

VZV-IgG-ELISA PKS medac

Deutsch/English/Français



HERSTELLER/MANUFACTURER/FABRICANT

medac
Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Fehlandtstraße 3
D-20354 Hamburg

VERTRIEB/MARKETING/DISTRIBUTION

medac
Gesellschaft für klinische
Spezialpräparate mbH
Geschäftseinheit Diagnostika
Theaterstraße 6
D-22880 Wedel

Tel./Phone: ++49 / 4103 / 80 06-351
Fax: ++49 / 4103 / 80 06-359

**BESTELLADRESSE/ORDERING ADDRESS/
ADRESSE DE COMMANDE**

Tel./Phone: ++49 / 4103 / 80 06-111
Fax: ++49 / 4103 / 80 06-113

Deutsch: S. 1
English: p. 15
Français: p. 29

Literatur/References/Littérature: S./p./p. 44

VZV-IgG-ELISA PKS medac

Enzymimmunoassay mit Pipettier-Kontroll-System (PKS) zur quantitativen Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen das Varizella-Zoster-Virus (VZV) in Serum und Liquor

Katalog-Nr.: 103-PKS

ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK

EINFÜHRUNG

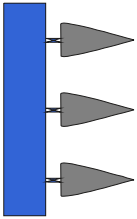
Das *Varizella-Zoster-Virus* (VZV) gehört zur Familie der *Herpesviridae*. Es besteht aus einem doppelsträngigen DNA-Genom, dem Nukleokapsid, dem Tegument und der Virushülle. Primärinfektionen (Varizellen) erfolgen in der Regel im Kindesalter. Bei immunkompetenten Patienten ist die Symptomatik in der Regel moderat. Bei Immunsupprimierten kann die Infektion zu ernsthaften Komplikationen (ZNS-Symptomatik, Pneumonien, sekundäre bakterielle Infektionen) führen.

Die Seroprävalenz bei erwachsenen Personen liegt bei etwa 95%. Typisch für VZV ist, dass sie nach einer Primärinfektion lebenslang in den sensorischen Nervenganglien des Dorsalstammes persistieren und eine latente Infektion der neuronalen Zellen verursachen. Durch endogene Reaktivierung des Virus kann es daher zur Ausprägung des Sekundärkrankheitsbildes Herpes Zoster kommen. Varizellen können durch Impfungen verhindert werden. Die auf dem Markt befindlichen Impfstoffe sind hinsichtlich der Prävention hocheffizient.

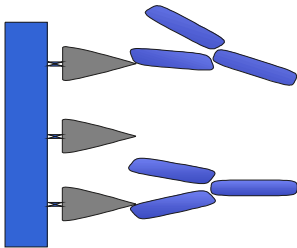
Die Diagnose der Varizellen und des Zoster erfolgt in der Regel durch das typische klinische Bild. Bei atypischen Krankheitsverläufen oder in der Schwangerschaft sind labordiagnostische Untersuchungen essentiell. VZV-Antikörperbestimmungen dienen primär der Klärung der Immunität oder des Impferfolgs, sind aber auch zur Bestätigung bei Verdacht auf Varizellen bzw. Zoster sinnvoll. Der Nachweis einer VZV-spezifischen intrathekalen Antikörpersynthese im Rahmen der Serum-Liquor-Diagnostik ist Bestandteil der differentialdiagnostischen Abklärung akuter Infektionen wie auch chronischer Erkrankungen mit ZNS-Beteiligung.

Der VZV-IgG-ELISA PKS medac ist ein Nachweissystem zur quantitativen Bestimmung von spezifischen IgG-Antikörpern. Durch Verwendung von Testkontrollen, die am internationalen Referenzpräparat der WHO kalibriert sind, ist es möglich, eine Bewertung des spezifischen Anti-VZV-IgG-Spiegels vorzunehmen. Der Test kann ebenfalls zur erreger-spezifischen intrathekalen Antikörpersynthese über die Ermittlung eines spezifischen Antikörperindex in Serum-Liquor-Paaren eingesetzt werden.

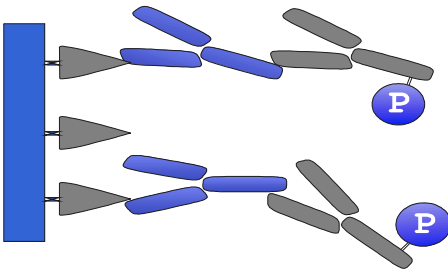
TESTPRINZIP



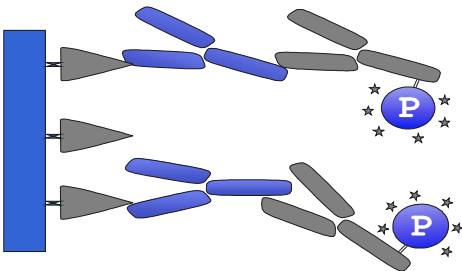
Mit VZV-Antigen beschichtete Mikrotiterplatte.



VZV-spezifische Antikörper aus der Patientenprobe binden an das Antigen.



Das Peroxidase-gekoppelte Anti-Human-IgG bindet an die VZV-IgG-Antikörper (P = Peroxidase).



Inkubation mit TMB-Substrat (*). Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure. Die Auswertung erfolgt photometrisch.

Testvorteile

- ☞ Durch das Pipettier-Kontroll-System kann jeder einzelne Pipettierschritt durch Farbumschlag überprüft werden.
- ☞ Die brechbaren Mikrotiterstreifen gewährleisten eine optimale Testauslastung.
- ☞ Automatisierbar auf offenen ELISA-Gerätesystemen.
- ☞ Ein-Punkt-Quantifizierung, keine Standardkurve mehr nötig.
- ☞ Keine zusätzliche Kalibrationskurve für Liquordiagnostik erforderlich.

PACKUNGSINHALT

KAT.-NR.: 103-PKS

1.

MTP

Mikrotiterplatte: 12 Teststreifen à 8 Vertiefungen, schwarzmarkiert (mit Halterahmen und Trockenmittelpappe im Aluminiumbeutel vakuumverschweißt), brechbar, Rundboden, beschichtet mit VZV-Antigen, BSA und pH-Indikator, gebrauchsfertig.
2.

CONTROL	-
----------------	----------

Negative Kontrolle: 1 Fläschchen à 1,5 ml, humanes Serum, gebrauchsfertig, enthält BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
3.

CONTROL	+
----------------	----------

Positive Kontrolle: 1 Fläschchen à 1,5 ml, humanes Serum, gebrauchsfertig, enthält FKS, BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
4.

CAL

Kalibrator: 1 Fläschchen à 1,5 ml, humanes Serum, gebrauchsfertig, enthält FKS, BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
5.

WB

Waschpuffer: 1 Flasche à 100 ml, PBS/Tween (10 x), pH 7,2 - 7,4, enthält ProClin™ 300.
6.

VIR-DIL

Probenverdünnungspuffer: 1 Flasche à 110 ml, PBS/Tween/BSA, pH 7,2 - 7,4, gebrauchsfertig, enthält ProClin™ 300.
7.

CON

Konjugat: 3 Fläschchen à 4,5 ml, Ziege-Anti-Human-IgG-Antikörper, HRP-konjugiert, gebrauchsfertig, grün gefärbt, enthält BSA, Phenol, ProClin™ 300 und Gentamycinsulfat.
8.

TMB

TMB-Substrat: 1 Fläschchen à 10 ml, gebrauchsfertig.
9.

STOP

Stopplösung: 2 Fläschchen à 11 ml, 0,5 M Schwefelsäure (H₂SO₄), gebrauchsfertig.

1. LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Material/Reagenz	Zustand	Lagerung	Haltbarkeit
Testkit	ungeöffnet	2...8 °C	bis Verfalldatum
Mikrotiterplatte	geöffnet	2...8 °C im Beutel mit Trockenmittelpappe	6 Wochen
Kontrollen/ Kalibrator	geöffnet	2...8 °C	6 Wochen
Waschpuffer	verdünnt	2...8 °C	6 Wochen
Probenverdünnungs- puffer	geöffnet	2...8 °C	6 Wochen
Konjugat	geöffnet	2...8 °C	6 Wochen
TMB-Substrat	geöffnet	2...8 °C	6 Wochen
Stopplösung	geöffnet	2...8 °C	bis Verfalldatum

Die Reagenzien sind nach Ablauf des angegebenen Verfalldatums nicht mehr zu verwenden.

2. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- 2.1. Aqua ad iniectabilia (H₂O bidest.). Die Verwendung von entionisiertem Wasser kann zu Störungen im Testsystem führen.
- 2.2. Mikroliterpipetten für entsprechende Volumina.
- 2.3. Saubere Glas- oder Kunststoffgefäße zum Verdünnen von Waschpuffer und Proben.
- 2.4. Geeignete Vorrichtung zum Waschen der Mikrotiterplatte (z. B. Multistepper oder ELISA-Waschgerät).
- 2.5. Inkubator für 37 °C.
- 2.6. Mikrotiterplatten-Photometer mit Filtern für 450 nm und 620 - 650 nm.

3. ANSETZEN DER REAGENZIEN

Alle Kitkomponenten müssen vor Testansatz auf Raumtemperatur gebracht werden.

Ermitteln Sie die Anzahl der benötigten Mikrotitervertiefungen.

3.1. Mikrotiterplatte

Der Aluminiumbeutel muß nach jeder Entnahme zusammen mit der Trockenmittelpappe wieder fest verschlossen werden. Lagerung und Haltbarkeit der nicht verwendeten Mikrotitervertiefungen s. unter 1.

Hinweis: Die Mikrotitervertiefungen weisen einen leicht grünlichen Farbton auf. Ggf. auftretende grünlich-braune Flecken in den Vertiefungen sind produktionsbedingt und stören den Test nicht.

