

**VIROTECH CMV IgG/IgM ELISA  
(CMV IgG/IgM ELISA)**

**Bestell-Nr.: EC113.00**

**Inklusive Leistungsdaten Liquordiagnostik**

**Farbcodierung: gelb/transparent**

**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>**



**0483**

Freigabedatum 21.10.2019 11:54

REV 15 / VIROTECH CMV IgG/IgM ELISA DE

# 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 SERUMDIAGNOSTIK .....</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 SERUMDIAGNOSTIK .....</b>	<b>6</b>
9.1 Testfunktionskontrolle .....	6
9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE) .....	7
9.3 Auswertungsschema IgG und IgM.....	7
9.4 Grenzen des Tests .....	7
<b>10. Leistungsdaten SERUMDIAGNOSTIK .....</b>	<b>7</b>
10.1 Sensitivität und Spezifität .....	7
10.2 Nachweisgrenzen .....	9
10.3 Kreuzreaktivität .....	9
10.4 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit) IgG und IgM .....	10
10.5 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit).....	10
<b>11. Leistungsdaten LIQUORDIAGNOSTIK .....</b>	<b>11</b>
11.1 Sensitivität.....	11
11.2 Spezifität .....	11
11.3 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit) .....	11
11.4 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit).....	12
<b>12. Literatur .....</b>	<b>12</b>
<b>13. Testablaufschemata .....</b>	<b>13</b>

## 1. Verwendungszweck

Der VIROTECH CMV IgG/IgM ELISA dient dem semiquantitativen und qualitativen Nachweis von IgG- und IgM- Antikörpern gegen das Cytomegalovirus (CMV) im Humanserum und im Humanplasma (EDTA, Heparin, CPD, Citrat) und ist gleichzeitig geeignet, durch Paralleluntersuchung von Serum-Liquor-Paaren den semiquantitativen Nachweis von ZNS-eigener IgG-Antikörpersynthese zu erbringen.

## 2. Diagnostische Bedeutung

### Epidemiologie und Inzidenz

CMV ist ein ubiquitär verbreitetes Virus. Die Durchseuchungsrate ist abhängig vom sozioökonomischen Status der untersuchten Patienten. Sie liegt in Industrieländern bei rund 50%, in Entwicklungsländern bei annähernd 100%. Übertragungswege sind Tröpfchen- und Schmierinfektion, Intimverkehr, Transfusionen, Transplantationen und pränatale Infektionen. Eine Infektion mit CMV kann in drei verschiedenen Stadien auftreten: als Primärinfektion, als Latenz oder als Reaktivierung (1, 2, 3).

Wie bei anderen Herpesviren folgt auf die Primärinfektion eine lebenslange Latenz des Virus, in der keine Symptome auftreten. Latenz ist definiert als eine Form der reversiblen, nicht produktiven Infektion des Wirts durch replikationsfähige Viren. Durch eine erneute starke Vermehrung des Virus oder durch eine wiederholte Infektion kann es zu Reaktivierungen kommen. Beim gesunden Menschen verläuft eine Infektion mit CMV meist subklinisch. Die Symptomatik einer CMV Infektion ist die eines viralen Syndroms. Die Symptome sind Fieber, Abgeschlagenheit, Halsschmerzen, heterophile Lymphozytose und Fehlfunktion der Leber. Zusätzlich kann es zu direkten Organschädigungen wie Pneumonie, Retinitis, Colitis/ Ösophagitis, Hepatitis, Mononukleose und Meningoenzephalitis kommen (2, 3, 5).

### Schwangere:

Die schwerwiegendsten Folgen treten für Neugeborene, die *in utero* infiziert wurden, auf. Dies kann vor allem durch eine Primärinfektion der Frau während der Schwangerschaft geschehen. Eine solche kongenitale Infektion kann für das Neugeborene zu erheblichen Auswirkungen, wie schweren geistigen Schädigungen, Taubheit oder Tod, führen.

CMV ist die häufigste Infektion bei Neugeborenen. Die Krankheit selbst tritt bei deutlich weniger als 10% der infizierten Neugeborenen auf. Der Krankheitsausbruch ist bei Fötus oder Neugeborenen von vielen Variablen abhängig, die noch nicht untersucht sind (3, 4, 6).

