

**VERWENDUNGSZWECK**

Das Varicella-Zoster-Virus (VZV)-IgGZEUS-ELISA-Testsystem ist ein Enzymimmunoassay (ELISA) zum qualitativen Nachweis von IgG-Antikörpern gegen das Varicella-Zoster-Virus (VZV) in Humanserum. Bei anleitungsgemäßer Verwendung des Tests können die Ergebnisse zusammen mit anderen klinischen Daten zur Bestimmung des Immunstatus und/oder Diagnose von VZV-Infektionen herangezogen werden. Dieser Test ist zur *in-vitro*-Diagnostik vorgesehen.

**HINTERGRUND**

Das Varicella-Zoster-Virus (VZV) ist ein verbreitetes Humanpathogen. Der klinische Verlauf einer VZV-Infektion beim Menschen wird in der Regel in zwei Kategorien eingeteilt: Varizellen (Windpocken) und Zoster (Gürtelrose). Der größte Durchbruch in der Erforschung der Natur dieser Organismen wurde ursprünglich von Weller *et al.* erzielt, die eine Methode zur Isolierung und seriellen Vermehrung des Virus<sup>1,2</sup> entwickelten und später Beiträge zur Epidemiologie und Kontrolle leisteten.<sup>3</sup> Es wurde nachgewiesen, dass Virusisolate von Patienten mit Windpocken und Gürtelrose hinsichtlich des zytopathischen Effekts,<sup>1</sup> der Antigenwirkung<sup>2</sup> und Morphologie<sup>4,5</sup> identisch sind. Vor kürzerer Zeit wurde nachgewiesen, dass die DNA-Molekülmasse<sup>6</sup> und Restriktionsendonuklease-Muster<sup>7</sup> dieser Viren identisch sind.

Die klinischen Symptome der primären Varizelleninfektion (Windpocken) umfassen ein Prodromalstadium mit Kopfschmerzen, Müdigkeit und Fieber vor dem Ausbruch des Exanthems oder die charakteristischen Effloreszenzen treten als erstes klinisches Symptom auf. Das Exanthem ist pleomorph und entwickelt sich von Makeln zu Papeln und später zu Bläschen. Das Exanthem tritt normalerweise schubweise über einen Zeitraum von drei bis fünf Tagen auf.

Windpocken sind in den Vereinigten Staaten endemisch und treten normalerweise bei Kindern im Grundschulalter (fünf bis acht Jahre) auf. Erwachsene, Jugendliche und Neugeborene können jedoch ebenfalls infiziert werden. Die Krankheit erscheint in Zyklen von zwei bis fünf Jahren, normalerweise im Winter oder Frühling, und kann epidemische Verbreitung finden. Varizelleninfektionen während der Frühschwangerschaft verursachen nur selten kongenitale Schäden. Varizelleninfektionen, die bei disponierten Schwangeren zur Zeit der Geburt auftreten, können eine lebensbedrohliche Infektion des Neugeborenen verursachen. Infektionen bei Patienten mit bestimmten Krankheiten können ebenfalls einen lebensbedrohlichen Verlauf nehmen.<sup>8-10</sup> Die Verbreitung einer Nosokomialinfektion ist nicht ungewöhnlich.

Zoster (Gürtelrose) tritt hauptsächlich bei Erwachsenen über dem 50. Lebensjahr auf. Im Gegensatz zum epidemisch und jahreszeitlich bedingten Auftreten von Varizellen (Windpocken) zeichnet sich Zoster durch ein randomisiertes Auftretensmuster aus. Zoster wird vermutlich durch die Reaktivierung eines präexistenten Varicella-Virus hervorgerufen, das seit der primären Varizelleninfektion latent persistiert. An Zoster erkrankte Patienten entwickeln makulo-papulöse Effloreszenzen im kutanen Versorgungsgebiet afferenter Nerven. Danach treten einzelne oder Gruppen von Bläschen auf, die in der Regel von teilweise sehr heftigen Schmerzen begleitet sind.<sup>11</sup>

Da epidemiologische Daten belegen, dass die Übertragung des VZV durch Tröpfchen- oder Schmierinfektion und möglicherweise durch Hautschuppen erfolgt, wird angenommen, dass das Virus über die Atemwege in den Körper eintritt.<sup>12</sup> Nach der Dissemination des VZV über das Blut breitet sich das Virus schnell auf die Haut aus und ist im Endothel nachweisbar. Danach befällt es die Zellen der Epidermis und führt zu einer Flüssigkeitsansammlung zwischen der Stachelzellenschicht und der äußeren Epidermis, wodurch Bläschen entstehen.<sup>13</sup> Die Bläschen werden zu einem Herd intensiver immunologischer Aktivität mit anfänglicher Infiltration polymorphkerniger Leukozyten, die bei Zoster die vorherrschenden Entzündungszellen bleiben.<sup>14</sup> Später wandern mononukleäre Zellen in die Bläschen.