3.2. Waschpuffer

1 Teil Waschpuffer (10 x) wird mit 9 Teilen Aqua ad iniectabilia angesetzt (z. B. 50 ml Waschpuffer (10 x) mit 450 ml Aqua ad iniectabilia). Für acht Vertiefungen werden 10 ml Waschpuffer benötigt.

Evtl. im Waschpuffer (10 x) vorhandene Kristalle sind vor dem Ansetzen durch Erwärmen (max. 37 °C) und/oder Rühren bei RT in Lösung zu bringen.

Die testspezifischen Reagenzien (Mikrotiterplatte, Kontrollen, Konjugat, Kalibrator) sind nicht mit denen anderer Chargen zu mischen. Im Gegensatz dazu sind Probenverdünnungspuffer, Waschpuffer, TMB-Substrat und Stopplösung für alle virologischen Tests von medac grundsätzlich austauschbar.

Reagenzien anderer Hersteller sind generell nicht einzusetzen.

Nur bei exakter Einhaltung der Arbeitsvorschrift werden valide und reproduzierbare Ergebnisse erhalten.

4. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

4.1. Der Test ist geeignet zur Untersuchung von Serum und Liquor (zur Untersuchung von Liquor unbedingt Punkt 8 beachten).

4.2. Eine Vorbehandlung der Seren, wie z. B. Inaktivierung, ist nicht erforderlich, sie sollten jedoch nicht mikrobiell kontaminiert und frei von Humanerythrocyten sein.

4.3. Die Seren werden 1 : 200 mit Probenverdünnungspuffer verdünnt. Wir empfehlen, zunächst eine 1 : 50 Verdünnung herzustellen (z. B. 10 µl Serum + 490 µl Probenverdünnungspuffer) und nur die benötigte Menge 1 : 4 weiterzuverdünnen. Proben außerhalb des Meßbereiches können beliebig weiterverdünnt werden.

4.4. Die Serum-Liquor-Diagnostik ist unter Punkt 8 ausführlich beschrieben.

5.A. ARBEITSVORSCHRIFT

5.1. Die Verpackung der Mikrotiterplatte am ZIP-Verschluß öffnen und die erforderliche Anzahl Mikrotitervertiefungen entnehmen (s. 3.1.).

Die Mikrotitervertiefungen sind gebrauchsfertig und müssen nicht vorgewaschen werden.

5.2. Die Vertiefung A1 bleibt frei für die Ermittlung des Leerwertes (s. 6.A.). Jeweils 50 µl der negativen Kontrolle, der positiven Kontrolle sowie der Proben und 50 µl des Kalibrators in Doppelbestimmung in die Vertiefungen der Platte pipettieren.

Nach dem Pipettieren der Proben (pH-neutrale bzw. basische Flüssigkeiten) kommt es zu einer Blau-/Grünfärbung. Erfolgt in einer Vertiefung kein Farbumschlag, so ist dies ein Hinweis darauf, daß keine Probe bzw. keine Kontrolle pipettiert wurde.

Ggf. kann die Platte bis zur weiteren Bearbeitung für maximal 30 min bei RT gelagert werden.

5.3. Die Mikrotitervertiefungen 60 min (± 5 min) bei 37 °C (± 1 °C) inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt).

5.4. Nach Inkubation die Mikrotitervertiefungen dreimal mit jeweils 200 µl Waschpuffer waschen. Darauf achten, daß alle Vertiefungen beim Waschen gefüllt werden. Nach Beendigung des Waschvorganges Mikrotitervertiefungen auf Filterpapier ausklopfen.

Nicht austrocknen lassen! Umgehend weiterverwenden!

5.5. Konjugat (grün gefärbt) in alle Vertiefungen (außer A1) pipettieren.

Beim manuellen Abarbeiten des Tests werden 50 µl Konjugat pro Vertiefung pipettiert.

Bitte beachten:

Beim Arbeiten mit automatisierten Gerätesystemen ist auf Grund der höheren Verdunstung in den Inkubationskammern die Zugabe von 60 µl Konjugat pro Vertiefung zu programmieren.

Die grundsätzliche Eignung des Tests für die automatisierte Abarbeitung konnte im Rahmen der Validierung gezeigt werden. Dennoch empfehlen wir, die Kompatibilität mit dem zum Einsatz kommenden Gerätesystem zu verifizieren.

- 5.6. Erneut 60 min (\pm 5 min) bei 37 °C (\pm 1 °C) inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt).
- 5.7. Nach Inkubation die Mikrotitervertiefungen erneut waschen (s. 5.4.).
- 5.8. 50 μ l TMB-Substrat in jede Vertiefung (auch A1) pipettieren und 30 min (\pm 2 min) bei 37 °C (\pm 1 °C) im Dunkeln inkubieren (feuchte Kammer oder mit Folie abgeklebt). Positive Proben erscheinen blau gefärbt.
- 5.9. Durch Zugabe von 100 μ l Stopplösung in jede Vertiefung (auch A1) wird die Reaktion gestoppt. Es erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb.

Mikrotitervertiefungen vor photometrischer Messung von unten abwischen und darauf achten, daß keine Luftblasen in den Vertiefungen vorhanden sind!

Die Messung ist innerhalb von 15 min nach dem Stoppen durchzuführen!

5.B. TABELLE ZUR ARBEITSVORSCHRIFT

	Leerwert (A1)	Negative Kontrolle	Positive Kontrolle	Kalibrator	Probe
Negative Kontrolle	-	50 μ l	-	-	-
Positive Kontrolle	-	-	50 μ l	-	-
Kalibrator	-	-	-	50 μ l	-
Probe	-	-	-	-	50 μ l
60 min bei 37 °C inkubieren, 3 x mit 200 μ l Waschpuffer waschen					
Konjugat	-	50/60 μ l*)	50/60 μ l*)	50/60 μ l*)	50/60 μ l*)
60 min bei 37 °C inkubieren, 3 x mit 200 μ l Waschpuffer waschen					
TMB-Substrat	50 μ l	50 μ l	50 μ l	50 μ l	50 μ l
30 min bei 37 °C im Dunkeln inkubieren					
Stopplösung	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
Photometrische Auswertung bei 450 nm (Ref. 620-650 nm)					

*) manuelle/automatisierte Abarbeitung (s. 5.5)

6.A. TESTBEURTEILUNG (VALIDITÄT)

- * Die photometrische Auswertung erfolgt bei einer Wellenlänge von 450 nm (Referenzwellenlänge 620 - 650 nm).
- * Die OD des Leerwertes (Vertiefung A1) wird von allen OD-Werten subtrahiert.

* Chargenspezifische Daten

Dem Test liegt ein chargenspezifisches Datenblatt bei. Diesem können folgende Angaben entnommen werden:

- chargenspezifische Standardkurve
- Kurvenparameter a und b
- OD-Sollwert des Kalibrators
- unterer Grenzwert für die OD des Kalibrators
- Sollbereich in mIU/ml für die positive Kontrolle

* Validitätskriterien

- Der OD-Wert der **negativen Kontrolle** muß **< 0,150** betragen.
- Der Unit-Wert der **positiven Kontrolle** muß innerhalb des Sollwertbereiches gemäß chargenspezifischem Datenblatt liegen.
- Der OD-Mittelwert des **Kalibrators** muß oberhalb des Grenzwertes gemäß chargenspezifischem Datenblatt liegen.
- Zusätzliche Validitätskriterien für Serum-Liquor-Bestimmungen s. 8.

Sind die genannten Validitätskriterien nicht erfüllt, muß der Test wiederholt werden!

* Korrektur der Meßergebnisse

Die OD-Werte für die positive Kontrolle und die Patientenproben werden wie folgt korrigiert:

$$OD_{\text{korrigiert}} = \frac{\text{OD-Sollwert des Kalibrators}}{\text{OD-Meßwert des Kalibrators}} \times OD_{\text{gemessen}}$$

* Quantifizierung der Meßergebnisse

Für die korrigierten OD-Werte sind die korrespondierenden Konzentrationen in mIU/ml aus der Standardkurve auf dem chargenspezifischen Datenblatt zu ermitteln.

Alternativ lassen sich die Konzentrationen auch mit der folgenden Formel berechnen:

$$\text{Konzentration [mIU/ml]} = b \left(\frac{a}{OD_{\text{korrigiert}}} - 1 \right)$$

Die meisten ELISA-Photometer neuerer Bauart gestatten die Eingabe dieser Formel, so daß eine direkte Auswertung mittels Photometer möglich ist.

Der Meßbereich für Seren erstreckt sich von 160 bis 5.000 mIU/ml. Proben oberhalb des Meßbereiches sind als > 5.000 mIU/ml zu bewerten. Diese dürfen nicht extrapoliert werden, sondern sollten in höherer Verdünnung wiederholt werden.

Der Cut-off liegt bei 180 mIU/ml

Grenzbereich = 160 - 200 mIU/ml

Achtung! Wichtiger Hinweis!

Bedingt durch den mathematischen Algorithmus der quantitativen Auswertung können in folgenden Fällen negative oder nicht definierte mIU-Werte erhalten werden:

- Bei stark positiven Proben mit korrigierten OD-Werten $\geq a$ erhält man negative oder nicht definierte mIU-Werte (nicht erlaubte Division durch 0). Diese Proben sind in einer höheren Verdünnung nachzutesten oder als > 5.000 mIU/ml zu bewerten.

6.B. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE/GRENZEN DER METHODE

* Proben mit Unit-Werten unterhalb des Grenzbereiches werden als **NEGATIV** bewertet.

* Proben mit Unit-Werten innerhalb des Grenzbereiches werden als **GRENZWERTIG** bewertet.

Diese Werte sollten kontrolliert werden, indem nach 14 Tagen eine zusätzliche Patientenprobe entnommen wird, die zusammen mit der ersten Probe auf eine Titerbewegung untersucht wird.

* Proben mit Unit-Werten oberhalb des Grenzbereiches werden als **POSITIV** bewertet.

