

Indirekter Immunfluoreszenz-Assay auf IgG-Antikörper gegen humanes Herpesvirus 8 (HHV8 latent)

Packungsbeilage



Your Preferred
Autoimmune and
Infectious Disease
Detection Company

100 FORD ROAD
DENVER, NEW JERSEY 07834 U.S.A.
(973) 625-8822 ♦ FAX: (973) 625-8796

CUSTOMER INQUIRIES:
(800) 221-5508

Verwendungszweck

Der indirekte Immunfluoreszenz-Assay (IFA) für IgG-Antikörper gegen das humane Herpesvirus 8 (HHV8 latent) von SCIMEDX Corp. dient zum qualitativen und semi-quantitativen Nachweis von IgG (Immunglobulin G) Antikörpern gegen HHV8 latente Antigene in Humanserum oder Plasma. Der Nachweis von IgG-Antikörpern gegen HHV8 beim Menschen kann als Hilfe bei der Diagnose einer primären Infektion bzw. Reaktivierung/erneuten Infektion mit diesem Virus oder als Nachweis einer zurückliegenden Infektion mit HHV8 dienen.

Einführung und Übersicht über die Testverfahren

Das humane Herpesvirus 8 (HHV8), das auch als Kaposi-Sarkom-Herpesvirus (KSHV) bezeichnet wird, wurde 1994 von Chang in Kaposi-Sarkom-Läsionen identifiziert. Spezifische DNA-Sequenzen, die Abschnitten des Herpesvirus saimiri und Epstein-Barr-Virus sehr ähnlich waren, wurden in allen Formen von Kaposi-Sarkom weltweit entdeckt, unabhängig davon, ob das Kaposi-Sarkom mit einer HIV-Infektion assoziiert ist oder nicht. Das klassische KS ist eine seltene maligne Erkrankung, die bei älteren Männern im Mittelmeerraum auftritt. Bei Patienten mit AIDS ist KS das am häufigsten vorkommende Neoplasma. KS wurde außerdem bei Empfängern von Transplantaten und in bestimmten afrikanischen Populationen beobachtet. HHV8 wurde auch mit Body-Cavity-Lymphom (ebenfalls als Primary-Effusion-Lymphom bezeichnet), Multicentric Castleman Disease (MCD), Non-Hodgkins-Lymphom und Plasmazytom (Kahler-Krankheit) assoziiert. (1–6)

HHV8 wird inzwischen als Gamma-Herpesvirus klassifiziert und gehört zum Genus Rhadinovirus. Es ähnelt in seinem Tropismus für B-Zellen und der Fähigkeit, in einem latenten Zustand zu existieren, dem EBV-Virus. Obwohl von Body-Cavity-Lymphomen angelegte Zellkulturen oft mit HHV8 und EBV koinfiziert sind, sind einige der Kulturen EBV-negativ. Wenn die Zellkulturen latent mit HHV8 infiziert sind, können sie chemisch zur Herstellung eines aktiv replizierenden Virus angeregt werden. Daher haben diese HHV8-Zelllinien, die nicht mit EBV infiziert sind, serologische Studien ermöglicht, bei denen Antikörper gegen verschiedene Virusproteine nachgewiesen werden können, wie z. B. latente Antigene, insbesondere Latenz-assoziierte nukleäre Antigene (LANA) und lytische Antigene, die durch replizierendes Virus exprimiert werden. (7–8)

Serologische Studien haben bewiesen, dass eine Infektion mit HHV8 der Tumorentwicklung des klinischen Kaposi-Sarkoms vorangeht. Studien weisen darauf hin, dass HHV8 sexuell übertragen wird und dass eine Virusinfektion mit HHV8 in der allgemeinen Population nicht so häufig vorkommt wie mit anderen Herpesviren. Verschiedene serologische Tests haben unterschiedliche Prävalenzraten für HHV8-Antikörper in der gesunden Erwachsenenpopulation ergeben, von 4 % bis 25 %. Die Prävalenzraten müssen anhand einer Kombination von Tests, bei denen Antikörper gegen lytische sowie latente Antigene ermittelt werden, und einer Standardisierung von Testsystemen noch genauer bestimmt werden. Wenn sowohl lytische als auch latente Antikörpertests verwendet werden, werden bei fast allen KS-Patienten und ca. 90 % der mit HIV infizierten homosexuellen Männer Antikörper gegen HHV8 nachgewiesen. (9–14)