**PRINZIP DES TESTS**

Das VZV-IgG-ZEUS-ELISA-Testsystem dient zum Nachweis von Antikörpern der Klasse(n) IgG zum VZV in humanen Sera. Die Probenfelder auf Kunststoffstreifen wurden durch passive Absorption mit VZV-Antigen erstellt. Das Testverfahren umfasst drei Inkubationsschritte:

1. Die (richtig verdünnten) Testsera werden in Antigen-beschichteten Probenfeldern inkubiert. Antigen-spezifische Antikörper in der Probe binden sich an das immobilisierte Antigen. Die Platte wird gewaschen, um ungebundene Antikörper und andere Serumkomponenten zu entfernen.
2. Mit Peroxidase konjugiertes anti-humanes-IgG wird in die Felder gegeben und die Platte wird inkubiert. Das Konjugat reagiert mit dem IgG-Antikörper, der in Schritt 1 in solider Phase immobilisiert wurde. Die Felder werden gewaschen, um nicht reagiertes Konjugat zu entfernen.
3. Die Probenfelder mit dem immobilisierten Peroxidase-Konjugat werden mit Peroxidase-Substratlösung inkubiert. Die Hydrolyse des Substrats durch Peroxidase bewirkt eine Farbänderung. Nach einer bestimmten Zeit wird die Reaktion gestoppt und die Farbintensität der Lösung fotometrisch gemessen. Die Farbintensität der Lösung hängt von der Antikörperkonzentration in der ursprünglichen Testprobe ab.

**KOMPONENTEN DES TESTSYSTEMS**

**Gelieferte Materialien**

Jedes Testsystem enthält die folgenden Komponenten in ausreichenden Mengen, um die auf der Verpackung angegebene Anzahl von Tests durchzuführen. **HINWEIS: Folgende Komponenten enthalten <0,1 % (Gtrmm-Vol.-%) Natriumazid als Konservierungsmittel): Kontrollflüssigkeiten, Kalibrierer und Probenverdünner.**

Komponente	$\Sigma_{96}$	$\Sigma_{480}$	Beschreibung
PLATE	1	5	Platte: Jede Platte ist für 96 Bestimmungen vorgesehen. (12x1x8 Probenfelder); Mikrotiterstreifen, die mit inaktiviertem VZV-Antigen (Stamm Ellen) beschichtet sind. Die Streifen befinden sich in einem Streifenhalter und sind in Umschlägen mit einem Trockenmittel versiegelt und in Plastikbeuteln verpackt.
CONJ	1	5	Konjugat: Konjugiertes (Meerrettich-Peroxidase) anti-humanes IgG (Ziege, $\gamma$ -kettenspezifisch), 15ml-Fläschchen mit weißem Deckel. Gebrauchsfertig.
CONTROL +	1	2	Positiv-Kontrollflüssigkeit (humanes Serum). 0,35 ml-Fläschchen mit rotem Deckel.
CAL	1	4	Kalibrierer (humanes Serum). 0,5 ml-Fläschchen mit rotem Deckel.
CONTROL -	1	2	Negativ-Kontrollflüssigkeit (humanes Serum). 0,35 ml-Fläschchen mit grünem Deckel.
DIL SPE	1	4	SAVe Diluent® (Probenverdünner): 30 ml-Flaschen (grüner Deckel) mit Tween-20, bovinem Serumalbumin und Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung. Gebrauchsfertig. <b>HINWEIS: Das Verdünnungsmittel ändert in Anwesenheit von Serum seine Farbe.</b>
SOLN TMB	1	5	TMB: 15 ml-Flaschen (oranger Deckel) mit 3,3',5,5'- Tetramethylbenzidin. Gebrauchsfertig.
SOLN STOP	1	3	Stopplösung: 15 ml-Flaschen (roter Deckel) mit 1M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0,7M HCl. Gebrauchsfertig.
WASHBUF 10X	1	5	Waschpufferkonzentrat (10X): 1 Teil Konzentrat mit 9 Teilen deionisiertem oder destilliertem Wasser verdünnen. 100 ml-Flaschen (durchsichtiger Deckel) mit einer 10fach-konzentrierten Phosphat-gepufferten Kochsalzlösung und Tween-20 Lösung (blaue Lösung). <b>HINWEIS: Die 1X-Lösung hat einen pH von 7,2 ± 0,2.</b>

## HINWEISE:

1. Die folgenden Komponenten sind nicht Testsystem-Chargennummer-abhängig und können bei jedem ZEUS-ELISA-Test eingesetzt werden: TMB, Stopplösung und Waschpuffer. Der Probenverdünner SAVE Diluent<sup>®</sup> kann bei jedem ZEUS-ELISA-Test in Verbindung mit der Produktnummer 005CC eingesetzt werden.
2. Das Testsystem enthält außerdem Komponentendatenetikett mit chargenspezifischer Information in der Testsystem-Box

