren) VIROTECH VZV IgG/IgM ELISA ergab für IgM in Bezug auf den Vorbefund und den Vergleich zu den Ergebnissen eines ELISA eines Mitbewerbers eine Sensitivität von 95% und eine Spezifität von 98%.

Serenkollektiv (n= 210)		VZV IgM		
		Negativ	Grenzwertig	Positiv
Befund	Negativ	133	2	3
	Grenzwertig	5	2	2
	Positiv	3	4	56

Die grenzwertigen Ergebnisse wurden bei der Berechnung der Sensitivität und Spezifität nicht berücksichtigt.

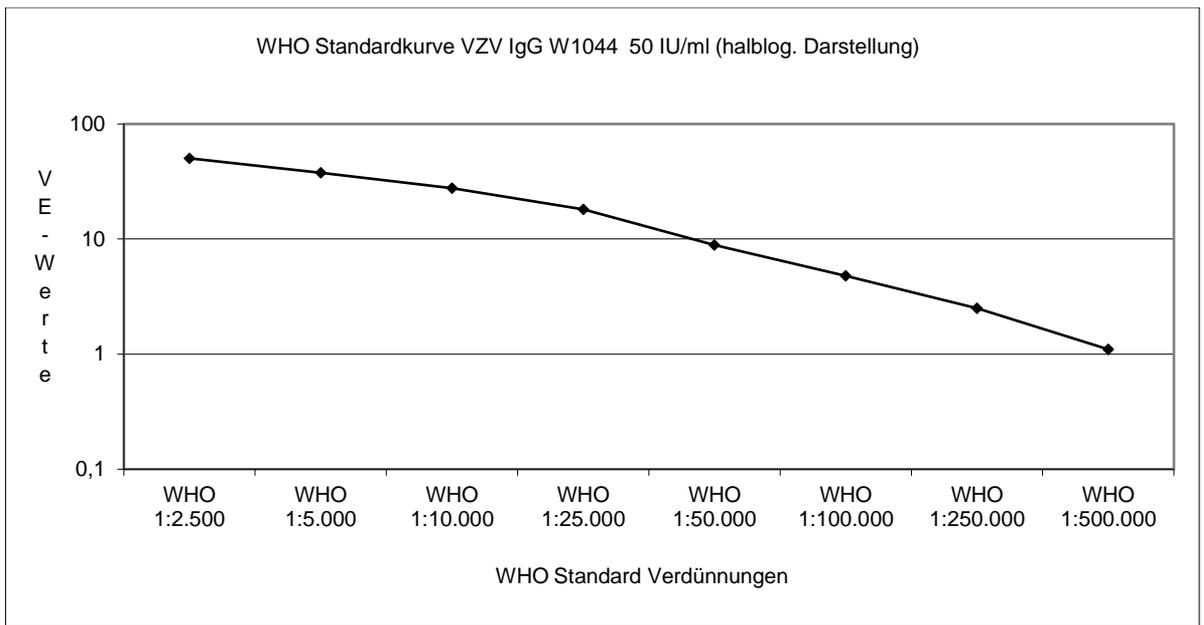
Die Testung des Serenkollektivs (26 Routineseren, 61 Blutspenderseren, 20 Schwangerenseren, 22 Kinderseren, 29 sonstige) im VIROTECH VZV IgG/IgM ELISA + VZV IgA-Set ergab für IgA in Bezug auf den Vorbefund und den Vergleich zu den Ergebnissen eines ELISA eines Mitbewerbers eine Sensitivität von >99,8% und eine Spezifität von >99,8%.

Serenkollektiv (n= 158)		VZV IgA		
		Negativ	Grenzwertig	Positiv
Befund	Negativ	107	1	-
	Grenzwertig	10	2	-
	Positiv	-	13	25

Die grenzwertigen Ergebnisse wurden bei der Berechnung der Sensitivität und Spezifität nicht berücksichtigt.

10.2 Nachweisgrenzen

Zur Bestimmung der Nachweisgrenzen wurde der WHO Standard W1044 (50IU/ml) in 8 Verdünnungen eingesetzt. Die Ergebnisse zeigen eine obere Nachweisgrenze bei 50VE und eine untere Nachweisgrenze bei 1VE. Damit entsprechen 9VE 100 IU/l.



10.3 Durchseuchung (erwartete Werte)

Es wurden Blutbankseren im IgG, IgM und IgA ELISA getestet.

	IgG (n=120)		IgM (n=80)		IgA (n=120)	
	Anz.	%	Anz.	%	Anz.	%
Negativ	4	3	79	98,8	118	98,3
Grenzwertig	1	1	1	1,2	0	0,0
Positiv	115	96	0	0,0	2	1,7

Laut Literatur liegt die Durchseuchung im IgG bereits bei Adoleszenten zwischen 80 und 90% (3). Andere Quellen geben eine Durchseuchungsrate bei Erwachsenen von >90% (6) oder >95% (2) an.

10.4 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)

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

10.5 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)

In 12 unabhängigen Testansätzen wurden in verschiedenen Labors und von verschiedenen Testpersonen 3 Seren getestet. Die so ermittelten Variationskoeffizienten sind < 15%.

11. Literatur

1. Tomas Porstmann (Hrsg.), Virusdiagnostik, Diagn. Bibliothek, Band 1, Blackwell Wissenschaft, 1996, S.291.
2. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte – Varizellen / Herpes zoster. (11.01.2010)
3. Brandis, Köhler, Eggers, Pulverer, Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, 7. Auflage, Fischer 1994, S.777-778.
4. Tomas Porstmann (Hrsg.), Virusdiagnostik, Diagn. Bibliothek, Band 1, Blackwell Wissenschaft, 1996, S.296.
5. RKI, Mitteilung der Ständigen Impfkommision (STIKO) am RKI, Epidemiologisches Bulletin Nr. 8, 23.02.2001, S. 58.
6. Mikrobiologische Diagnostik und Krankenhaushygiene, MVP, 2. Ausgabe, Stand Jan 2003, S 61

Vorbereitung der Patientenproben und Waschlösung

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

▼ **IgG-/IgA-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 (grün) +
1 Tropfen RF-SorboTech bei RT 15 min inkubieren

Testdurchführung