* Die Testergebnisse sollten stets im Zusammenhang mit dem klinischen Bild der Patienten sowie den VZV-IgM- und IgA-Ergebnissen und ggf. weiteren diagnostischen Parametern interpretiert werden.

* Kreuzreaktivitäten, die durch Antikörper gegen andere Herpesviren hervorgerufen werden, können in Einzelfällen nicht ausgeschlossen werden.

* Sehr stark erhöhte Lipidwerte können die gemessene Antikörperkonzentration verfälschen.
Hohe Hämoglobinkonzentrationen beeinflussen die Testergebnisse nicht.

7. LEISTUNGSMERKMALE

Die nachfolgenden Leistungsmerkmale wurden von uns im Rahmen der diagnostischen Evaluierung ermittelt.

7.A. SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Im Rahmen der diagnostischen Erprobung wurden 150 Proben im Vergleich zur diagnostischen Bewertung aus dem Labor Prof. Dr. Enders und Kollegen, Stuttgart gemessen.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Neun-Felder-Tafel dargestellt:

		Bewertung Prof. Enders		
		negativ	grenzwertig	positiv
VZV-IgG- ELISA PKS medac	negativ	49	0	0
	grenzwertig	0	1	0
	positiv	1	0	99

Spezifität = 98,0 %

Sensitivität = 100,0 %

Übereinstimmung : 99,3 %

7.B. PRÄZISION

Probe	Intraassay-Varianz				Probe	Interassay-Varianz			
	MW mIU	S	VK (%)	n		MW mIU	S	VK (%)	n
PK	323	6,9	2	22	PK	344	12,5	4	11
Nr. 1	100	7,2	7	22	Nr. 6	107	4,1	4	11
Nr. 2	136	4,0	3	22	Nr. 7	152	8,7	6	11
Nr. 3	337	12,4	4	22	Nr. 8	360	9,3	3	11
Nr. 4	1.170	41,1	4	22	Nr. 9	1.195	71,6	6	11
Nr. 5	2.754	108,7	4	22	Nr.10	3.107	453,7	15	11

PK = Positive Kontrolle

8. LIQUORDIAGNOSTIK

Der Nachweis einer VZV-spezifischen Antikörpersynthese im ZNS im Rahmen der Liquordiagnostik ist Bestandteil der differentialdiagnostischen Abklärung akuter Infektionen wie auch chronischer Erkrankungen mit ZNS-Beteiligung.

Neben Pilzen und Bakterien zeichnen auch verschiedene Viren für Infektionen mit ZNS-Beteiligung verantwortlich. Außerdem findet man bei chronischen Erkrankungen wie Multipler Sklerose in etwa 95 % aller Fälle hohe Antikörperindizes für Masern, Röteln und/oder Varizella-Zoster.

Die Bestimmung einer VZV-spezifischen intrathekalen Antikörpersynthese erfolgt durch die Ermittlung des Antikörperindex (AI) nach Reiber (Reiber 1987, 1999). Für die Berechnung des AI müssen die folgenden Voraussetzungen erfüllt sein:

- Ermittlung des Albuminquotienten (Q_{alb}) zur Beurteilung der Schrankenfunktion und Berechnung des Limes-Wertes bei erhöhtem IgG-Quotienten ($Q_{ges} > Q_{lim}$)
- Ermittlung des Gesamt-IgG-Quotienten (Q_{ges})

8.1. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

- 8.1.1. Der Test ist geeignet zur Untersuchung von Serum-Liquor-Paaren.
- 8.1.2. Eine Vorbehandlung der Seren und Liquores, wie z.B. Inaktivierung, ist nicht erforderlich, sie sollten jedoch nicht mikrobiell kontaminiert und frei von humanen Erythrozyten sein.
- 8.1.3. Serum
Neben der 1 : 200-Verdünnung zur Bestimmung des Serostatus werden die Seren 1 : 1.000 mit Probenverdünnungspuffer verdünnt. Zur Berechnung des AI wird die Verdünnung gewählt, deren mIU-Wert innerhalb des Meßbereichs für die Liquorbestimmung liegt (s. 8.4.). Liegen die mIU-Werte für beide Verdünnungen in diesem Bereich (160 - 3.000 mIU), ist für die AI-Berechnung der mIU-Wert der 1 : 1.000-Verdünnung zu verwenden. Liegen die mIU-Werte für beide Verdünnungen oberhalb von 3.000 mIU, muß die Probe weiterverdünnt werden.

8.1.4. Liquor

Die Liquores werden standardmäßig 1 : 5 mit Probenverdünnungspuffer verdünnt. Liegt die gemessene Antikörperkonzentration oberhalb des Meßbereichs, muß die Probe weiterverdünnt werden (vgl. 8.4.).

Serum und Liquor immer parallel im gleichen Testlauf bestimmen (auch bei Wiederholungsmessungen)!

8.2. ARBEITSVORSCHRIFT

Der weitere Testansatz für die VZV-IgG-Bestimmung in Serum-Liquor-Paaren erfolgt gemäß Punkt 5.A.

8.3. BESTIMMUNG VON GESAMT-IgG UND ALBUMIN-GEHALT

Zusätzlich zu den VZV-spezifischen IgG-Bestimmungen sind der jeweils korrespondierende Gesamt-IgG-Gehalt und der Albumin-Gehalt in Serum und Liquor zu bestimmen.

8.4. TESTBEURTEILUNG/VALIDITÄT

* Validität

Es gelten die unter Punkt 6.A. angegebenen Validitätskriterien.

Sind die genannten Validitätskriterien nicht erfüllt, muß der Test wiederholt werden!

Zusätzlich gilt für die Liquordiagnostik:

- Seren mit einem Antikörpergehalt < 160 mIU in der 1 : 200-Verdünnung werden als seronegativ betrachtet. In diesem Fall kann kein Antikörperindex bestimmt werden.
- In äußerst seltenen Fällen sind bei seronegativen Patienten auf Grund VZV-bedingter Enzephalopathien intrathekale Antikörper nachweisbar.
- Der Meßbereich für Liquor erstreckt sich von 40 - 3.000 mIU.
- Der Meßbereich für Seren erstreckt sich von 160 - 3.000 mIU.
- Liquores, die in der Verdünnung von 1 : 5 unterhalb des Meßbereichs liegen, können nicht berechnet werden. Auch bei positivem Serostatus ist bei diesen Proben eine intrathekale anti VZV-IgG-Synthese höchst unwahrscheinlich.

* Bewertung

- Berechnung der mIU-Werte s. 6.A.
- Berechnung des erregerspezifischen IgG-Quotienten (Q_{spez})

$$Q_{spez} = \frac{\text{mIU Liquor} \times \text{Verdünnung Liquor}}{\text{mIU Serum} \times \text{Verdünnung Serum}}$$

- Berechnung des Antikörperindex

Der erregerspezifische Index errechnet sich dann nach den Formeln:

1. $AI = Q_{spez}/Q_{ges}$ (für $Q_{ges} < Q_{lim}$)
2. $AI = Q_{spez}/Q_{lim}$ (für $Q_{ges} > Q_{lim}$)
3. $Q_{lim} = 0,93 \times \sqrt{Q_{alb}^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1,7 \times 10^{-3}$

8.5. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

- * AI-Werte von 0,6 - 1,3 gelten als Normalbereich.
- * AI-Werte $> 1,3$ und $\leq 1,5$ gelten als grenzwertig.
- * **Der pathologische Bereich ist festgelegt mit $AI > 1,5$.**
- * AI-Werte $< 0,6$ weisen auf analytische Fehler hin und sind nicht interpretierbar.
- * Liquordiagnostische Entscheidungskriterien für eine akute, aktive Erkrankung des ZNS sind eine erhöhte Zellzahl und ein erhöhter Albumin-Quotient als Ausdruck einer entzündlich bedingten Liquorflußbehinderung.
- * Erhöhte Antikörperindizes sind allein kein sicherer Beweis für die akute Phase einer infektiösen ZNS-Erkrankung, da Antikörper auch intrathekal über längere Zeiträume persistieren und polyspezifische ZNS-eigene Antikörpersynthesen vorkommen können. Gegebenenfalls ist eine signifikante Änderung des AI-Wertes über Zweitbestimmungen von Serum-Liquor-Paaren für die Beurteilung einer ZNS-Infektion angezeigt. Dazu ist eine weitere in einem klinisch sinnvollen zeitlichen Abstand erfolgende Probenentnahme erforderlich, die auf Grund klinischer Gesichtspunkte entschieden werden muß.

ALLGEMEINE HANDHABUNGSHINWEISE

- * Reagenzienflaschen und deren Verschlüsse nicht vertauschen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
- * Sofort nach Gebrauch die Reagenzflaschen wieder fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- * Nach Gebrauch sind die Reagenzien sofort wieder, entsprechend den vorgeschriebenen Lagerungsbedingungen, zu lagern, um die angegebene Haltbarkeit zu gewährleisten.
- * Um Verwechslungen mit Reagenzien anderer Testsysteme oder Chargen zu vermeiden, sollten alle Kitkomponenten einer Testpackung nach dem Gebrauch zusammen in der Originalpackung gelagert werden (siehe auch 3.).

SICHERHEITSHINWEISE

- * Die national verbindlichen Arbeitsschutzvorschriften sind zu beachten.
- * Die Reagenzien humanen Ursprungs wurden auf HBsAg, Anti-HIV 1/2 und Anti-HCV untersucht und für nicht reaktiv befunden. Dennoch sollten diese Reagenzien wie auch jene, die Bestandteile tierischer Herkunft enthalten (siehe Packungsinhalt), als potentiell infektiös behandelt werden, um das Risiko einer Ansteckung zu vermeiden.

ENTSORGUNGSHINWEISE

Die in diesem Produkt enthaltenen Chemikalien und Zubereitungen sowie die bei der Anwendung dieses Produktes anfallenden Reste sind in der Regel Abfälle, die einer ordnungsgemäßen Entsorgung zugeführt werden müssen.