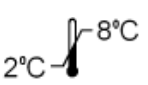
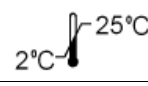
## VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Nur zum Gebrauch in *In-vitro*-Diagnosen.
2. Bei der Handhabung von Laborreagenzien normale Vorsichtsmassnahmen einhalten. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Dämpfe nicht einatmen. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen und nationalen Gesetze befolgen.
3. Die Felder auf der ELISA-Platte enthalten keine lebensfähigen Organismen. Dennoch sollten die Streifen als **potenzielle biologische Gefahrenstoffe** eingestuft und entsprechend behandelt werden.
4. Die Kontrollflüssigkeiten sind **potenzielle biologische Gefahrenstoffe**. Die Quellenmaterialien dieser Produkte wurden mit anerkannten Testmethoden negativ auf HIV-1-Antigen, HBsAg. und auf Antikörper gegen HCV und HIV getestet. Keine Testmethode kann jedoch eine komplette Gewähr dafür liefern, dass keine infektiösen Agenten vorhanden sind, und deshalb sind diese Produkte gemäß Biosicherheitsstufe 2 zu behandeln, wie für alle potenziell infektiösen humanen Serum- oder Blutproben in der aktuellen Ausgabe des Handbuchs „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ der Centers for Disease Control/National Institutes of Health und „Standard for Bloodborne Pathogens“<sup>18</sup> von OSHA empfohlen.
5. Einhalten der angegebenen Inkubationszeit und Temperatur ist entscheidend für akkurate Resultate. **Alle Reagenzien müssen vor dem Test Zimmertemperatur (20–25 °C) annehmen**. Nicht verbrauchte Reagenzien sofort nach Gebrauch wieder auf Kühlschranktemperatur bringen.
6. Falsches Waschen kann falsche positive bzw. negative Resultate erzeugen. Sicherstellen, dass Waschmittelreste auf ein Minimum reduziert werden (z.B. durch Trocknen mit Papier oder Aspiration), bevor Konjugat oder Substrat zugefügt wird. Die Felder zwischen Inkubationen nicht austrocknen lassen.
7. Das Probenverdünnungsmittel, die Kontrollen, und das Kalibrierer enthalten <0,1 % (Gramm-Vol.-%) Natriumazid. Natriumazid bildet Blei- und Kupferazide in Laborabflussrohren, die bei Rohrleitungsschlägen Explosionen verursachen können. Waschbecken nach dem Ausgießen von Natriumazid-haltigen Lösungen gründlich ausspülen, um Explosionen zu verhindern.
8. Die Stopplösung ist bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken GIFTIG und kann Verbrennungen verursachen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort ärztlichen Rat einholen.
9. Die TMB-Lösung ist SCHÄDLICH. Sie ist ein Irritans für Augen, Atmungssystem und Haut.
10. Das Waschpufferkonzentrat ist ein IRRITANS für Augen, Atmungssystem und Haut.
11. Die Unterseite der Platte von Flüssigkeitsrückständen und/oder Fingerabdrücken, die die optische Dichteablesung (OD) stören könnten, sauber wischen.
12. Verdünnung oder Verpanschung der Reagenzien kann falsche Resultate erzeugen.
13. Keine Reagenzien aus anderen Quellen oder von anderen Herstellern verwenden.
14. Die TMB-Lösung sollte bei der Anwendung farblos, sehr hell gelb, sehr hell grün oder sehr hell blau sein. Ein Kontamination der TMB mit Konjugat oder anderen Oxidanzien führt zu einer vorzeitigen Farbänderung der Lösung. Die TMB-Lösung nicht verwenden, wenn sie merklich blau ist.
15. Niemals mit dem Mund pipettieren. Kontakt von Reagenzien und Patientenproben mit der Haut oder Schleimhäuten vermeiden.
16. Mikrobielle Kontamination von Reagenzien vermeiden. Inkorrekte Resultate sind möglich.
17. Querkontamination von Reagenzien und/oder Proben kann fehlerhafte Ergebnisse erzeugen
18. Wiederverwendbare Glasbehälter müssen gewaschen und gründlich von allen Detergenzien frei gespült werden.
19. Spritzen oder Erzeugung von Aerosolen vermeiden.
20. Reagenzien in der Aufbewahrung oder bei der Inkubation keinem starken Licht aussetzen.
21. Die Probenfelderstreifen und den Halter auf Zimmertemperatur kommen lassen, bevor der Schutzumschlag geöffnet wird, um die Felder vor Kondensation zu schützen.
22. Die Waschlösung in einem Entsorgungsbassin sammeln. Die verbrauchte Lösung mit einem Desinfizierer (z. B. 10-prozentiger Haushaltsbleiche - 0,5 % Natriumhypochlorit) behandeln. Reagenzien keinen Bleichdämpfen aussetzen.
23. Vorsicht: Flüssigkeitsabfälle mit saurem pH vor Zufügen in die Bleichlösung neutralisieren.
24. Die ELISA Platte nicht verwenden, wenn der Indikatorstreifen auf dem Trockenmittelbeutel nicht blau, sondern rosa ist.
25. Konjugat nicht mit Behältern oder Instrumenten in Kontakt kommen lassen, die vorher eine Lösung mit Natriumazid als Konservierungsmittel enthalten haben könnten. Rückstände von Natriumazid können die Enzymaktivität des Konjugats unterbinden.
26. Die reaktiven Reagenzien keinen Lösungen mit Bleichmittel oder starken Gerüchen von Lösungen mit Bleichmittel aussetzen. Spuren von Bleichmittel (Natriumhypochlorit) können die biologische Aktivität vieler reaktiver Reagenzien in diesem Testsystem unterbinden.

## BENÖTIGTE ABER NICHT GELIEFERTER MATERIALIEN

1. ELISA-Probenfeldleser mit Lesefähigkeit für eine Wellenlänge von 450 nm. **HINWEIS: Es kann ein Lesegerät für eine (450 nm) oder zwei Wellenlängen (450/620–650 nm) verwendet werden. Zwei Wellenlängen werden bevorzugt, da der zusätzliche Referenzfilter potenzielle Interferenzen aufgrund von anomaler Lichtabsorption verringert.**
2. Pipetten mit Fähigkeit zu präziser Abgabe von 10 bis 200 µl.
3. Multikanal-Pipette mit Fähigkeit zu präziser Abgabe von 50 bis 200 µl.
4. Reagenzreservoirs für Multikanal-Pipetten.
5. Waschflasche oder Probenfeld-Waschsystem.
6. Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
7. Messzylinder, 1 Liter.
8. Serologische Pipetten.
9. Einweg-Pipettenspitzen.
10. Papierhandtücher.
11. Labor-Stoppuhr zur Überwachung der Inkubationsschritte.
12. Entsorgungsbassin und Desinfizierer. 10 % Haushaltsbleichmittel, 0,5% Natriumhypochlorit.)