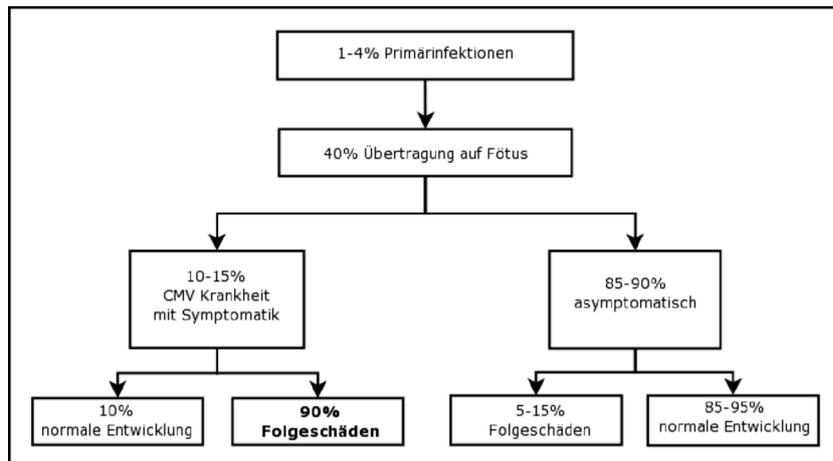


Abbildung 1 Anteil der Primärinfektionen an allen Schwangerschaften und Anteil der Folgeerkrankungen

### Transplantatempfänger und immunsupprimierte Patienten:

Das Immunsystem von Transplantatempfängern wird, um Abstoßungsreaktionen gegen das transplantierte Organ zu vermeiden, supprimiert. Dies ist dann kritisch, wenn der Spender CMV positiv, der Empfänger CMV negativ ist. CMV Infektionen sind Auslöser von Abstoßungsreaktionen bei Organtransplantationen.

Die zweite Gruppe bilden Patienten mit insuffizientem Immunsystem, wie es beispielsweise nach einer Infektion mit HIV auftritt. Das Immunsystem ist auch hier zu schwach, um einen Ausbruch der durch CMV verursachten Krankheit zu verhindern. Bei diesem Kollektiv treten typische Schädigungen wie Retinitis auf.

Bei einer Reaktivierung ist im immunkompetenten Patienten nicht mit einer IgM-Antwort zu rechnen, wohl aber im immunsupprimierten (2, 3).

### 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	1 Woche
Kontrollen	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
MTP	nach Öffnen	+2 bis +8° (Lagerung im mitgelieferten Beutel mit Trockenmittelbeutel)	3 Monate
PBS-Verdünnungspuffer (blau)	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
Konjugat	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3 Monate
TMB	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3 Monate
Stopplösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
Waschlösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
	endverdünnt (gebrauchsfertig)	+2 bis +25°C	4 Wochen

## 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. Alle Proben, verdünnte Proben, Kontrollen, Konjugate und die Mikrotiterstreifen sollten als potentiell infektiöses Material betrachtet und entsprechend sorgfältig gehandhabt werden. Es gelten die jeweiligen Richtlinien für Laborarbeiten.
2. Die Komponenten, die Konservierungsmittel enthalten, sowie 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
11. [VIROTECH RF-SorboTech \(Artikel-Nr.: 161101, 161102 oder B/300.00\)](#)

## 8. Testdurchführung SERUMDIAGNOSTIK

---

Die exakte Einhaltung der VIROTECH Diagnostics Arbeitsvorschrift ist Voraussetzung für die Erzielung korrekter Ergebnisse. Die Testdurchführung für die Paralleluntersuchung von Serum-Liquor-Paaren finden Sie auf der mitgelieferten CD. (Zusätzlich empfehlen wir den Einsatz der CMV IgG Liquor/CSF Standards (Artikel-Nr.: EC113L60)).

### 8.1 Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial kann Serum und Plasma (EDTA, Heparin, CPD, Citrat) eingesetzt werden, auch wenn in dieser Gebrauchsanweisung nur Serum erwähnt ist. Die Vergleichsdaten für Serum und Plasma sind auf Anfrage erhältlich. Verdünnungen der Patientenproben 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.

1. Brutschrank auf 37°C einstellen und sich vor Inkubationsbeginn vom Erreichen der Temperatur überzeugen.
2. Alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen; erst dann die Verpackung mit den Teststreifen öffnen.
3. Alle Flüssigkomponenten vor Gebrauch gut schütteln.
4. 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) **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- 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 Extinktionen abgezogen wird. Die photometrische Messung sollte innerhalb einer Stunde nach Zugabe der Stopplösung durchgeführt werden.

**Testablaufschema 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 SERUMDIAGNOSTIK

---

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.

## 9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)

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

$$\begin{aligned} \text{VE (positive Kontrolle)} &= \frac{\text{OD (positive Kontrolle)}}{\text{OD (cut-off Kontrolle)}} \times 10 \\ \text{VE (Patientenserum)} &= \frac{\text{OD (Patientenserum)}}{\text{OD (cut-off Kontrolle)}} \times 10 \end{aligned}$$

## 9.3 Auswertungsschema IgG und IgM

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.