Der IFA-Test hat sich unter den serologischen Assays als praktische und genaue serologische Methode zum Nachweis und zur Semiquantifizierung von IgG-Antikörpern gegen HHV8 erwiesen. Da Antikörper sowohl gegen lytische als auch latente Antigene nachgewiesen werden müssen, bietet SCIMEDX Corp. zwei indirekte Immunfluoreszenztests zum Nachweis von HHV8-Antikörpern an, mit zwei Arten von Objektträgern zur Differenzierung des Nachweises von Antikörpern gegen lytische und latente Antigene.

Testprinzip

Die Immunfluoreszenz-Antikörpertests von SCIMEDX Corp. verwenden die indirekte Methode zum Nachweis von Antikörpern und zur Titerbestimmung. Patientenserum- oder Plasmaproben werden in Zellkulturen mit inaktivierten Viren-Antigenen gegeben, die sich in farbmarkierten Kavitäten auf Glas-Objektträgern befinden. Während der Inkubationszeit von 30 Minuten bilden für HHV8-Antigene typische Antikörper einen Antigen-/Antikörperkomplex mit den HHV8-Antigenen in den infizierten Zellen. Unspezifische Antikörper und andere freie Serumproteine werden in einem kurzen Waschvorgang entfernt. Fluoreszeinkonjugiertes Antihuman-IgG von der Ziege wird dann in die Kavitäten auf dem Glas-Objektträger gegeben. Das Anti-IgG-Konjugat vermischt sich während der 30-minütigen Inkubationszeit mit Human-IgG (falls vorhanden). Nach einem kurzen Waschvorgang zur Entfernung von freiem Konjugat werden die Objektträger unter einem Fluoreszenzmikroskop betrachtet. Eine positive Antikörperreaktion wird durch leuchtend grüne Fluoreszenz an den Antigenstellen charakterisiert.

Bestandteile des Testkits und Lagerbedingungen

HHV8-latente Antigen-Objektträger: Objektträger mit menschlichen Lymphozyten, die HHV8-latente Antigene exprimieren, auf jeder Glaskavität. Die Objektträger sind gebrauchsfertig, sobald sie aus dem Beutel entfernt werden. Bei 2–8 °C lagern. Bei diesen Lagerbedingungen sind die Objektträger bis zum auf dem Beuteletikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

HHV8 IgG-positive Kontrolle: Jedes Fläschchen enthält 0,5 ml HHV8 IgG-Antikörper-positive Humankontrolle. Diese Komponente ist bei ihrer Gebrauchsverdünnung von 1:64 gebrauchsfertig. Bei 2–8 °C lagern. Bei diesen Lagerbedingungen ist die flüssige positive Kontrolle bis zum auf dem Fläschchenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