## AUFBEWAHRUNG

	Beschichtete Probenfeldstreifen: Übrige Streifen sofort wieder mit Trockenmittel versiegeln und zur korrekten Aufbewahrung zurückbringen. Nach Öffnen des Umschlags sind die Streifen bis 60 Tage stabil, wenn der Indikatorstreifen auf dem Trockenmittelbeutel blau bleibt.
	Konjugat – NICHT EINFRIEREN. Ungeöffnetes Testsystem, Kalibrierer, Positiv-Kontrollflüssigkeit und Negativ-Kontrollflüssigkeit, TMB, Probenverdünner
	Stopplösung: 2 - 25°C Waschpuffer (1X) : 20 - 25°C bis zu 7 Tage, 30 Tage zwischen 2 - 8°C. Waschpuffer (10X) : 2 - 25°C

## PROBENAHEME

1. Es wird von ZEUS Scientific empfohlen, dass die Probenahme durch den Benutzer in Übereinstimmung mit dem aktuellen NCCLS-Dokument M29: Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease erfolgt.
2. Keine Testmethode kann eine komplette Gewähr dafür liefern, dass humane Blutproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate als potenziell infektiös behandelt werden.
3. Für diesen Test nur frisch entnommene und richtig gekühlte Sera verwenden, die mit zugelassenen aseptischen Venenpunkturnverfahren gewonnen wurden.<sup>15, 16</sup> Nicht verwenden, wenn Antikoagulanzen oder Konservierungsmittel zugefügt sind. Hämolytierte, lipemische oder bakteriell kontaminierte Sera vermeiden.
4. Proben nicht länger als 8 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahren. Erfolgt der Test nicht innerhalb von 8 Stunden, können Sera zwischen 2 °C und 8°C bis zu 48 Stunden aufbewahrt werden. Wird eine noch längere Testverzögerung vorausgesehen, Testsera bei -20 °C oder darunter aufbewahren. Nicht mehrmals einfrieren/auftauen, weil dies zu einem Verlust der Antikörperaktivität und damit fehlerhaften Resultaten führen könnte. Es ist die Verantwortung der einzelnen Labors, alle verfügbare Literatur und/oder eigenen Studien zu Bestimmung der Stabilitätskriterien für das eigene Labor zu verwenden (19).

## ASSAY-VERFAHREN

1. Die verschiedenen Komponenten aus der Aufbewahrung holen und auf Zimmertemperatur (20–25 °C) erwärmen lassen.
2. Die benötigte Anzahl Probenfelder feststellen. Sechs Kontrollflüssigkeit/Kalibrierer-Festlegungen pro Test (eine Leerwertprobe, eine Negativ-Kontrollflüssigkeit, drei Kalibrierer und eine Positiv-Kontrollflüssigkeit) einplanen. Bei jedem Test eine Leerwertprobe testen. Software- und Leseranforderungen für die korrekte Kontrollflüssigkeit/Kalibrierer-Konfiguration prüfen. Nicht verwendete Streifen in den wiederverschließbaren Beutel mit Trockenmittel legen, versiegeln und zur Aufbewahrung zwischen 2 °C und 8 °C zurückbringen.

BEISPIEL PLATTENEINSTELLUNG		
	1	2
A	Leerwertprobe	Patient 3
B	Negativ-Kontrollflüssigkeit	Patient 4
C	Kalibrierer	Usw.
D	Kalibrierer	
E	Kalibrierer	
F	Positiv-Kontrollflüssigkeit	
G	Patient 1	
H	Patient 2	

3. Eine 1:21 Verdünnung (z.B. 10 µl Serum + 200 µl Probenverdünner) von Negativ-Kontrollflüssigkeit, Kalibrierer, Positiv-Kontrollflüssigkeit und jedem Patientenserum herstellen. **HINWEIS: Zur Bestätigung der Mischung der Probe mit dem Verdünnungsmittel ändert das Probenverdünnungsmittel seine Farbe.**
4. Je 100 µL der verdünnten Kontrollflüssigkeiten, Kalibrierer und Patientenproben in Felder geben. Proben gut durchmischen. Für jede Probe einen neue Pipettenspitze verwenden.
5. 100 µl Probenverdünner als Leerwertprobe in Feld A1 geben. Software- und Leseranforderungen für die korrekte Felderkonfiguration für die Leerwertprobe prüfen.
6. Platte bei Zimmertemperatur (20-25°C) 25 ± 5 Minuten lang inkubieren.
7. Die Probenfelderstreifen 5 Mal waschen.
  - a. **Waschen von Hand:**
    1. Die Flüssigkeit kräftig aus den Feldern herausschütteln.
    2. Jedes Probenfeld mit Waschpuffer füllen. Sicherstellen, dass die Felder keine Luftbläschen enthalten.
    3. Schritte 1. und 2. für insgesamt 5 Wäschen wiederholen.
    4. Die Waschlösung aus den Feldern herausschütteln. Die Platte auf ein Papierhandtuch legen und kräftig klopfen, um alle Waschlösungsreste aus den Feldern zu entfernen. Die Platte visuell auf evtl. verbleibende Waschlösung inspizieren. Waschlösung in einem Einweg-Bassin sammeln und am Ende der täglichen Tests mit Desinfizierer behandeln.
  - b. **Automatisches Waschen:**