## 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. Der ELISA ist nicht darauf ausgelegt, eine CMV-Infektion bei akutem Infektionsverdacht gefährdeter Patienten zu diagnostizieren. Bei immunkompromittierten Patienten und Schwangeren mit akutem Infektionsverdacht ist den direkten Nachweisverfahren der Vorrang zu geben. Neugeborene mit kongenitaler CMV-Infektion können serologisch unauffällig sein, so dass im Krankheitsverdacht die Virusisolierung innerhalb der ersten beiden Lebenswochen angestrebt werden muss.
3. Die Kreuzreaktion zwischen CMV und anderen Herpesviren kann ein falsch positives Ergebnis zur Folge haben. Es ist bedingt durch eine polyklonale Stimulation von B- Lymphozyten immer mit Kreuzreaktivität zwischen CMV und anderen Herpesviren wie EBV oder HHV 6 zu rechnen. Außerdem lassen sich Kreuzreaktionen zwischen CMV und Parvovirus nicht ausschließen.
4. Um das Risiko zu verringern werden in Abhängigkeit der klinischen Situationen und der vorliegenden Symptome sehr unterschiedliche Differenzialdiagnosen empfohlen, bei Retinitis von HIV-Infizierten z.B. Toxoplasmose, bei Mononukleose immunkompetenter Patienten z.B. Epstein-Barr Virus.

# 10. Leistungsdaten SERUMDIAGNOSTIK

---

## 10.1 Sensitivität und Spezifität

### Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität wurden im VIROTECH CMV IgG ELISA 569 Seren und im VIROTECH CMV IgM ELISA 672 Seren im Vergleich mit einem Referenz ELISA getestet.

#### **IgG Sensitivität und Spezifität**

Serenkollektiv (n=569)

CMV IgG ELISA	Referenz ELISA		
	negativ	grenzwertig	positiv
negativ	186	0	4
grenzwertig	0	0	6
positiv	1	1	371

Daraus ergibt sich für IgG eine Sensitivität von 98,9% und eine Spezifität von 99,5%.

#### **IgM Sensitivität und Spezifität**

Serenkollektiv (n=672)

CMV IgM ELISA	Referenz ELISA		
	negativ	grenzwertig	positiv
negativ	327	10	11
grenzwertig	4	4	5
positiv	5	5	301

Daraus ergibt sich für IgM eine Sensitivität von 96,5% und eine Spezifität von 98,5%.

Grenzwertige Seren wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt.

#### **Diagnostische Sensitivität**

Zur Bestimmung der diagnostischen Sensitivität wurden im VIROTECH CMV IgG ELISA 81 und im VIROTECH CMV IgM ELISA 83 klinisch charakterisierte Seren getestet.

#### **IgG Diagnostische Sensitivität**

Serenkollektiv (Reaktivierungen, n=81)

CMV IgG ELISA	negativ	grenzwertig	positiv
	2	0	79

Daraus ergibt sich eine Sensitivität von 97,5%

#### **IgM Diagnostische Sensitivität**

Serenkollektiv (Reaktivierungen, n=80 und Primärinfektionen, n=3)