HHV8 IgG-negative Kontrolle: Jedes Fläschchen enthält 0,5 ml HHV8 IgG-Antikörper-negative Humankontrolle. Diese Komponente ist bei ihrer Gebrauchsverdünnung von 1:64 gebrauchsfertig. Bei 2–8 °C lagern. Bei diesen Lagerbedingungen ist die flüssige negative Kontrolle bis zum auf dem Fläschchenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Fluoreszeinkonjugat: Jedes Fläschchen enthält 1,5 ml Fluoreszeinkonjugiertes (inaktiviertes) Antihuman-IgG von der Ziege (schwere und leichte Kette) mit Evans Blue- und Rhodamin-Gegenfärbung. Das Fluoreszeinkonjugat ist eine Konjugation aus mithilfe von Affinitätschromatographie gereinigtem Antihuman-IgG und Fluoreszein-Isothiocyanat (FITC). Durch das Hinzufügen von Evans Blue- und Rhodamin-Gegenfärbung zum Konjugat wird die nicht spezifische Fluoreszenz der Gewebekulturzellen maskiert. Diese Komponente ist bei ihrer Gebrauchsverdünnung gebrauchsfertig. Bei 2–8 °C lagern. Bei diesen Lagerbedingungen ist das flüssige Konjugat bis zum auf dem Fläschchenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Deckglas-Eindeckmittel: Jedes Fläschchen enthält 2,0 ml phosphatgepuffertes Glycerol mit Verblassungsschutz. Diese Komponente ist bei ihrer Gebrauchsverdünnung gebrauchsfertig. Lagertemperatur: Kühlschrank bis Zimmertemperatur (2–30 °C). Bei diesen Lagerbedingungen ist das Eindeckmittel bis zum auf dem Fläschchenetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS): Jedes versiegelte aluminiumierte Päckchen mit Pulverpuffer reicht für 1 Liter 1x PBS aus. Lagertemperatur: Kühlschrank bis Zimmertemperatur (2–30 °C). Den gesamten Inhalt eines PBS-Päckchens in 1 Liter frisch zubereitetes destilliertes oder deionisiertes Wasser geben. Hinweis: Schnelles Umrühren beim Hinzugeben der Salze erleichtert die Solubilisierung. PBS-Lösung bei 2–8 °C aufbewahren.

Spezielles Löschpapier: Saugfähiges Löschpapier hat vorgestanzte Löcher zum Trocknen der Objektträgermaske. Lagertemperatur: Kühlschrank bis Zimmertemperatur (2–30 °C).

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

IFA-Testkit: Kein US-Standard für Stärke.

- Alle Komponenten des Kits bei der empfohlenen Lagertemperatur aufbewahren. **Nicht einfrieren.**
- Komponenten nicht verwenden, wenn das Verfallsdatum überschritten ist.
- SCIMEDX Corp. stellt alle aktiven Komponenten in jeder Charge der SCIMEDX IFA-Kits als eine optimierte Einheit zusammen. Komponenten von verschiedenen Chargen oder Quellen dürfen nicht zusammen verwendet werden.
- Die Kontrollen und das Konjugat enthalten 0,095 % Natriumazid, das in Blei- bzw. Kupferleitungen explosive Verbindungen bilden kann, wenn es sich ansammelt. Wenn derartige Stoffe im Abfluss entsorgt werden, gründlich nachspülen.

Antigen-Objektträger: Die Zellen auf allen IFA Antigen-Objektträgern sind fixiert und enthalten kein lebensfähiges infektiöses Material. Gute Laborpraxis (GLP) erfordert jedoch die gleiche umsichtige Handhabung und Entsorgung der Objektträger wie bei allen anderen potenziellen biologischen Gefahrstoffen im Labor.

- Die Objektträger erst kurz vor Gebrauch aus dem Schutzbeutel nehmen.

Humankontrollen: Die Humankontrollen in diesen Kits wurden alle mit von der FDA zugelassenen Methoden auf Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) und auf Antikörper gegen das humane Immunschwächevirus (HIV) getestet und für nicht reaktiv befunden. Kein Testsystem kann jedoch die Abwesenheit dieser Erreger garantieren. Daher sind alle Humanserumkomponenten, einschließlich der Proben, die Ihr Labor zum Testen erhält, als potenzielle biologische Gefahrstoffe zu handhaben.

Xn – gefährlicher Stoff
Sicherheitsvorkehrungen für Kontrollen und Konjugat:
Die Natriumazid-Konzentration in diesen Komponenten ist als gefährlich klassifiziert und unterliegt den folgenden Gefahrenhinweisen: „Gesundheitsschädlich beim Verschlucken“ und „Entwickelt bei Berührung mit Säure hochgiftige Gase“.

Entnahme, Lagerung und Einschränkungen der Testproben

- Das mit aseptischer Technik entnommene Serum oder Plasma von den roten Blutkörperchen trennen und einfrieren (–10 °C oder kälter), bis es getestet wird. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.
- Frische flüssige Serum- oder Plasmaproben können bei Bedarf maximal eine Woche lang bei 2–8 °C aufbewahrt werden, ohne dass die Aktivität der Antikörper beeinträchtigt wird.
- Stark lipämische Proben müssen vor Verwendung delipidiert werden.
- Keine kontaminierten Proben verwenden.
- Serumprobenpaare, mit denen eine Serokonversion bzw. ein signifikanter Titeranstieg nachgewiesen werden soll, sollten in einem Abstand von 7 bis 14 Tagen entnommen, gelagert und dann gleichzeitig getestet werden.