Bei Verwendung einer automatischen Probenfeld-Waschvorrichtung das Abgabevolumen auf 300–350 µl/Feld einstellen. Den Waschzyklus auf 5 Wäschen ohne Pause zwischen den Wäschen stellen. Falls nötig, die Probenfelderplatte aus dem Wäscher entnehmen, auf ein Papierhandtuch legen und kräftig klopfen, um alle Waschlösungsreste aus den Feldern zu entfernen.
8. 100 µl Konjugat mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei den Proben in jedes Feld geben, einschließlich in das Feld mit Leerwertprobe.
9. Platte bei Zimmertemperatur (20-25°C) 25 ± 5 Minuten lang inkubieren.
10. Probenfelder wie in Schritt 7 beschrieben waschen.
11. 100 µl TM-Lösung mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei den Proben in jedes Feld geben, einschließlich in das Feld mit Leerwertprobe.
12. Platte bei Zimmertemperatur (20-25°C) 10 ± 15 Minuten lang inkubieren.
13. Reaktion durch Zufügen von 50 µl Stopplösung mit derselben Rate und Reihenfolge wie bei TMB in jedes Feld stoppen, einschließlich in dem Feld mit Leerwertprobe. Positive Proben ändern ihre Farbe von blau zu gelb. Nach Zufügen der Stopplösung mehrmals an die Platte klopfen, um sicherzustellen, dass sich die Proben gut durchmischen.
14. Den Probenfeldleser auf eine Wellenlänge von 450 nm stellen und die optische Dichte (OD) jedes Feldes gegen die Leerwertprobe messen. Die Platte innerhalb von 30 Minuten nach Zufügen der Stopplösung lesen.

### TESTVERFAHREN IN KURZFORM

1. Serum 1:21 verdünnen.
2. Verdünntes Serum in Probenfelder geben - 100µL/Feld
3. —————> 25 bis 5 Minuten inkubieren.
4. Waschen.
5. Konjugat zufügen - 100µL/Feld.
6. —————> 25 bis 5 Minuten inkubieren.
7. Waschen.
8. TMB zufügen - 100µL/Feld.
9. —————> 10 bis 15 Minuten inkubieren.
10. Stopplösung zufügen - 50µL/Feld
11. Innerhalb von 30 Minuten ABLESEN.

## QUALITÄTSSICHERUNG

1. Bei jeder Prozedur muss der Kalibrierer dreifach angewendet werden. Eine Leerwertprobe, eine Negativ-Kontrollflüssigkeit und eine Positiv-Kontrollflüssigkeit sind ebenfalls einzubeziehen.

- Den Mittelwert der drei Kalibrierfelder berechnen. Weicht einer dieser drei Werte um mehr als 15 % vom Mittelwert ab, diesen Wert verwerfen und den Mittelwert der anderen beiden Felder berechnen.
- Der OD-Mittelwert für den Kalibrierer, für die Positiv- und Negativ-Kontrollflüssigkeiten sollten in die folgenden Bereiche fallen:

	<u>OD-Bereiche</u>
Negativ-Kontrollflüssigkeit	≤0,250
Kalibrierer	≥0,300
Positiv-Kontrollflüssigkeit	≥0,500

- Die OD der Negativ-Kontrollflüssigkeit dividiert durch die mittlere OD des Kalibrierers sollte  $\leq 0,9$  ergeben.
  - Die OD der Positiv-Kontrollflüssigkeit dividiert durch die mittlere OD des Kalibrierers sollte  $\geq 1,25$  ergeben.
  - Werden diese Bedingungen nicht eingehalten, muss der Test als ungültig gelten und wiederholt werden.
- Die Positiv-Kontrollflüssigkeit und Negativ-Kontrollflüssigkeit dienen nur zur Überwachung eines erheblichen Reagenzversagens und garantieren keine Präzision am Test-Grenzwert.
  - Zusätzliche Kontrollflüssigkeiten können in Übereinstimmung mit Richtlinien oder Vorschriften von örtlichen oder staatlichen Stellen oder anerkannten Organisationen verwendet werden.
  - Siehe NCCLS Dokument C24: Statistical Quality Control for Quantitative Measurements Procedures für Hinweise zu sachgemäßen Maßnahmen zur Qualitätssicherung.

## INTERPRETATION DER RESULTATE

### 1. Berechnungen:

- Korrekturfaktor:** Ein Grenzwert für den OD-Wert von positiven Proben wurde vom Hersteller festgelegt und mit dem Kalibrierer korreliert. Der Korrekturfaktor (CF) ermöglicht die Festlegung des Grenzwerts für positive Proben unter Berücksichtigung von leichten Abweichungen der Testresultate von Tag zu Tag. Der Korrekturfaktor wird für jede Charge von Komponenten festgelegt und ist auf das Datenetikett in der Testsystem-Box aufgedruckt.
- OD-Grenzwert:** Um den OD-Grenzwert zu erhalten, den CF mit dem oben berechneten mittleren OD-Wert des Kalibrierers multiplizieren.  
( $CF \times OD\text{-Mittel Kalibrierer} = OD\text{-Grenzwert}$ )
- Indexwerte oder OD-Raten:** Den Indexwert bzw. die OD-Rate für jede Probe durch Teilung ihres OD-Werts durch den OD-Grenzwert aus Schritt b berechnen.