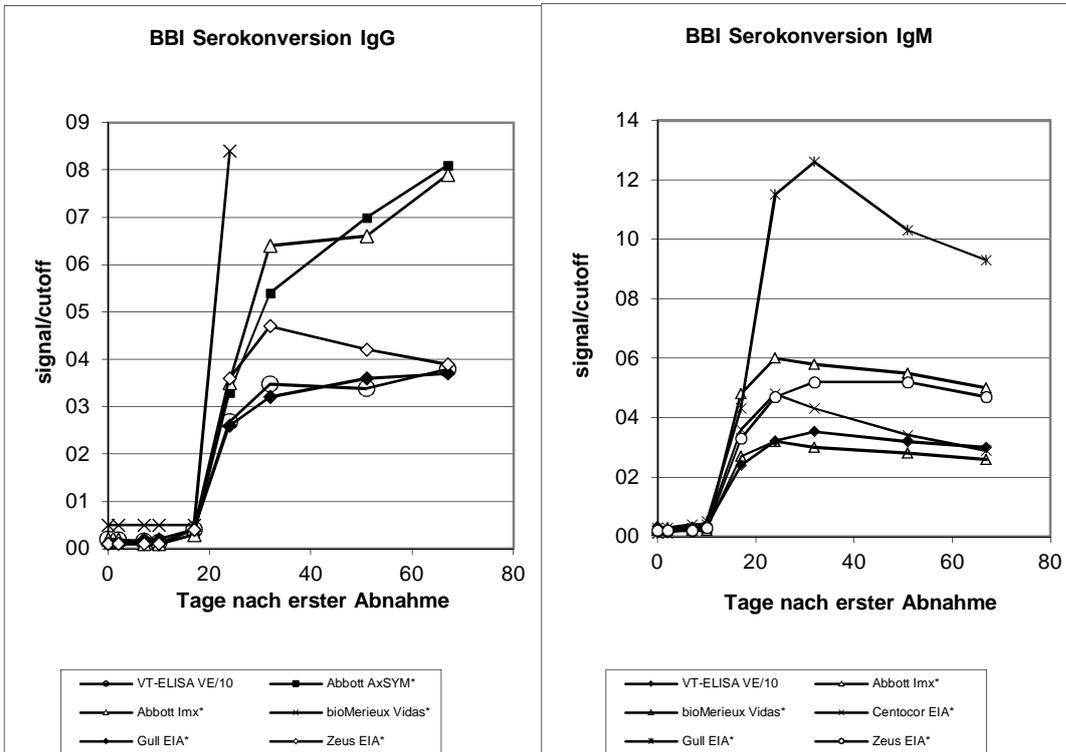
CMV IgM ELISA	negativ	grenzwertig	positiv
	5	1	77

Daraus ergibt sich eine Sensitivität von 93,9%.

Von den 5 negativen Seren wurden im Referenztest ein Serum ebenfalls als negativ und ein Serum als grenzwertig bewertet.

## 10.2 Nachweisgrenzen

Es wurde das Serokonversionspanel (PTC 901) getestet. Der VIROTECH CMV IgG/IgM ELISA zeigt im IgG und im IgM die zu erwartende Sensitivität.



\* Originaldaten von BBI

Der bioMerieux Vidas zeigte im IgG bei den drei letzten Abnahmen Werte >9,0 signal/cut off.

## 10.3 Kreuzreaktivität

Zur Bestimmung der Kreuzreaktivität wurden folgende Seren im IgG getestet.

Erreger	Anzahl getestet	neg	gw	pos
VZV	35	14	2	19
HSV1	12	4	1	7
HSV2	20	4	0	16
Masern	37	15	1	21
EBV	39	16	2	21
Parvovirus	20	11	0	9

Alle positiven Ergebnisse wurden im Referenztest bestätigt. Nur ein Serum zeigte ein falsch positives Ergebnis. Es handelt sich um ein EBV positives Serum.

Zur Bestimmung der Kreuzreaktivität wurden folgende Seren im IgM getestet.

Erreger	Anzahl getestet	neg	gw	pos
EBV	23	17	1	5
VZV	22	21	0	1
Parvovirus	20	17	1	2
Masern	13	12	1	0
HIV	20	14	2	4

Die positiven Ergebnisse wurden in einem Referenztest ebenfalls als positiv erkannt.

#### 10.4 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit) IgG und IgM

Zur Bestimmung des Intra-Assay-Variationskoeffizienten wurden 12 Streifen aus verschiedenen Platten einer Charge in einem Testansatz verwendet. Alle 96 Vertiefungen wurden mit einem Serum getestet.

	IgG VK %	IgM VK %
positiv	8,2	4,2
grenzwertig	9,0	5,7
negativ	10,2	5,6

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

Für IgG wurden in 12 verschiedenen Testansätzen in verschiedenen Labors und von verschiedenen Testpersonen 7 positive Seren, 1 grenzwertiges und ein negativ-grenzwertiges Serum getestet.

##### IgG Inter-Assay-Variationskoeffizient

Serum	Mittelwert VE-Wert	VK%
grenzwertig	10,0	9,4
negativ-grenzwertig	9,0	9,1
positiv	26,8	10,0
positiv	38,4	8,8
positiv	25,0	8,5
positiv	28,0	10,8
positiv	27,4	12,1
positiv	27,3	14,1
positiv	42,9	11,6

Für IgM wurden in 10 verschiedenen Testansätzen in verschiedenen Labors und von verschiedenen Testpersonen 5 positive Seren, 1 grenzwertig-negatives und 3 negative Seren getestet.