Zusätzlich erforderliche Materialien

- Reagenzgläser, Gestelle, Pipetten, Mikrotiterplatten und Sicherheits-Pipettiervorrichtungen zur Herstellung der Probenverdünnungen.
- Inkubator, 37 °C

- Feuchte Kammer zur Inkubation der Objektträger
- Objektträgergestell und Färbeschale zum Waschen der Objektträger
- Deckgläser: 22 x 50 mm, Glas Stärke 1

Fluoreszenzmikroskop: Ein Fluoreszenzmikroskop mit folgender Ausrüstung wurde zur Kalibrierung von Kontrollen und Konjugat verwendet:

- 10x Okular
- 16x oder 40x Objektiv
- Epi-Illuminator mit 50-W-Halogenlampe
- FITC-Erregerfilter KP490
- Gelb-Absorptionsfilter K530
- Rot-Sperfilter BG38

Die Erregungsspitze der Fluoreszein-Markierung liegt bei 490 nm und die Emissionsspitze bei 520 nm. Unterschiede in Endpunkt-Reaktivität und Fluoreszenz-Intensität können auf Art und Zustand der im jeweiligen Labor verwendeten Fluoreszenzgeräte zurückzuführen sein.

IFA-Verfahren

1. Für einen qualitativen IgG-Antikörper-Nachweis eine Screening-Lösung im Verhältnis 1:64 für jede Probe in phosphorgepufferter Kochsalzlösung herstellen. Alle Verdünnungen in einem Mindestvolumen von 0,10 ml mit phosphorgepufferter Kochsalzlösung als Verdünnungsmittel herstellen.
2. Für eine quantitative Titrierung der Seren eine zweifache Serenverdünnung der Serumprobe in PBS herstellen. Dabei mit einer Verdünnung von 1:64 beginnen und gleiche Mengen an verdünntem Serum oder Plasma und PBS für jede Verdünnung zugeben.
3. Die Objektträger aus dem Schutzbeutel nehmen und 1 Tropfen (ca. 20 µl) der verdünnten Proben in jede Kavität geben. Ausreichend Flüssigkeit zugeben, um alle Kavitäten zu füllen. Der Inhalt der Kavitäten darf sich jedoch nicht vermischen. Hinweis: Der tägliche Testlauf erfordert je eine Kavität für die positive Kontrolle, negative Kontrolle und PBS (Konjugatkontrolle). Die positive und negative Kontrolle repräsentieren Screening-Lösungen im Verhältnis 1:64.
4. Die Objektträger 30 Minuten lang bei 37 °C in einer feuchten Kammer inkubieren.
5. Die Objektträger in einem dünnen Strahl Pufferlösung spülen. Den Strahl nicht direkt auf die Kavitäten richten.
6. Die Objektträger 10 Minuten lang waschen. Dabei die PBS-Lösung nach 5 Minuten wechseln. Die Objektträger mit dem Gestell in der Pufferlösung auf und ab bewegen.
7. Die Farbmaske um die Kavitäten mit dem speziellen Löschpapier abtupfen.
8. Einen Tropfen des gebrauchsfertigen Konjugats in jede Kavität geben.
9. Die Schritte 4 (Inkubation), 5 (PBS-Spülung), 6 (10-minütige PBS-Wäsche) und 7 (Abtupfen) wiederholen.
10. Das Glycerol-Eindeckmittel und das Deckglas (22 x 50 mm) anbringen.
11. Die Reaktivität bei 200–500-facher Vergrößerung unter dem Fluoreszenzmikroskop beobachten. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn die Objektträger direkt nach Abschluss des Tests untersucht werden. Für gleichwertige Ergebnisse die Objektträger versiegelt oder feucht aufbewahren, um den Feuchtigkeitsverlust des Eindeckmittels zu minimieren. Im Dunkeln bei 2–8 °C aufbewahren und innerhalb von 3 Tagen die Ergebnisse ablesen. Eine positive Reaktivität kann durch

eine intensive bis schwache Fluoreszenz gekennzeichnet sein. Die Fluoreszenzreaktion nach der folgenden Intensitätsskala bewerten: 4⁺ (intensiv), 3⁺ (leuchtend), 2⁺ (mäßig), 1⁺ (schwach).