Beispiel	OD-Mittel Kalibrierer	=	0,793
	Korrekturfaktor (CF)	=	0,25
	OD-Grenzwert	=	$0,793 \times 0,25 = 0,198$
	Unbekannte Proben-OD	=	0,432
	Indexwert oder OD-Rate	=	$0,432/0,198 = 2,18$

### 2. Auswertung: Indexwerte bzw. OD-Raten werden wie folgt interpretiert

	<u>Indexwerte oder OD-Raten</u>
Negative Proben	≤0,90
Unbestimmte Proben	0,91 bis 1,09
Positive Proben	≥1,10

- Eine OD-Ratio von  $\leq 0,90$  bedeutet, dass keine nachweisbaren Antikörper gegen VZV vorliegen. Ein negatives Ergebnis weist auf das Fehlen einer frischen oder zurückliegenden VZV-Infektion hin. Personen mit diesem Testergebnis sind vermutlich nicht immun und daher für eine Primärinfektion empfänglich.
- Eine OD-Ratio von  $\geq 1,10$  bedeutet, dass IgM-Antikörper gegen VZV nachgewiesen wurden. Ein positives Testergebnis deutet auf eine frische oder zurückliegende Infektion mit VZV hin. Bei einem positiven Ergebnis sollte der betreffende Patient als immun gegen eine VZV-Primärinfektion betrachtet werden. Die Ergebnisse dieses Testsystems sind qualitativ. Die Größenordnung der Ratio bei positiven Proben korreliert nicht unbedingt mit dem Antikörpertiter. Wenn eine Probe frühzeitig im Verlauf der Primärinfektion getestet wird, sind u.U. keine IgG-Antikörper nachweisbar. Bei Verdacht auf eine VZV-Infektion sollte eine zweite Probe mindestens vierzehn Tage später entnommen werden.
- Proben mit Ratio-Werten im fragwürdigen Bereich (0,91–1,09) sollten erneut in doppelter Ausführung getestet werden. Das am häufigsten auftretende Ergebnis (zwei von drei) sollte ausgegeben werden. Proben, die wiederholt grenzwertig sind, sollten anhand einer alternativen Methode wie einem IFA getestet werden oder anhand einer weiteren Probenahme 2-3 Wochen später erneut evaluiert werden.

## GRENZEN DES VERFAHRENS

- Eine Diagnose sollte nicht alleine auf der Basis der Ergebnisse des VZV-IgG-ZEUS-ELISA-Testsystems gestellt werden. Die Anti-VZV-Testergebnisse müssen im Zusammenhang mit der klinischen Beurteilung und den Ergebnissen von anderen diagnostischen Verfahren interpretiert werden.
- Positive Testergebnisse bei Verwendung von Nabelschnurblut oder bei Neugeborenen sind mit Vorsicht zu interpretieren.
- Ein positives Testergebnis bei immungeschwächten Patienten deutet nicht unbedingt auf eine zurückliegende Infektion mit dem Varicella-Virus hin. Mit frischen Blutprodukten erzielte Ergebnisse sind mit Vorsicht zu interpretieren.
- Die Leistungsmerkmale des Tests bei Personen, die mit VZV (OKA-Stamm) geimpft worden sind, wurden noch nicht von Zeus Scientific ermittelt.

## REFERENZWERTE

- Kollektivstudien mit diagnostischen Tests zur Antikörperanalyse deuten darauf hin, dass die meisten Menschen im Alter von 20 Jahren bereits eine VZV-Infektion durchgemacht haben.<sup>17</sup>
- Die klinische Studie für dieses Produkt wurde mit 200 randomisierten Routineproben durchgeführt, die zur VZV-Serologie an ein Referenzlabor gesendet wurden. In diesem Kollektiv waren 35 der 200 Proben (17,5 %) negativ, 161 der 200 Proben (80,5 %) waren positiv und vier der 200 Proben (2 %) waren fragwürdig. Im Folgenden wird eine Häufigkeitsverteilung der oben beschriebenen Studie dargestellt.

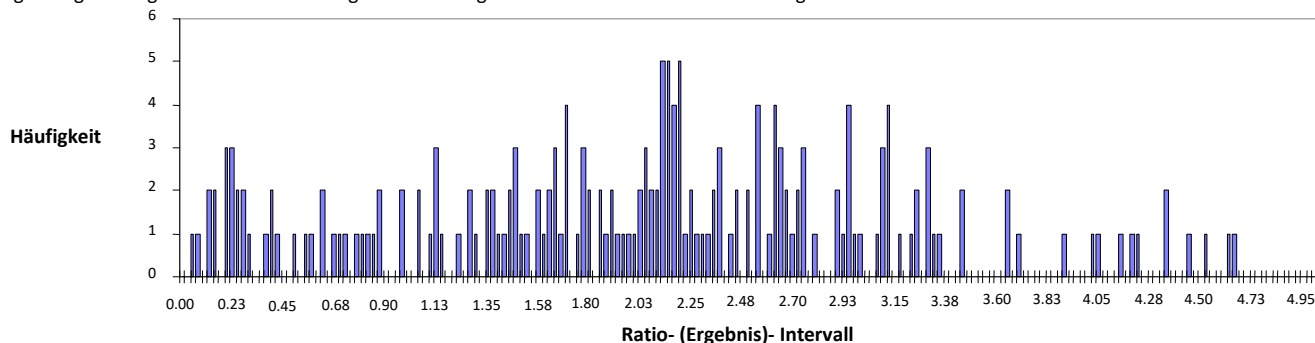


Abbildung 1: Häufigkeitsverteilung von 200 Routineproben zur VZV-Serologie

## LEISTUNGSSCHARAKTERISTIKA

### 1. Vergleichsstudie:

Das ZEUS-ELISA-VZV-IgG-Testsystem wurde an zwei klinischen Prüfzentren mit einem anderen kommerziellen ELISA zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen das Varicella-Zoster-Virus verglichen. Insgesamt wurden 241 Proben getestet; 121 Proben am ersten und 120 Proben am zweiten Prüfzentrum. Die am ersten Prüfzentrum getesteten Proben bestanden aus 100 Proben, die zur routinemäßigen VZV-Serologie an ein Referenzlabor gesendet wurden und 21 Proben, die bereits als VZV IgG-negativ beurteilt worden waren. Die am ersten Prüfzentrum getesteten Proben bestanden aus 100 Proben, die zur routinemäßigen VZV-Serologie an ein Referenzlabor gesendet wurden und 20 Proben, die bereits als VZV IgG-negativ beurteilt worden waren. Die Ergebnisse dieser Vergleichsstudie sind in den nachstehenden Tabellen 1 und 2 zusammengefasst.