Die Entsorgung solcher Abfälle unterliegt den nationalen abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen. Die zuständige Behörde oder Abfallentsorgungsunternehmen informieren über die Entsorgungsmöglichkeiten.

LITERATURHINWEISE

s. S. 44

Ausgabedatum: 14.09.2007

VZV-IgG-ELISA PKS medac

Enzyme immunoassay with Pipetting Control System for the quantitative detection of IgG antibodies to Varizella-Zoster virus (VZV) in serum and cerebrospinal fluid (CSF)

Cat. no.: 103-PKS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTRODUCTION

Varicella-Zoster virus (VZV) belongs to the family of *Herpesviridae*. It consists of a double-stranded DNA genome, nucleocapsid, tegument and envelope. Primary infection predominantly occurs in childhood (varicella). In immunocompetent individuals the symptoms are regularly moderate. In immunosuppressive patients the infection can cause serious complications (central nervous system involvement, pneumonia, secondary bacterial infections).

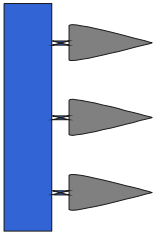
The seroprevalence in adult individuals is about 95 %. It is characteristic for VZV to persist lifelong in the sensory nerve ganglia of the dorsal root establishing latent infection in neuronal cells. An endogenous reactivation of the virus may cause the secondary illness herpes zoster.

Varicella can be prevented by vaccination. The commercially available vaccines are highly efficient in preventing the disease.

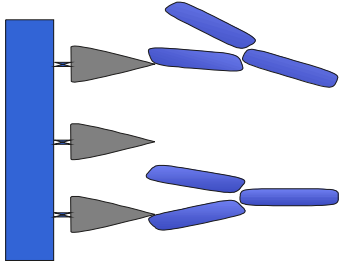
Varicella and herpes zoster are regularly diagnosed by the typical clinical signs. Laboratory diagnostic investigation may become essential in cases with atypical illness or during pregnancy. The detection of antibodies against VZV is predominantly used to confirm immunity or success of vaccination. It is further useful for the confirmation of suspected VZV disease. The detection of a VZV-specific intrathecal antibody synthesis in serum-CSF pairs is a component of differential diagnosis in acute infection or chronic disease of the central nervous system.

The VZV-IgG-ELISA PKS medac is an assay for the quantitative detection of specific IgG antibodies. By using test controls, which are calibrated against the the international reference preparation of the WHO, an interpretation of the specific anti-VZV-IgG level is possible. The test is also suitable for the detection of pathogen-specific intrathecal antibody synthesis calculating a specific antibody index in serum-CSF pairs.

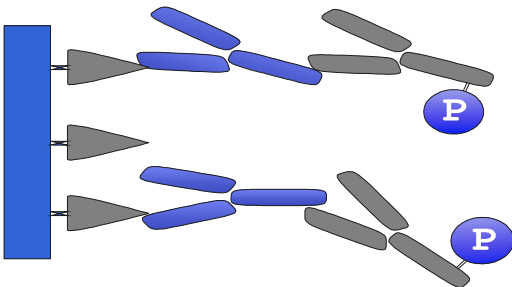
TEST PRINCIPLE



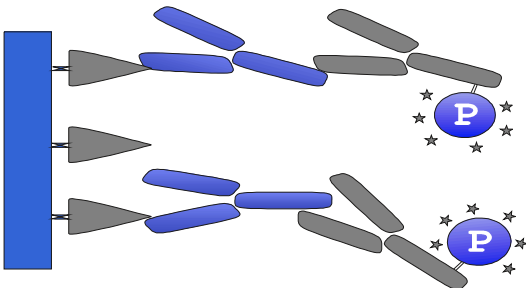
The plate is coated with VZV antigen.



The VZV-specific antibodies from the specimen are selectively bound to the antigen.



Peroxidase-conjugated anti-human IgG antibodies bind to the IgG antibodies (P = peroxidase).



Incubation with TMB-substrate (*). The reaction is stopped by the addition of sulfuric acid. The absorption is read photometrically.

Advantages of the test

- ☞ The Pipetting Control System allows to monitor visually each pipetting step through colour changes.
- ☞ The breakable microwell strips permit efficient use of the test.
- ☞ Suitable for automation on open ELISA devices.
- ☞ One-point quantification, no standard curve needed.
- ☞ No additional calibration curve for diagnostic of CSF needed.

KIT CONTENTS

Cat. no.: 103-PKS

1.

MTP

Microplate: 12 x 8 wells, black-coded (with frame and desiccant vacuum sealed in aluminium bag), breakable, U-form, coated with VZV antigen, BSA and pH indicator, ready to use.
2.

CONTROL	-
----------------	----------

Negative control: 1 vial with 1.5 ml each, human serum, ready to use, contains BSA, phenol, ProClin™ 300 and gentamycine sulfate.
3.

CONTROL	+
----------------	----------

Positive control: 1 vial with 1.5 ml each, human serum, ready to use, contains FCS, BSA, phenol, ProClin™ 300 and gentamycine sulfate.
4.

CAL

Calibrator: 1 vial with 1.5 ml each, human serum, ready to use, contains FCS, BSA, phenol, ProClin™ 300 and gentamycine sulfate.
5.

WB

Wash buffer: 1 bottle with 100 ml, PBS/Tween (10 x), pH 7.2-7.4, contains ProClin™ 300.
6.

VIR-DIL

Sample diluent: 1 bottle with 110 ml, PBS/Tween/BSA, pH 7.2-7.4, ready to use, contains ProClin™ 300.
7.

CON

Conjugate: 3 vials with 4.5 ml each, goat anti-human IgG, HRP-conjugated, ready to use, stained green, contains BSA, phenol, ProClin™ 300 and gentamycine sulfate.
8.

TMB

TMB-substrate: 1 vial with 10 ml, ready to use.
9.

STOP

Stop solution: 2 vials with 11 ml each, 0.5 M sulfuric acid (H₂SO₄), ready to use.

1. STORAGE AND STABILITY

MATERIAL/REAGENT	STATE	STORAGE	STABILITY
Test kit	unopened	2...8°C	until expiry date
Microplate	opened	2...8°C in bag with desiccant	6 weeks
Controls/ Calibrator	opened	2...8°C	6 weeks
Wash buffer	diluted	2...8°C	6 weeks
Sample diluent	opened	2...8°C	6 weeks
Conjugate	opened	2...8°C	6 weeks
TMB-substrate	opened	2...8°C	6 weeks
Stop solution	opened	2...8°C	until expiry date

Do not use the reagents after the expiry date.

2. REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- 2.1. Water for injection (H₂O redist.). Use of deionised water can disturb the test procedure.
- 2.2. Adjustable micropipettes.
- 2.3. Clean glass or plastic containers for dilution of Wash Buffer and specimen.
- 2.4. Suitable device for microplate washing (e.g. multistepper or ELISA washer).
- 2.5. Incubator for 37°C.
- 2.6. Microplate reader with filters for 450 nm and 620 - 650 nm.

3. PREPARATION OF THE REAGENTS

Before starting the test procedure all kit components must be equilibrated to room temperature.

Calculate the number of wells required.

3.1. Microplate

The aluminium bag has to be tightly resealed together with the desiccant after each removal of wells. Storage and stability of the wells are indicated under point 1.

Note: The microplate wells have a light green colour. Eventually occurring greenish brown stains inside the wells are due to the production process and do not influence the test performance.

3.2. Wash buffer

Mix one volume of wash buffer (10 x) with nine volumes of water for injection (e.g. 50 ml wash buffer (10 x) with 450 ml water). 10 ml of diluted wash buffer are needed for eight wells.

Crystals in the wash buffer (10 x) have to be dissolved by warming (max. 37 °C) and/or stirring at RT.

Do not mix test specific reagents (microplate, controls, conjugate, calibrator) from different kit lots. In contrast to that, sample diluent, wash buffer, TMB-substrate and stop solution are generally exchangeable in all virological ELISA medac.

Reagents from other manufactures must not be used in general.

Valid and reproducible results are only obtained if the test procedure is precisely followed.

4. SPECIMEN

- 4.1. The test is suitable for serum and CSF samples (for the detection of CSF see 8.).
- 4.2. Pretreatment of sera, e.g. inactivation, is not necessary. However, they should neither be contaminated with microorganisms nor contain any red blood cells.
- 4.3. Serum has to be diluted 1 : 200 with sample diluent. We recommend to prepare an initial dilution of 1 : 50 (e.g. 10 µl serum + 490 µl sample diluent). For further 1 : 4 dilution just prepare the volume needed. Samples outside the measuring range can be diluted further.
- 4.4. **The diagnostic investigation of serum-CSF pairs is described in detail under 8.**

5.A. TEST PROCEDURE

- 5.1. Cut the aluminium bag above the zip fastener and take out the required number of microplate wells (see 3.1.).

Microplate wells are ready to use and do not have to be pre-washed.

- 5.2. Leave well A1 empty as blank (see 6.A.). Add 50 µl each of the negative control, positive control as well as the diluted sample in single determination and 50 µl of the calibrator in duplicate to the wells.

After pipetting the samples (pH neutral or basic fluid) the wells turn blue/green. A missing colour change in one well indicates that no sample or control has been added.

If necessary, the microplate wells can be kept up to 30 min at RT before proceeding.

- 5.3. Incubate the microplate wells for 60 min (\pm 5 min) at 37 °C (\pm 1 °C) in a humid chamber or sealed with incubation cover foil.
- 5.4. After incubation wash the microplate wells three times with 200 µl wash buffer per well. Pay attention that all wells are filled. After washing tap microplate wells on filter paper.

Do not allow the wells to dry out! Proceed immediately!

- 5.5. Add conjugate (coloured green) to each well (except A1).