Auswertung der Ergebnisse

- Eine leuchtend grüne fluoreszierende Färbung der infizierten Zellen weist auf eine HHV8 IgG-Antikörper-positive Reaktion hin. Das fluoreszierende Färbemuster für Antikörper gegen latente HHV8-Antigene besteht aus Fluoreszenzpartikeln in den Zellkernen. Zur internen Kontrolle enthält jede Kavität auf dem Objektträger sowohl mit HHV8 infizierte als auch nicht infizierte Zellen. Der Objektträger wird mit Absicht so präpariert. Die nicht infizierten Zellen werden von der Gegenfärbung rot gefärbt und dienen als kontrastierender Hintergrund. Die Infektiosität der Zellen liegt zwischen 50 und 80 %. Die Titrierung positiver HHV8 IgG-Seren liefert quantitative Informationen. In einer Titrierungsserie gilt die höchste Serumverdünnung, bei der eine Reaktion von 1⁺ eintritt, als Endpunkt.
- Die Abwesenheit einer spezifischen fluoreszierenden Färbung der infizierten Zellen weist auf eine negative Reaktion auf HHV8-latente IgG-Antikörper hin.

Bedeutung der Auswertung

1. Keine feststellbare Fluoreszenz der infizierten Zellen mit der Screening-Lösung	1. Probe ist HHV8 IgG-Antikörper-negativ.
2. Spezifische positive Fluoreszenz der infizierten Zellen mit der Screening-Lösung oder bei höheren Verdünnungen	2. Probe ist HHV8 IgG-Antikörper-positiv. Dies weist auf eine zurückliegende HHV8-Infektion hin. Eine Serokonversion bzw. ein mindestens vierfach höherer Anstieg im IgG-Antikörper-Titer bei Serumprobenpaaren weist auf eine kürzlich erfolgte Infektion mit HHV8 hin.
3. Fluoreszenz sowohl bei infizierten als auch nicht infizierten Zellen	3. Die Probe weist eine unspezifische Reaktion auf.

Hinweis: Die Durchführung eines HHV8 IgM-Antikörper-spezifischen Tests unterstützt die Diagnose einer frischen HHV8-Infektion.

Qualitätskontrolle

1. Zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Funktion des Tests mindestens einmal täglich die positive und negative Kontrolle verwenden.
2. Art und Alter des Fluoreszenzmikroskops sowie die Betriebsstunden der UV-Lampe können die Fluoreszenzintensität und die Titrierungs-Endpunkte bis zu einem gewissen Grad beeinflussen. Die in diesem Kit enthaltene HHV8-Antikörper-positive Kontrolle wird in einer Gebrauchsverdünnung abgepackt, die eine Intensitätsreaktion von 2⁺ bis 4⁺ aufweist. Auf dem Fläschchen ist ein Titer angegeben, der als zusätzliche Prüfung für das Testsystem verwendet werden kann (siehe 1⁺ Verdünnungshinweis). Dieser ist als Kalibrator für die 2⁺ to 4⁺ Intensitätsreaktion auf Ihrem Mikroskop zu verwenden.
3. Die im Kit enthaltene HHV8-Antikörper-negative Kontrolle als Kalibrator für eine negative Reaktion mit Ihrer Ausrüstung verwenden.

4. Der tägliche Testlauf sollte eine PBS-Kavität anstelle einer Probe enthalten. Dies ist eine Konjugatkontrolle, mit der gewährleistet wird, dass das Konjugat nicht mit dem Zellsubstrat reagiert.