**Tabelle 1: Berechnungen der relativen Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung; Prüfzentrum 1**

		Ergebnisse VZV-IgG-ZEUS-ELISA-Testsystem*			
		Positiv	Negativ	Fragwürdig	Gesamt
Ergebnisse des kommerziellen ELISA	Positiv	78	3	3*	84
	Negativ	2	34	0	36
	Fragwürdig	1*	0	0	1
	Gesamt	81	37	3	121

**Relative Sensitivität = 78/81 = 96,3%**

95%iges Vertrauensintervall\*\* = 92,2 bis 100 %

**Relative Agreement = 112/117 = 95,7%**

95%iges Vertrauensintervall\*\* = 92,1 bis 99,4 %

**Relative Spezifität = 34/36 = 94,4%**

95%iges Vertrauensintervall\*\* = 90,0 bis 100 %

\*Proben waren mit dem ZEUS-VZV-IgG-Testsystem fragwürdig. Proben waren nach wiederholten Test wiederholt fragwürdig. Eine der Proben war wiederholt fragwürdig im kommerziellen ELISA. Diese vier Proben wurden von allen Berechnungen ausgeschlossen. \*\*Die 95%igen Vertrauensintervalle wurden anhand der exakten Methode berechnet.

**Tabelle 2: Berechnungen der relativen Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung; Prüfzentrum 2**

		Ergebnisse VZV-IgG-ZEUS-ELISA-Testsystem*			
		Positiv	Negativ	Fragwürdig	Gesamt
Ergebnisse des kommerziellen ELISA	Positiv	77	3	2	82
	Negativ	3	34	0	37
	Fragwürdig	0	1***	0	1
	Gesamt	80	38	2	120

**Relative Sensitivität = 77/80 = 96,3%**

95%iges Vertrauensintervall\*\* = 92,1 bis 100 %

**Relative Übereinstimmung = 111/117 = 94,9%**

95%iges Vertrauensintervall\*\* = 90,9 bis 98,9 %

**Relative Spezifität = 34/37 = 91,9%**

95%iges Vertrauensintervall\*\* = 83,1 bis 100 %

\*\*Die 95%igen Vertrauensintervalle wurden anhand der exakten Methode berechnet.

\*\*\*Zwei Proben waren im ZEUS-ELISA-VZV-IgG-Test und eine Probe war im kommerziellen Test fragwürdig. Die Proben konnten mangels Volumens nicht wiederholt getestet werden. Diese drei Proben wurden von allen Berechnungen ausgeschlossen.

### 2. Reproduzierbarkeit

Die Beurteilung der Reproduzierbarkeit erfolgte gemäß Dokument EP5: *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices - Second Edition*, herausgegeben vom *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)*, Villanova, PA, USA. Reproduzierbarkeitsstudien wurden an beiden klinischen Prüfzentren mit den gleichen Proben durchgeführt. Insgesamt wurden sechs Proben getestet. Davon waren zwei relativ stark positiv, zwei lagen näher am OD-Grenzwert (eine schwach positive und eine stark negative Probe) und zwei waren negativ. Zusätzlich wurden die stark positive Kontrolle und die negative Kontrolle des Testsystems getestet. An jedem Testtag wurde jede der acht Proben zweifach getestet. Der Test wurde an jedem Testtag einmal morgens und einmal nachmittags durchgeführt, so dass jede Probe täglich in vierfacher Ausführung getestet wurde. Prüfzentrum 1 führte diese Reproduzierbarkeitsstudie 20 Tage lang durch und erzielte insgesamt 80 Testergebnisse für jede der acht Proben. Prüfzentrum 2 führte die Studie 10 Tage lang durch und erzielte 40 Ergebnisse für jede Probe. Tabelle 3 enthält eine Zusammenfassung dieser Studie.

**Zusammenfassung der Präzisionstests an Prüfzentren 1 und 2**

Test	Prüfz.	Mittlere Ratio	Ergebnis	SWR*	ST**	Tage	Gesamtzahl der Tests	Gesamt % VK
VG-1	1	3,124	Positiv	0,132	0,167	20	80	5,35
	2	4,537		0,242	0,518	10	40	11,43
VG-5	1	3,144	Positiv	0,059	0,141	20	80	4,47
	2	4,370		0,176	0,457	10	40	10,46
VG-3	1	1,531	Mäßig positiv	0,057	0,087	20	80	5,69
	2	2,148		0,164	0,324	10	40	15,06
VG-4	1	0,731	Stark negativ	0,023	0,040	20	80	5,48
	2	0,606		0,057	0,085	10	40	14,09
VG-9	1	0,152	Negativ	0,012	0,022	20	80	--
	2	0,010		0,022	0,026	10	40	--
VG-10	1	0,198	Negativ	0,014	0,022	20	80	--
	2	0,067		0,030	0,061	10	40	--
Positiv-Kontrolle	1	3,851	Positiv	0,188	0,218	20	80	5,65
	2	2,114		0,226	0,312	10	20	14,77
Negativ-Kontrolle	1	0,197	Negativ	0,009	0,025	20	80	--
	2	0,022		0,025	0,024	10	40	--