50 µl of conjugate have to be pipetted into the wells if the test is done manually.

Please note:

When working with automated devices, 60 µl of conjugate have to be pipetted into each well due to a higher evaporation in the incubation chambers of the devices.

The suitability of the test for automated devices was confirmed during the evaluation of the test. Nevertheless we recommend to verify the compatibility of the test with the devices used in the lab.

- 5.6. Incubate again for 60 min (\pm 5 min) at 37 °C (\pm 1 °C) in a humid chamber or sealed with incubation cover foil.
- 5.7. After incubation wash microplate wells again (see 5.4.).
- 5.8. Add 50 µl of TMB-substrate to each well (also A1) and incubate for 30 min (\pm 2 min) at 37 °C (\pm 1 °C) in a humid chamber or sealed with incubation cover foil in the dark. Positive samples turn blue.

5.9. Stop the reaction by adding 100 µl of stop solution to each well (also A1). Positive samples turn yellow.

Clean microplate wells from underneath before the photometric reading and take care that there are no air bubbles in the wells.

The reading should be done within 15 min after adding the Stop Solution!

5.B. TABLE FOR THE TEST PROCEDURE

	Blank (A1)	Negative control	Positive control	Calibrator	Sample
Neg. control	-	50 µl	-	-	-
Pos. control	-	-	50 µl	-	-
Calibrator	-	-	-	50 µl	-
Sample	-	-	-	-	50 µl
Incubate for 60 min at 37°C, wash 3x with 200 µl wash buffer					
Conjugate	-	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)	50/60 µl*)
Incubate for 60 min at 37°C, wash 3x with 200 µl wash buffer					
TMB-substrate	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Incubate for 30 min at 37°C in the dark					
Stop solution	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Photometric reading at 450 nm (ref. 620 - 650 nm)					

*) manual/automatic procedure (see 5.5.)

6.A. CALCULATION OF RESULTES (VALIDITY)

- * Read OD values at 450 nm (reference wavelength 620 - 650 nm).
- * Subtract the OD value of the blank (well A1) from all other OD values.

- * Lot-specific data
The lot-specific data sheet provided with the kit contains the following information:
 - Lot-specific calibration curve
 - Curve parameters a and b
 - Nominal OD value of the calibrator
 - Lower OD limit of the calibrator
 - Nominal concentration range (mIU/ml) of the positive control

- * Validity criteria
 - The OD value of the **negative control** has to be < **0.150**.
 - The unit value of the **positive control** has to be within the nominal range indicated in the lot-specific data sheet.
 - The mean OD value of the **calibrator** has to be above the lower OD limit indicated in the lot-specific data sheet.
 - Additional validity criteria for the detection of serum-CSF pairs see 8.

Repeat the run if the results do not meet the specification!

- * Correction of the results
The measured OD values of the positive control and the samples have to be corrected as follows:

$$OD_{\text{corrected}} = \frac{\text{Nominal OD value of the calibrator}}{\text{Measured OD value of the calibrator}} \times OD_{\text{measured}}$$

- * Quantification of the results
The corresponding concentrations of the corrected OD values in mIU/ml can be read from the lot-specific calibration curve (see lot-specific data sheet).

Alternatively, the concentrations can be calculated using the following formula:

$$\text{Concentration [mIU/ml]} = b / \left(\frac{a}{OD_{\text{corrected}}} - 1 \right)$$

Most of the new ELISA readers allow to program the formula, thus enabling an automated data processing.

The measuring range spans from 160 to 5,000 mIU/ml. Samples above have to be interpreted as > 5,000 mIU/ml. These values must not be extrapolated. The samples have to be retested in higher dilutions.

The cut-off is 180 mIU/ml

Grey zone = 160 - 200 mIU/ml

Attention! Important Note!

Due to the mathematical algorithm of the quantification negative or not defined mIU values can be obtained in the following cases:

- Highly positive samples with corrected OD values $\geq a$ are calculated as negative or not defined mIU values (not allowed division by 0). These samples have to be retested in higher dilutions or have to be interpreted as > 5,000 mIU/ml.

6.B. INTERPRETATION OF RESULTS/LIMITATIONS OF THE METHOD

- * Samples with unit values below the lower limit of the grey zone are reported as **NEGATIVE**.
- * Samples with unit values within the grey zone are reported as **EQUIVOCAL**.

These samples should be retested together with a fresh specimen taken 14 days later in order to determine a titer change.
- * Samples with unit values exceeding the upper limit of the grey zone are reported as **POSITIVE**.
- * The results should always be interpreted in connection with clinical data, the VZV-IgM and -IgA results and additional diagnostic parameters.
- * Cross reactions, caused by antibodies against other Herpes viridae, cannot be excluded in single cases.
- * Very high concentrations of lipids in positive samples can influence the measured concentration of antibodies.
High concentrations of hemoglobin do not influence the test results.

7. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

We determined the following performance characteristics during the diagnostic evaluation.

7.A. SENSITIVITY AND SPECIFICITY

150 sera were measured during the diagnostic evaluation. The results were correlated with the diagnostic characterization of the lab Prof. Dr. Enders and Colleagues, Stuttgart.

The results obtained are shown in the table below:

		Pre-definition Prof. Enders		
		negative	equivocal	positive
VZV-IgG- ELISA PKS medac	negative	49	0	0
	equivocal	0	1	0
	positive	1	0	99

Specificity = 98.0 %
Sensitivity = 100.0 %
Concordance : 99.3 %

7.B. PRECISION

Sample	Intra-assay variation				Sample	Inter-assay variation			
	mean mIU	SD	CV (%)	n		mean mIU	SD	CV (%)	n
PC	323	6.9	2	22	PC	344	12.5	4	11
N° 1	100	7.2	7	22	N° 6	107	4.1	4	11
N° 2	136	4.0	3	22	N° 7	152	8.7	6	11
N° 3	337	12.4	4	22	N° 8	360	9.3	3	11
N° 4	1,170	41.1	4	22	N° 9	1,195	71.6	6	11
N° 5	2,754	108.7	4	22	N° 10	3,107	453.7	15	11

PC = Positive Control

8. DIAGNOSTIC INVESTIGATIONS OF CEREBROSPINAL FLUID (CSF)

The detection of VZV-specific antibody synthesis in the central nervous system (CNS) during the diagnostic investigation of cerebrospinal fluid is an essential part of the differential diagnostic of infections involving the CNS.

Apart from fungi and bacteria, there are numerous viruses that can be responsible for infections with CNS involvement. Furthermore, in chronic diseases such as multiple sclerosis, high antibody indices for measles, rubella and/or Varicella-Zoster are found in about 95 % of all cases.

The identification of VZV-specific intrathecal antibody synthesis is performed by estimation of the antibody index (AI) according to Reiber (Reiber 1987, 1999). In order to calculate the AI the following conditions must be fulfilled:

- estimation of the albumin quotient (Q_{alb}) so as to assess the function of the blood-brain-barrier and to calculate the Limes value in patients with elevated IgG quotients ($Q_{tot} > Q_{lim}$)
- estimation of the total IgG quotient (Q_{tot})

8.1. SPECIMEN

8.1.1. The test is suitable for serum-CSF paired samples.

8.1.2. Pre-treatment of sera and CSF samples, e.g., inactivation, is not necessary. However they should neither be contaminated with microorganisms nor contain any red blood cells.

8.1.3. Serum
In addition to the 1 : 200 dilution for determination of serostatus, the sera are diluted 1 : 1,000 with sample diluent. To calculate the AI, a dilution should be chosen so that its mIU value will lie inside the assay range (see 8.4.). If the mIU values for both dilutions are within this range of 160 - 3,000 mIU, the mIU value of the 1 : 1,000 dilution should be chosen to calculate the AI. If the mIU values for both dilutions are above 3,000 mIU, the sample has to be further diluted.

8.1.4. Cerebrospinal fluid
The CSF samples are diluted to a standard dilution 1 : 5 with sample diluent. If the measured antibody concentration is above the measuring range, the sample has to be further diluted (see 8.4.).

Serum and cerebrospinal fluid have always to be assayed in parallel in the same test run (this also applies to repeat measurements)!

8.2. TEST PROCEDURE

The further test setup for VZV-IgG determination in serum-CSF pairs is performed as described under 5.A.

8.3. DETERMINATION OF TOTAL IgG AND ALBUMIN CONCENTRATIONS

In addition to the VZV-specific IgG determinations, in each sample pair the total IgG concentration and the albumin concentration in serum and CSF have to be determined.

8.4. CALCULATION OF RESULTS/VALIDITY

* Validity

The validity criteria specified under 6.A. are applicable.

Repeat the run if the results do not meet the specification.

The following points also apply to CSF investigations:

- Sera with an antibody content < 160 mIU in a dilution of 1 : 200 are considered as sero-negative. In such cases the antibody index cannot be determined.
- In extremely rare cases, sero-negative patients may have demonstrable intrathecal antibodies because of VZV-associated encephalopathies.
- The assay range for CSF extends from 40 - 3,000 mIU.
- The assay range for sera extends from 160 - 3,000 mIU.
- CSF samples from patients with positive serostatus which at the dilution of 1 : 5 are below the assay range cannot be calculated. In this case an intrathecal VZV-antibody synthesis is unlikely.