1⁺ Verdünnungshinweis

Die in diesem Kit enthaltene positive Kontrolle wird in einer Screening-Verdünnung abgepackt, die beim Testen eine Intensitätsreaktion von 2⁺ bis 4⁺ aufweist. Um eine Fluoreszenzintensität von 1⁺ zu erhalten, eine zweifache Verdünnung mit dem Titer herstellen, der auf dem in diesem Kit enthaltenen Fläschchen angegeben ist. Die positive Kontrolle beim ersten Gebrauch des Kits titrieren.

Der beim Test erhaltene Titer kann sich aus mehreren technischen Gründen von der angegebenen Verdünnung unterscheiden. Es ist am besten, den auf dem Fläschchen angegebenen Titer zu verwenden sowie die zweifache Verdünnung direkt vor und nach dem angegebenen Titer. Für einen Endpunkt-Titer (1⁺) erzielte Ergebnisse sind normalerweise für verschiedene Labors unterschiedlich. Dies liegt an Faktoren, die die Fluoreszenzintensität beeinflussen. Diese Faktoren sind u. a.:

1. die Nennleistung der UV-Lichtquelle im Mikroskop
2. die Art der Lichtquelle
3. das Alter der Lampe
4. die Länge des optischen Pfads im Mikroskop und die Art der verwendeten optischen Filter
5. die Genauigkeit der Verdünnungstechniken und die verwendete Ausrüstung

Einschränkungen des Verfahrens

1. Ein serologischer Test wie z. B. ein IFA-Test dient als Hilfe beim Nachweis einer Virusinfektion, sollte jedoch nicht als einziges Kriterium verwendet werden. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit vom Patienten zur Verfügung gestellten Informationen, einer klinischen Beurteilung sowie anderen verfügbaren Diagnoseverfahren zu verwenden.
2. Ein einzelnes positives Ergebnis für HHV8 IgG-Antikörper ist nur insofern signifikant als es auf einen früheren Kontakt bzw. eine Infektion mit dem Virus hinweist. Ein einzelnes Ergebnis ist hilfreich für epidemiologische Zwecke. Es sollte jedoch nicht als Hinweis auf eine frische oder kürzlich erfolgte Infektion mit dem Virus verwendet werden.
3. Unspezifische positive Reaktionen wie z. B. antinukleäre und/oder antizytoplasmatische Antikörperreaktionen können in Proben von Patienten mit bestimmten Autoimmunerkrankungen auftreten. Sowohl infizierte als auch nicht infizierte Zellen fluoreszieren. Dies kann eine positive HHV8-Reaktion verdecken. Daher schließt das Auftreten einer Autoimmunreaktion nicht die Möglichkeit einer HHV8-Infektion aus. Beim Test auf latente Antikörper besteht die Möglichkeit, dass eine positive ANA-Reaktion versehentlich als positiv für latente Antikörper gelesen wird. Ein Vergleich mit der positiven Kontrolle, mit ihrer Partikelreaktion oder das Testen der Probe mit einem spezifischen Test für ANA kann bei der Eliminierung falscher positiver Ergebnisse helfen.

Um eine frische oder kürzlich erfolgte Infektion zu bestimmen, wird ein gleichzeitiger Test von oder Plasma- oder Serumprobenpaaren empfohlen. Die Problem sollten im Abstand von 7 bis 14 Tagen entnommen werden. Ein mindestens vierfacher Titeranstieg zwischen der ersten und zweiten Probe weist auf eine frische oder kürzlich erfolgte Infektion hin.

Referenzwerte

Wenn sowohl lytische als auch latente Antikörpertests verwendet werden, werden bei fast allen KS-Patienten und ca. 90 % der mit HIV infizierten homosexuellen Männer Antikörper gegen HHV8 nachgewiesen. Verschiedene serologische Tests (wie z. B. IFA, ELISA und Immunblot) haben unterschiedliche Prävalenzraten für HHV8-Antikörper in der gesunden Erwachsenenpopulation ergeben, von 4 % bis 25 %. Aufgrund der unterschiedlichen Sensitivität und Spezifität der verschiedenen Immunoassays sind weitere Tests mit einer Standardisierung der Nachweissysteme erforderlich, um die Prävalenzraten zu klären. Eine Seropositivität vor der Pubertät ist selten.