\*Punktschätzung der Standardabweichung bei der Genauigkeit innerhalb des Testlaufs

\*\*Punktschätzung der Standardabweichung bei der Gesamtgenauigkeit

### 3. Kreuzreaktivität

Die Beurteilung der Interferenz im Testsystem erfolgte anhand von Kreuzreaktivitätsstudien mit Seren, die im ZEUS-ELISA-VZV-IgG-Test negativ für Antikörper gegen VZV und positiv für Antikörper gegen Rubella, CMV, HSV-1, HSV-2, EBV-VCA, EBNA-1, Masernvirus und Mumpsvirus waren. Die Ergebnisse dieser Studie sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Alle verwendeten Testsysteme wurden von ZEUS Scientific, Inc. für den kommerziellen Vertrieb hergestellt. Diese Studie ergab keine nachweisbare Kreuzreaktivität zwischen den verschiedenen IgG-Antikörpern und dem ZEUS-ELISA-VZV-IgG-Testsystem.

**Tabelle 4: Analyse der Kreuzreaktivität**

Test	B12	C10	E9	E8	D5	E4	F3	F2
VZV-IgG-Ergebnisse	0,14 (-)	0,16 (-)	0,58 (-)	0,74 (-)	0,71 (-)	0,52 (-)	0,63 (-)	0,45 (-)
Rubella-Ergebnisse	0,81 (-)	0,89 (-)	1,98 (+)	1,30 (+)	3,80 (+)	3,25 (+)	2,21 (+)	1,31 (+)
CMV-Ergebnisse	2,40 (+)	3,55 (+)	0,22 (-)	0,24 (-)	0,61 (-)	1,98 (+)	2,73 (+)	0,15 (-)
HSV-1-Ergebnisse	1,42 (+)	1,67 (+)	2,07 (+)	1,02 (±)	0,84 (-)	1,77 (+)	1,32 (+)	2,32 (+)
HSV-2-Ergebnisse	1,45 (+)	0,63 (-)	1,02 (±)	3,10 (+)	0,71 (-)	1,04 (+)	0,50 (-)	1,07 (±)
VCA-Ergebnisse	2,49 (+)	3,84 (+)	2,80 (+)	4,00 (+)	4,27 (+)	3,15 (+)	1,69 (+)	1,22 (+)
EBNA-Ergebnisse	4,51 (+)	5,66 (+)	2,46 (+)	6,52 (+)	1,94 (+)	3,28 (+)	5,29 (+)	4,43 (+)
Masern-Ergebnisse	1,55 (+)	1,46 (+)	0,94 (±)	0,88 (-)	1,64 (+)	1,26 (+)	1,42 (+)	1,94 (+)
Mumps-Ergebnisse	2,65 (+)	3,65 (+)	2,78 (+)	0,90 (-)	2,34 (+)	5,02 (+)	2,77 (+)	4,12 (+)
Hinweis: Für alle o.g. Testsysteme gilt:								
>1,10 ist positiv (+)			≤0,90 ist negativ (-)			0,91-1,09 ist fragwürdig (±)		

**LITERATUR**

1. Weller TH, Witton HM, Bell EJ. Exp. Med. 108:843, 1958
2. Weller TH, Coons AH: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86:789, 1954
3. Weller TH: Viral Infections of Human: Epidemiology and Control. 2nd ed. NY: Pelnum 569-95, 1982
4. Kimura A, et al: Arch virusforsch 36: 1, 1972
5. Esiri M, Tomlinson AH: J. Neurol. Sci. 15:25, 1972
6. Oakes JE, Iltis JP Hyman RW, et al: Virology, 82:353, 1977
7. Richards JC, Human RW, Rapp F: J. Virol. 32:812, 1979
8. Fleisher G, Henry W, McSorley M, Arbeter A, Plotkin S: Am. J. Dis. Child. 135:869-9, 1981.
9. Preblud SR: Pediatrics 68:14-7, 1981.
10. Ojeda VJ, et al: ASCP 529-532 (Vol 81, No.4), April 1984.
11. The Harvard Medical School Health Center, Vol IX. No.8 "Shingles". June, 1984.
12. Leclair JM, Zaia JA, Levin MJ: N. Engl. J. Med. 302:450, 1980.
13. Tyzzer EE: J. Med. Res. 14:361, 1960.
14. Stevens DA, Merigan TC: J. Infect. Dis. 509, 1975.
15. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18, Current edition. Approved Guideline.
16. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture: Current edition. Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
17. Scott TF: Epidemiology of Herpetic Infections. Am.J.Ophthal. 43:134-147, 1957.
18. U.S. Department of Labor (OSHA), Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. 21CFR 1910-1030.
19. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4<sup>th</sup> Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



**ZEUS Scientific, Inc.**  
 200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA  
 Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2  
 International: +1 908-526-3744  
 Fax: +1 908-526-2058  
 Website: [www.zeusscientific.com](http://www.zeusscientific.com)  
 ZEUS ELISA und SaVe Diluent® sind Markenzeichen von ZEUS Scientific, Inc

Für Kundenservice in den USA kontaktieren Sie bitte Ihren Händler vor Ort.  
 Für Technischen Support in den USA kontaktieren Sie ZEUS Scientific durch einen gebührenfreien Anruf oder einer E-Mail an [support@zeusscientific.com](mailto:support@zeusscientific.com).  
 Für Kundenservice und Technischen Support außerhalb der USA kontaktieren Sie bitte Ihren Händler vor Ort.  
 © 2020 ZEUS Scientific, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