* Evaluation

- Calculation of mIU values see 6.A.
- Calculation of the pathogen-specific IgG quotient (Q_{spec}).

$$Q_{\text{spec}} = \frac{\text{mIU CSF} \quad \times \text{dilution CSF}}{\text{mIU serum} \quad \times \text{dilution serum}}$$

- Calculation of the antibody index

The pathogen-specific index is calculated from the formula:

1. $AI = Q_{\text{spec}}/Q_{\text{tot}}$ (for $Q_{\text{tot}} < Q_{\text{lim}}$)
2. $AI = Q_{\text{spec}}/Q_{\text{lim}}$ (for $Q_{\text{tot}} > Q_{\text{lim}}$)
3. $Q_{\text{lim}} = 0.93 \times \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1.7 \times 10^{-3}$

8.5. INTERPRETATION OF RESULTS

- * AI values from 0.6 - 1.3 are regarded as the normal range.
- * AI values > 1.3 and ≤ 1.5 are regarded as borderline.
- * **The abnormal range is defined as $AI > 1.5$.**
- * AI values < 0.6 point to analytical errors and cannot be interpreted.
- * The CSF diagnostic criteria for an acute, active disease of the CNS are raised cell count and a raised albumin quotient. These reflect obstruction to CSF flow due to some inflammatory condition.
- * Elevated antibody indices are not reliable evidence of the acute phase of an infective CNS disease, because antibodies, even intrathecally, may persist for long periods, and because polyspecific CNS-intrinsic antibody synthesis may occur. In some circumstances it may be advisable to look for a significant change in the AI value by testing second paired serum-CSF samples. For this purpose further sample collection will be necessary and should be performed after a time interval chosen in the light of the clinical circumstances.

GENERAL HANDLING ADVICES

- * To avoid cross contamination do not exchange the vials and their screw caps.
- * The reagents have to be sealed immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- * After use, the reagents have to be stored as indicated to guarantee the shelf life.
- * After use, all components of the testkit should be stored in the original package, in order to avoid mixing up the reagents of other test systems or lots (see also 3.).

HEALTH AND SAFETY INFORMATION

- * The local occupational safety and health regulations have to be regarded.
- * Reagents of human origin have been tested and found to be negative for HBsAg, for antibodies to HIV-1/2 and to HCV. Nevertheless, it is strongly recommended that these materials as well as those of animal origin (see kit contents) should be handled as potentially infectious and used with all necessary precautions.

DISPOSAL CONSIDERATIONS

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

REFERENCES

see p. 44

Date of issue: 14.09.2007

VZV-IgG-ELISA PKS medac

Test immuno-enzymatique avec Système de Contrôle de la Distribution des réactifs, destiné à la détection quantitative des anticorps IgG anti - Varicella-Zoster virus (VZV) dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien (LCR)

Cat. no.: 103-PKS

DESTINE UNIQUEMENT AU DIAGNOSTIC IN VITRO

INTRODUCTION

Le virus *Varicella Zoster* appartient à la famille des *Herpesviridae*. Il consiste en un génome à double brin d'ADN, une capside nucléaire, un tégument et une enveloppe. Les infections primaires apparaissent principalement pendant l'enfance (varicelle).

Chez les individus immunocompétents, les symptômes sont souvent modérés. Chez les patients immunosupprimés, l'infection peut causer de sérieuses complications (implication du système nerveux central, pneumonie, infections bactériennes secondaires).

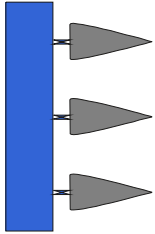
La séroprévalence chez les adultes est d'environ 95 %. Il est caractéristique pour le VZV de persister pendant toute la vie dans les ganglions des nerfs sensoriels de la racine dorsale causant une infection latente des cellules neuronales. Une réactivation endogène du virus peut causer la seconde maladie, l'herpes zoster.

La varicelle peut être évitée par vaccination. Les vaccins disponibles commercialement sont hautement efficaces dans la prévention de la maladie.

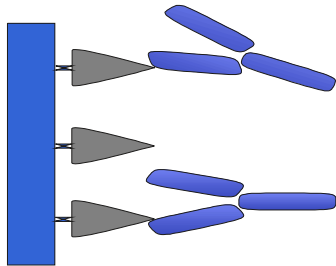
La varicelle et l'herpes zoster sont diagnostiqués par des signes cliniques typiques. L'investigation par le diagnostic de laboratoire peut devenir essentiel dans le cas d'une maladie atypique ou pendant la grossesse. La détection des anticorps anti-VZV est principalement utilisée pour confirmer l'immunité ou le succès de la vaccination. C'est également utile pour la confirmation d'une maladie suspectée à VZV. La détection d'une synthèse d'anticorps VZV spécifique intrathécale dans des paires sérum/liquide céphalo-rachidien est un composant de diagnostic différentiel dans une infection aiguë ou une maladie chronique du système nerveux central.

Le kit VZV-IgG-ELISA PKS medac est un essai pour la détection quantitative des anticorps spécifiques IgG. Par l'utilisation des contrôles du test, qui sont calibrés par rapport à la préparation de référence internationale du WHO, une interprétation du taux des anti-VZV-IgG spécifique est possible. Le test est aussi approprié pour la détection de la synthèse intrathécale d'anticorps spécifiques du pathogène en calculant un index spécifique d'anticorps dans les paires sérum/liquide céphalo-rachidien.

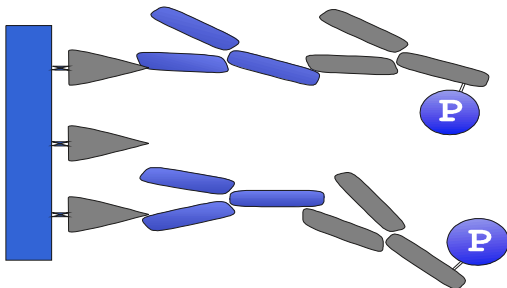
PRINCIPE DU TEST



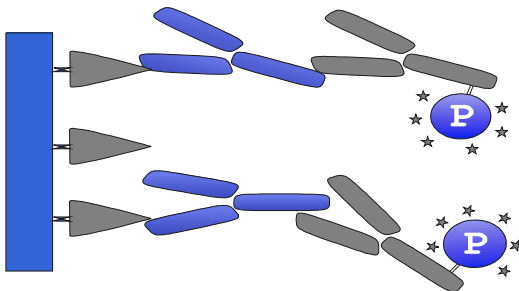
La plaque est recouverte d'antigène VZV.



Les anticorps spécifiques du VZV présents dans l'échantillon se lient à l'antigène.



Le conjugué anti IgG humaines marquées à la peroxydase se fixe sur ces anticorps spécifiques (P = peroxydase).



Incubation avec le TMB-substrat. La réaction est arrêtée par addition d'acide sulfurique. Lecture de l'absorbance.

Avantages du test

- ☞ Le système de contrôle de la distribution des réactifs permet de surveiller chaque étape de pipettage grâce au changement de couleur.
- ☞ Les micropuits sécables permettent une utilisation optimale du test.
- ☞ Automatisation possible sur systèmes EIA ouverts.
- ☞ Quantification en un point, pas de courbe d'étalonnage.
- ☞ Il ne faut pas de calibration supplémentaire pour le diagnostic du LCR.

CONTENU DE LA TROUSSE

RÉF.: 103-PKS

1.

MTP

Microplaque: 12 x 8 puits, de couleur noire (avec support et déshydratant, dans un sachet d'aluminium sous vide), sécables, en forme de U, recouverts d'antigène VZV, de BSA et indicateur de pH, prêts à l'emploi.
2.

CONTROL	-
----------------	----------

Contrôle négatif: 1 flacon de 1,5 ml chacun, contenant du sérum humain, prêt à l'emploi, contient de la BSA, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulfate de gentamicine.
3.

CONTROL	+
----------------	----------

Contrôle positif: 1 flacon de 1,5 ml chacun, contenant du sérum humain, prêt à l'emploi, contient de la BSA, du FCS (sérum fœtal de veau), du phénol, du ProClin™ 300 et du sulfate de gentamicine.
4.

CAL

Calibrateur: 1 flacon de 1,5 ml chacun, contenant du sérum humain, prêt à l'emploi, contient de la BSA, du FCS, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulfate de gentamicine.
5.

WB

Tampon de lavage: 1 flacon de 100 ml, contenant un tampon PBS/Tween (10 x), pH 7,2 - 7,4, contient du ProClin™ 300.
6.

VIR-DIL

Diluant pour échantillons: 1 flacon de 110 ml, PBS/Tween/BSA, pH 7,2 - 7,4, prêt à l'emploi, contient du ProClin™ 300.
7.

CON

Conjugué: 3 flacons de 4,5 ml chacun, contenant une solution d'immunoglobulines de chèvre anti-IgG humaines, conjuguée à de la peroxydase du raifort (HRP), prête à l'emploi, couleur verte, contient de la BSA, du phénol, du ProClin™ 300 et du sulfate de gentamicine.
8.

TMB

TMB-substrat: 1 flacon de 10 ml, prêt à l'emploi.
9.

STOP

Solution d'arrêt: 2 flacons de 11 ml chacun, contenant de l'acide sulfurique 0,5 M (H₂SO₄), prête à l'emploi.

1. CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

Réactif	Etat	Conservation	Stabilité
Coffret	non ouvert	2...8°C	date de péremption inscrite sur le coffret
Microplaque	ouverte	2...8°C dans le sachet, avec déshydratant	6 semaines
Contrôles/ Calibrateur	ouvert	2...8°C	6 semaines
Tampon de lavage	dilué	2...8°C	6 semaines
Diluant pour échantillons	ouvert	2...8°C	6 semaines
Conjugué	ouvert	2...8°C	6 semaines
TMB-substrat	ouvert	2...8°C	6 semaines
Solution d'arrêt	ouvert	2...8°C	date de péremption inscrite sur le coffret

Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption inscrite sur le coffret.

2. REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- 2.1. Eau pour injection (bidistillée). L'utilisation d'eau désionisée peut perturber la procédure du test.
- 2.2. Micropipettes réglables.
- 2.3. Récipients propres en plastique ou en verre pour la dilution du tampon de lavage et des sérums de patients.
- 2.4. Dispositif de lavage des microplaques (par exemple multistepper ou ELISA washer).
- 2.5. Incubateur à 37 °C.
- 2.6. Lecteur de plaque avec filtres à 450 nm et 620 - 650 nm.