Leistungscharakteristika

Relative Sensitivität und Spezifität

Dieses Kit wurde mit einem im Handel erhältlichen ELISA-Kit zur *In-vitro*-Diagnostik verglichen, um die Unterschiede in Sensitivität und Spezifität zwischen den beiden Tests zu bestimmen. In der Studie wurden 311 Humanserumproben von Patienten mit Kaposi-Sarkom, humanem Herpesvirus 6 und Plasmozytom getestet. Außerdem wurden Seren von gesunden Spendern getestet. Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

SCIMEDX IFA						
	Proben	HHV8-latenter Status	Reaktiv	Nicht reaktiv	Gesamt	
Alternativer ELISA-Test	Kaposi-Sarkom	Reaktiv	86	16	102	
		Nicht reaktiv	0	0		
	Blutspender	Reaktiv	0	1	194	
		Nicht reaktiv	2	191		
	Plasmozytome	Reaktiv	0	0	10	
		Nicht reaktiv	0	10		
	HHV6-positiv	Reaktiv	0	0	5	
		Nicht reaktiv	0	5		
	Gesamt			88	223	311

Serologische Übereinstimmung: = 292/311 = 93,9 %

Reproduzierbarkeit

Vier seropositive Proben mit unterschiedlichen Titern (1:128 bis 1:4096) sowie drei seronegative Proben wurden nacheinander zweifach verdünnt und viermal an zwei verschiedenen Tagen getestet. Der Endpunkt wurde bestimmt. Siebenundzwanzig der achtundzwanzig Endpunkt-Titer lagen innerhalb der Spezifikationen für ± eine zweifache Verdünnung.

Identischer Titer 23/28
± eine zweifache Verdünnung 4/28
± zwei zweifache Verdünnungen 1/28

HHV8-Spezifität

Der IFA-Test für HHV8 latent ist ein spezifischer Test zum Nachweis von Antikörpern gegen HHV8. Vierunddreißig von fünfunddreißig Seren, die positive IgG-Antikörper-Ergebnisse für Zytomegalievirus (CMV), Epstein-Barr-Virus (EBV) oder humanes Herpesvirus 1 (HSV1), humanes Herpesvirus 6 (HHV6) oder Varicella-Zoster-Virus (VZV) bzw. eine beliebige Kombination dieser Viren aufwiesen, erzeugten negative Ergebnisse für HHV8 IgG-Antikörper mit diesem IFA-Test. Die untenstehende Tabelle enthält eine Zusammenfassung der Daten.

Daten zur Kreuzreaktivität: SCIMEDX HHV8 IgG-Test

Art der Erkrankung	Proben gesamt	Positives Ergebnis
CMV	6	1/6
EBV	21	0/21
HSV1	1	0/1
HHV6	6	0/6
VZV	1	0/1
Gesamt	35	1/35

Echtzeitstabilität

Die Echtzeitstabilität der Komponenten des Kits wurde mindestens 24 Monate lang in Abständen von 6 Monaten getestet. Die Endpunkt-Titer der positiven und negativen Kontrollen wurden mit den anfänglichen Endpunkt-Titern verglichen. Akzeptabel sind Endpunkt-Titer innerhalb einer zweifachen Verdünnung voneinander. Diese Ergebnisse lagen innerhalb der Spezifikationen. Siehe folgende Tabelle.

Echtzeitstabilität

Objektträger-Charge	Kontrolle	Anfänglicher Endpunkt-Titer	Endpunkt-Titer nach 24 Monaten
Nr. 1	Positiv	1:512	1:256
	Negativ	–	–
Nr. 2	Positiv	1:512	1:512
	Negativ	–	–
Nr. 3	Positiv	1:512	1:256
	Negativ	–	–