## IgM Inter-Assay-Variationskoeffizient

Serum	Mittelwert VE-Wert	VK%
negativ	5,0	3,4
negativ	1,7	10,7
negativ	2,2	13,1
negativ-grenzwertig	8,5	6,9
positiv	12,4	3,5
positiv	14,3	4,1
positiv	44,3	4,2
positiv	31,0	4,3
positiv	19,6	2,8

## 11. Leistungsdaten LIQUORDIAGNOSTIK

---

### 11.1 Sensitivität

Zur Bestimmung der Sensitivität wurden im VIROTECH CMV IgG/IgM ELISA 25 Liquor/Serumpaare im Vergleich mit einem Referenz ELISA getestet.

Liquor-Serenkollektiv (n=25)

CMV IgG ELISA	Referenz Elisa	
	normal	pathologisch
normal	0	0
pathologisch	1	24

Daraus ergibt sich eine Sensitivität von >99,9%.

Im Falle des falsch positiven Ergebnisses handelt es sich um ein pathologisches Serum/Liquorpaar, welches im Referenztest nicht erkannt wurde.

### 11.2 Spezifität

Zur Bestimmung der Spezifität wurden im VIROTECH CMV IgG/IgM ELISA 26 Liquor/Serumpaare im Vergleich mit einem Referenz ELISA getestet.

Liquor-Serenkollektiv (n=26)

CMV IgG ELISA	Referenz Elisa	
	normal	pathologisch
normal	24	1
pathologisch	0	1

Daraus ergibt sich eine Spezifität von >99,9%.

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

Zur Bestimmung des Intra-Assay-Variationskoeffizienten wurden ein Liquor/Serumpaare mit normalem AI-Wert und ein Liquor/Serumpaare mit pathologischem AI in einem Testlauf 10-fach getestet.

	VK%
Normaler AI	12,2
Pathologischer AI	7,5

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

Zur Bestimmung des Inter-Assay-Variationskoeffizienten wurden ein Liquor/Serumpaar mit normalem AI-Wert (10 verschiedene Testansätze) und ein Liquor/Serumpaar mit pathologischem AI (11 verschiedene Testansätze) in verschiedenen Labors von verschiedenen Testpersonen getestet.

	VK%
Normaler AI	16,0
Pathologischer AI	8,5

## 12. Literatur

---

1. Darai, G., M. Handermann, and E. Hinz. 2003. Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen, 2 ed. Springer, Berlin.
2. Gold, E., Nankervis, G. 1989. Cytomegalovirus, p. 169189. In A. Evans (ed.), Viral Infections of Humans, 3 ed. Plenum Medical Book Company, New York, London.
3. Mocarski, E. 1999. Cytomegaloviruses, p. 344357. In A. W. Granoff, R. (ed.), Encyclopedia of Virology, 2 ed, vol. 1. Academic Press, San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokio.
4. Revello, M. G., and G. Gerna. 2002. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. Clin Microbiol Rev 15:680715.
5. Froberg, M. K. 2004. Review: CMV escapes! Ann Clin Lab Sci 34:12330.
6. Lazzarotto, T., L. Gabrielli, M. Lanari, B. Guerra, T. Bellucci, M. Sassi, and M. P. Landini. 2004. Congenital cytomegalovirus infection: recent advances in the diagnosis of maternal infection. Hum Immunol 65:4105.

## Vorbereitung der Patientenproben und Waschlösung

<b>Waschlösung:</b> Konzentrat auf 1 Liter mit aqua dest./demin. auffüllen	
<b>IgG-Proben Æ Verdünnung 1:101</b>	<b>IgM-Proben Æ Verdünnung 1:101</b>
z.B.: 10 µl Serum/Plasma + 1000 µl Verdünnungspuffer (Serumverdünnungspuffer ist gebrauchsfertig)	<b>Rheumafaktoradsorption mit RF-SorboTech</b> z.B.: 5 µl Serum/Plasma + 450 µl Verdünnungspuffer + 1 Tropfen RF-SorboTech bei RT 15 min inkubieren

## Testdurchführung

Probeninkubation	<b>30 Minuten bei 37°C</b>	<b>100 µl Patientenproben</b> Leerwert (Verdünnungspuffer) und Kontrollen
↓		
4 x Waschen		<b>400 µl Waschlösung</b> gut ausklopfen
↓		
Konjugatinkubation	<b>30 Minuten bei 37°C</b>	<b>100 µl Konjugat</b> IgG, IgM, IgA
↓		
4 x Waschen		<b>400 µl Waschlösung</b> gut ausklopfen
↓		
Substratinkubation	<b>30 Minuten bei 37°C</b>	<b>100 µl Substrat</b>
↓		
Abstoppen		<b>50 µl Stopplösung</b> vorsichtig schütteln
↓		
Extinktion messen		<b>Photometer bei 450/620nm</b> (Referenzwellenlänge 620-690nm)