3. PREPARATION DES REACTIFS

Avant de commencer la procédure du test, tous les composants du kit doivent être à température ambiante.

Calculer le nombre de puits nécessaire.

3.1. Microplaque

Le sachet en aluminium doit être refermé soigneusement après chaque retrait de puits. La conservation et la stabilité des puits sont indiqués au point 1.

Remarque: Les puits de la microplaque possèdent des reflets verts. Eventuellement apparaissent des traces de couleur vertes ou brunes dans les puits, ceci est dû au procédé de production et n'influence pas les performances du test.

3.2. Tampon de lavage

Mélanger un volume de tampon de lavage(10 X) avec neuf volumes d'eau pour injection (par ex.50 ml de tampon de lavage avec 450 ml d'eau).

10 ml de tampon de lavage dilué sont nécessaires pour huit puits.

Les cristaux dans le tampon de lavage (10 x) doivent être dissous par chauffage (max. 37°C) et/ou agitation à température ambiante.

Ne pas mélanger les réactifs spécifiques du test (microplaque, contrôles, conjugué, calibrateur) de différents lots.

Par contre, le diluant pour échantillons, le tampon de lavage, TMB-substrat et la solution d'arrêt sont interchangeables dans tous les tests virologiques de medac.

Des reactifs d'autres fabricants ne peuvent pas être utilisés.

Des résultats valides et reproductibles sont obtenus uniquement en suivant strictement la procédure d'emploi.

4. ECHANTILLONS

4.1. Le dosage peut être effectué sur le sérum et le LCR (pour la détection dans le LCR, voir point 8).

4.2. Un pré-traitement des échantillons (ex: inactivation) n'est pas nécessaire. Les sérums contaminés par des microorganismes ou contenant des hématies ne doivent pas être utilisés.

4.3. Le sérum est à utiliser dilué au 1/200 dans le diluant pour échantillons. Nous recommandons de préparer une dilution initiale au 1/50 (ex: 10 µl de sérum + 490 µl de diluant). Pour la dilution ultérieure 1 : 4, préparer juste le volume nécessaire. Les échantillons mesurés en dehors de la gamme peuvent être dilués davantage.

4.4. **L'investigation diagnostique dans les paires sérum - LCR est décrite au point 8.**

5.A. MODE OPERATOIRE

- 5.1. Couper le sachet en aluminium au-dessus de la fermeture à glissière et retirer le nombre nécessaire de puits (voir 3.1).

Les puits de la plaque sont prêts à l'emploi, un pré-lavage n'est pas nécessaire.

- 5.2. Laisser la cupule A1 vide pour le blanc (voir 6.A.). Ajouter 50 µl de chaque contrôle négatif, contrôle positif et échantillons dilués en simple et 50 µl de calibrateur en double dans les cupules.

Après pipettage des échantillons (pH neutre ou liquide basique) les puits ont une couleur bleue/verte. L'absence de couleur peut indiquer que le sérum ou le contrôle n'a pas été ajouté.

Si nécessaire, la microplaque peut être conservée jusqu'à 30 min à température ambiante.

- 5.3. Incuber la microplaque pendant 60 min (± 5 min) à 37 °C (± 1 °C), dans une chambre humide ou couvrir la plaque hermétiquement à l'aide d'une feuille adhésive.
- 5.4. Après l'incubation, laver 3 fois la microplaque avec 200 µl de tampon de lavage par cupule. Faire attention que toutes les cupules soient bien remplies. Après le lavage, taper la plaque sur du papier absorbant.

Après les lavages, ne pas laisser sécher les puits, passer immédiatement à l'étape suivante.

- 5.5. Ajouter le conjugué (couleur verte) dans chaque puits (excepté A1).

50 µl de conjugué sont à distribuer dans les cupules si le test est réalisé manuellement.

Remarque:

Quand le test est réalisé avec un automate pour microplaques, 60 µl de conjugué doivent être distribués dans chaque puits à cause de l'évaporation importante dans les chambres d'incubation d'un automate.

L'utilisation du test sur les appareils automatiques a été validée pendant l'évaluation du test. Néanmoins nous recommandons de vérifier la compatibilité du test avec les appareils utilisés dans le laboratoire.

- 5.6. Incuber à nouveau la plaque pendant 60 min (\pm 5 min) à 37 °C (\pm 1 °C), dans une chambre humide ou couvrir la plaque hermétiquement à l'aide d'une feuille adhésive.
- 5.7. Après l'incubation, laver à nouveau 3 fois la microplaque (voir 5.4.).
- 5.8. Ajouter 50 μ l de TMB-substrat dans chaque puits (aussi A1) et incuber 30 min (\pm 2 min) à 37 °C (\pm 1 °C) dans une chambre humide (ou couvrir la plaque hermétiquement à l'aide d'une feuille adhésive dans l'obscurité). Les échantillons positifs virent au bleu.
- 5.9. Arrêter la réaction en ajoutant 100 μ l de solution d'arrêt dans chaque puits (aussi A1). Les échantillons positifs virent au jaune.

Essuyer soigneusement le dessous de la plaque et vérifier l'absence de bulles d'air dans les puits.

Lire à 450 nm (filtre de référence de 620 à 650 nm) dans les 15 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

5.B. TABLEAU DE LA PROCEDURE TECHNIQUE

	Blanc (A1)	Contrôle négatif	Contrôle positif	Calibrateur	Echantillon
Contrôle nég.	-	50 μ l	-	-	-
Contrôle pos.	-	-	50 μ l	-	-
Calibrateur	-	-	-	50 μ l	-
Echantillon	-	-	-	-	50 μ l
Incuber 60 min à 37 °C, lavage 3 x avec 200 μ l tampon de lavage					
Conjugué	-	50/60 μ l*)	50/60 μ l*)	50/60 μ l*)	50/60 μ l*)
Incuber 60 min à 37 °C, lavage 3 x avec 200 μ l tampon de lavage					
TMB-Substrat	50 μ l	50 μ l	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Incuber 30 min à 37 °C dans l'obscurité					
Solution d'arrêt	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
Lecture photométrique à 450 nm (ref. 620 - 650 nm)					

* procédure manuelle/automatique (voir 5.5.)

6.A. CALCUL DES RESULTATS (VALIDITE)

- * La lecture au spectrophotomètre est effectuée à une longueur d'onde de 450 nm (filtre de référence de 620 à 650 nm).
- * La valeur en D.O. du puits blanc réactif (puits A1) doit être soustraite de toutes les autres valeurs de D.O.
- * Données spécifiques à chaque lot
Pour chaque trousse sont fournies des données spécifiques correspondant au lot utilisé :
 - Courbe de calibration spécifique au lot.
 - Paramètres a et b de la courbe.
 - Valeur de DO nominale du calibrateur.
 - DO limite basse du calibrateur.
 - Interval de concentration nominale (mUI/ml) attendu pour le contrôle positif.
- * Critères de validité
 - La DO du **contrôle négatif** doit être **< 0,150**.
 - La valeur du **contrôle positif** doit être comprise dans l'intervalle indiqué sur la feuille de données spécifique au lot utilisé.
 - La moyenne des DO du **calibrateur** doit être supérieure à la limite indiquée sur la feuille de données spécifique au lot utilisé.
 - Les critères de validité supplémentaires pour la détection des paires sérum - LCR, voir point 8.

Refaire la manipulation si les critères de validité ne sont pas respectés!

- * Correction des résultats
Les valeurs des DO mesurées pour le contrôle positif et les échantillons doivent être corrigées selon la formule suivante :

$$DO_{\text{corrigée}} = \frac{\text{Valeur de DO nominale du calibrateur}}{\text{DO mesurée du calibrateur}} \times DO_{\text{mesurée}}$$

- * Quantification des résultats
Les concentrations correspondantes aux valeurs des DO corrigées (en mUI/ml) peuvent être lues sur la courbe de calibration spécifique (voir feuille de données spécifique à chaque lot).

Autrement, les concentrations peuvent-être calculées en utilisant la formule suivante :

$$\text{Concentration [mUI/ml]} = b / \left(\frac{a}{\text{DO}_{\text{corrigée}}} - 1 \right)$$

La programmation de cette formule est réalisable sur la plupart des lecteurs de microplaque permettant un calcul automatique des concentrations.

L'intervalle de mesure est compris entre 160 et 5.000 mUI/ml. Les échantillons trouvés au dessus sont interprétés > 5.000 mUI/ml. Ces valeurs ne peuvent être extrapolées. Ces échantillons peuvent être retestés avec une dilution supérieure.

La valeur seuil est 180 mUI/ml

Zone grise = 160 - 200 mUI/ml

Attention ! Note importante!

Lié à l'algorithme mathématique, une valeur négative ou non interprétable peut être obtenue dans les cas suivants:

- Un échantillon positif fort, avec une valeur de DO corrigée $\geq a$ donne une valeur en mUI négative ou non interprétable (division par 0 impossible). Cet échantillon doit être retesté avec une dilution plus haute ou être interprété > 5.000 mUI/ml.

6.B. INTERPRETATION DES RESULTATS/ LIMITES DE LA METHODE

- * Les échantillons trouvés en-dessous de la zone grise sont rendus **NEGATIFS**.
- * Les échantillons trouvés dans la zone grise sont rendus **DOUTEUX**.
Ces échantillons sont à retester ensemble avec un deuxième prélèvement effectué 14 jours plus tard.
- * Les échantillons trouvés au dessus de la zone grise sont rendus **POSITIFS**.
- * Les résultats seront toujours interprétés en fonction du contexte clinique, des résultats des VZV-IgM et IgA et de la réalisation d'analyses complémentaires.

- * Des réactions croisées, causées par des anticorps dirigés contre d'autres Herpesviridae ne peuvent être exclus dans certains cas.
- * De très hautes concentrations de lipides dans des échantillons positifs peuvent influencer la concentration mesurée des anticorps.

7. CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES

Les résultats des évaluations sont présentés ci-après.

7.A. SENSIBILITE ET SPECIFICITE

150 séra ont été mesurés pendant l'évaluation diagnostique. Les résultats ont été mis en corrélation avec la caractérisation diagnostique du laboratoire du Professeur Enders et Collègues à Stuttgart.

Les résultats obtenus sont présentés sur le tableau ci-après.

		Pré-définition Prof.Enders		
		négatif	limite	positif
VZV-IgG-ELISA PKS medac	négatif	49	0	0
	limite	0	1	0
	positif	1	0	99

Spécificité = 98,0 %

Sensibilité = 100,0 %

Concordance : 99,3 %

7.B. PRECISION

Echan- tillon	Variation Intra-série				Echan- tillon	Variation Inter-série			
	mUI moyenne	SD	CV (%)	n		mUI moyenne	SD	CV (%)	n
PC	323	6,9	2	22	PC	344	12,5	4	11
N° 1	100	7,2	7	22	N° 6	107	4,1	4	11
N° 2	136	4,0	3	22	N° 7	152	8,7	6	11
N° 3	337	12,4	4	22	N° 8	360	9,3	3	11
N° 4	1.170	41,1	4	22	N° 9	1.195	71,6	6	11
N° 5	2.754	108,7	4	22	N°10	3.107	453,7	15	11

PC = Contrôle Positif

8. INVESTIGATIONS DIAGNOSTIQUES DANS LE LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN (LCR)

La détection de la synthèse d'anticorps VZV-spécifiques dans le système nerveux central (SNC) pendant l'investigation diagnostique du liquide céphalo-rachidien est une partie essentielle du diagnostic différentiel des infections impliquant le SNC.

A part les champignons et les bactéries, il y a de nombreux virus qui peuvent être responsables des infections avec implication du SNC. En outre, dans des maladies chroniques comme la sclérose multiple, des hautes concentrations d'anticorps contre la rougeole, la rubéole et/ou la varicelle sont trouvés dans à peu près 95 % des cas.

L'identification de la synthèse intrathécale d'anticorps VZV spécifiques est réalisée par estimation de l'index d'anticorps (AI) selon Reiber (Reiber 1987, 1999). Afin de calculer le AI, les conditions suivantes doivent être remplies:

- Estimation du quotient d'albumine (Q_{alb}) de manière à déterminer la fonction de la barrière sang-cerveau et de calculer la valeur de Lime chez les patients ayant des quotients IgG élevés ($Q_{tot} > Q_{lim}$).
- Estimation du quotient IgG total (Q_{tot}).

8.1. ECHANTILLON

- 8.1.1. Le test convient pour des paires de sérum-LCR.
- 8.1.2. Un pré-traitement du sérum ou du LCR, par exemple une inactivation, n'est pas nécessaire. Cependant ils ne doivent pas être contaminés par des microorganismes ou contenir des globules rouges.
- 8.1.3. Sérum
En plus de la dilution 1 : 200 pour la détermination du status sérique, les séra sont dilués 1 : 1.000 avec le diluant pour échantillon. Pour calculer le AI, une dilution doit être choisie de manière à ce que sa valeur mUI soit située dans la fourchette de mesure (voir 8.4.). Si les valeurs mUI pour les 2 dilutions sont situées entre 160 - 3.000 mUI, la valeur mUI de la dilution 1 : 1.000 doit être choisie pour calculer le AI. Si les valeurs mUI pour les deux dilutions sont au-dessus de 3.000 mUI, l'échantillon doit être plus dilué.
- 8.1.4. Liquide cérebrospinal
Les échantillons de LCR sont dilués à 1 : 5 avec le diluant pour échantillon. Si la concentration en anticorps est au-dessus de la fourchette de mesure, l'échantillon devra être plus dilué (voir 8.4.).

Le sérum et le liquide cérebrospinal doivent toujours être testés en parallèle dans la même série (cela est aussi d'application pour refaire des mesures)!

8.2. PROCEDURE DU TEST

Le test VZV IgG pour les paires sérum - LCR est effectué comme décrit au point 5.A.

8.3. DETERMINATION DES CONCENTRATIONS EN IGG TOTALES ET ALBUMINE

En plus de la détermination des IgG VZV spécifiques, pour chaque paire sérum - LCR, la concentration en IgG totales et en albumine devront être déterminés.

8.4. CALCUL DES RESULTATS/VALIDITE

* Validité

Les critères de validités spécifiés au point 6.A. sont d'application.

Recommencer la série si les résultats n'entrent pas dans les spécifications.

Les points suivants sont aussi applicables pour les études du LCR:

- Les séra ayant une concentration en anticorps < 160 mUI à une dilution de 1 : 200 sont considérés comme négatifs. Dans de tel cas l'index d'anticorps ne peut être déterminé.
- Dans des cas extrêmement rares, des patients séro négatifs peuvent avoir des anticorps intrathécaux à cause d'encéphalopathies associées à la présence de VZV.
- L'interval d'essai pour le LCR s'étend de 40 à 3.000 mUI.
- L'interval d'essai pour les séra s'étend de 160 - 3.000 mUI.
- Les échantillons de LCR de patients, ayant un **sérum positif**, qui à la dilution de 1 : 5 sont en-dessous de l'interval d'essai ne peuvent être calculés. Dans ce cas une synthèse intrathécale d'anticorps VZV est improbable.

* Evaluation

- Calcul des valeurs mUI: voir 6.A.
- Calcul du quotient spécifique IgG pathogène (Q_{spec})

$$Q_{spec} = \frac{mUI\ LCR \times dilution\ LCR}{mUI\ sérum \times dilution\ sérum}$$

- Calcul de l'index d'anticorps

L'index pathogène spécifique est calculé à partir de la formule:

1. $AI = Q_{spec}/Q_{tot}$ (pour $Q_{tot} < Q_{Lim}$)

2. $AI = Q_{spec}/Q_{lim}$ (pour $Q_{tot} > Q_{Lim}$)

3. $Q_{lim} = 0,93 \times \sqrt{Q_{alb}^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1,7 \times 10^{-3}$

8.5. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- * Les valeurs de AI de 0,6 à 1,3 sont considérés comme normales.
- * Les valeurs de AI $> 1,3$ et $\leq 1,5$ sont considérées comme limites.
- * **Les valeurs anormales sont définies comme supérieures à 1,5.**
- * Les valeurs de AI $< 0,6$ sont considérées comme erronées et ne peuvent pas être interprétées.
- * Les critères diagnostiques du LCR pour une maladie aigüe et active du CNS sont une augmentation du comptage cellulaire et un quotient d'albumine augmenté.
Cela reflète l'obstruction du flux du LCR à cause de certaines conditions inflammatoires.
- * Des index d'anticorps élevés ne sont pas une évidence fiable d'une phase aigüe d'une maladie infectieuse du CNS, car les anticorps, même intrathécaux, peuvent persister pendant une longue période et car une synthèse d'anticorps polyspécifiques intrinsèques au CNS peut apparaître. Dans certaines circonstances, il peut être indiqué de chercher un changement significatif dans la valeur du AI en testant une seconde paire sérum - LCR. Dans ce but, d'autres collectes d'échantillons seront nécessaires et devront être réalisées avec un interval de temps choisi à la lumière des circonstances cliniques.

INDICATIONS GENERALES

- * Ne pas échanger les flacons et leurs bouchons pour éviter les contaminations croisées.
- * Les flacons des réactifs doivent être refermés immédiatement après leur utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- * Après emploi, les réactifs doivent être conservés comme indiqué pour garantir leur durée de vie.
- * Après leur utilisation, conserver tous les composants de la trousse dans leur emballage d'origine, afin d'éviter le mélange des réactifs concernant d'autres techniques de dosage ou d'autres lots (voir aussi 3.).

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- * Il faut appliquer la réglementation en vigueur en matière de sécurité et de santé.
- * Les réactifs d'origine humaine ont été dosés et trouvés négatifs en AgHBs, en anticorps anti-HIV-1/2 et anti-VHC. Néanmoins, il est fortement conseillé de manipuler ces produits, ainsi que ceux d'origine animale (voir contenu de la trousse), comme étant potentiellement infectieux et de les utiliser avec les précautions nécessaires.

CONSEIL D'EVACUATION

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'évacuation de ce type de déchets doit se faire selon la réglementation en vigueur. Il faut consulter les organismes agréés pour connaître le moyen de se débarrasser des déchets dangereux.

LITTÉRATURE

voir p. 44

Date de parution: 14.09.2007

LITERATUR/REFERENCES/LITTÉRATURE

de Ory, F. et al.: European seroepidemiology network 2; Standardisation of assays for seroepidemiology of varicella zoster virus. J. Clin. Virol. 36, 111-118 (2006)

Gross, G., Doerr, H. W. (Hrsg.): Herpes Zoster. Monogr. Virol. Vol. 26, 13-19, Karger Basel (2006)

Heininger, U., Seward, J.F.: Varicella. Lancet 368, 1365-1376 (2006)

Mertens, Th., Haller, O., Klenk, H.-D. (Hrsg.): Diagnostik und Therapie von Viruskrankheiten. 289-298, Urban & Fischer Verlag (2004)

Reiber, H., Felgenhauer, K.: Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. Clin Chim Acta, 319-328 (1987)

Reiber, H.: Liquordiagnostik, in: Klinische Neurologie, Berlitz, P. (Hrsg.): Springer Verlag, Heidelberg, 148-177 (1999)

Sauerbrei, A., Wutzler, P.: Herpes simplex and varicella zoster virus infections during pregnancy: current concepts of prevention, diagnosis and therapy. Part 2: Varicella-zoster virus infections. J. Clin. Microbiol. 44 (9), 3094-3097 (2006)

Wutzler, P., Färber, J., Wagenpfeil, S., Bisanz, H., Tischler, A.: Seroprevalence of varicella-zoster virus in the German population. Vaccine 21, 121-124 (2002)