Literaturnachweis

- Chang, Y., E. Cesarman, M.S. Pessin, F. Lee, J. Culpepper, D.M. Knowles, and P.S. Moore.** 1994. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* **265**: 1865–1869.
- Levy, J.A.** 1997. Three new human herpesviruses (HHV6, 7 and 8). *Lancet* **349**: 558–562.
- Beral, V.** 1996. Epidemiology of Kaposi's sarcoma, in *Cancer Surveys*, vol. 10: Cancer, HIV, and AIDS (Beral, V., Jaffe, H.W., Weiss, R., eds) pp5–22. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York.
- Ganem, D.** 1996. Human herpesvirus 8 and the biology of Kaposi's sarcoma. *Virology* **7**: 325–332.
- Luppi, M., and G. Torelli.** 1996. The new lymphotropic herpesviruses (HHV-6, HHV-7, HHV8) and Hepatitis C Virus (HCV) in human lymphoproliferative diseases: an overview. *Haematologica* **81**: 265–281.
- Kim, S., S.H. Kang, J. Moon, M.S. Kim, Y.S. Kim, K. Park.** 1998. Kaposi's sarcoma in renal transplant recipients. *Transplantation proceedings* **30**: 3165.
- Miller, G. M. Rigsby, L. Heston, E. Grogan, R. Sun, C. Metroka, J. Levy, S-J. Gao, Y. Chang, P. Moore.** 1995. Antibodies to butyrate-inducible antigens of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in patients with HIV-1 infection. *New Engl J Med* **334**:1291–1297.
- Lennette, E.T., D.J. Blackbourn, and J.A. Levy.** 1996. Antibodies to human herpesvirus type 8 in the general population and in Kaposi's sarcoma patients. *Lancet* **348**: 858866.
- Blackbourn, D.J., J. Ambroziak, E. Lennette, M. Adams, B. Ramachandran, and J.A. Levy.** 1997. Infectious human





herpesvirus 8 in a healthy North American blood donor. *Lancet* **349**: 609–611.

- Simpson, G.R., T.F. Schultz, D. Whitby, P.M. Cook, C. Boshoff, L. Rainbow, M.R. Howard, S.Gao, R.A. Bohenzky, P. Simmonds, C. Lee, A. de Ruiter, A. Hatzakis, R.S. Tedder, I.V.D Weller, R.A Weiss, and P.S. Moore.** 1996. Prevalence of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus infection measured by antibodies to recombinant capsid protein and latent immunofluorescence antigen. *Lancet* **349**: 1133–38.
- Kedes, D.H., D. Ganem, N. Ameli, P. Baccetti, and R. Greenblatt.** 1997. The prevalence of serum antibody to human herpesvirus 8 (Kaposi Sarcoma-Associated Herpesvirus) among HIV-seropositive and high-risk HIV-seronegative women. *JAMA* **277**: 478–481.
- Kedes, D.H., E. Operskalski, M. Busch, K. Kohn, J. Flood, D. Ganem.** 1996. The seroepidemiology of human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus): distribution of infection in KS risk groups and evidence for sexual transmission. *Nature Med.* **2**: 918–921.
- Martin, J.N., D.Ee. Ganem, D.H. Osmond, K.A. Page-Shafer, D. Macrae, and D.H. Kedes.** 1998. Sexual transmission and the natural history of human herpesvirus 8 infection. *New Engl. J Med.* **338**: 948–54.
- Chatlynne, L.G., W. Lapps, M. Handy, Y.Q. Huang, R. Masood, A.S. Hamilton, J.W. Said, H.P. Koeffler, M.H. Kaplan, A. Friedman-Kien, P.S. Gill, J.E. Whitman, and D.V. Ablashi.** 1998. Detection and titration of human herpesvirus-8 specific antibodies in sera from blood donors, acquired immunodeficiency syndrome patients, and Kaposi's sarcoma patients using a whole virus enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood* **92**: 53–58.

Autorisierte Vertretung

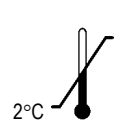
MediMark Europe
11, rue Émile Zola – BP 2332,
F–38033 Grenoble Cedex 2 – Frankreich
Tel.: +33 (0)4 7686 4322
Fax: +33 (0)4 7617 1982


Symbolerklärungen

-  Artikelnummer/Bestellnummer
-  Chargennummer
-  Ausreichend für x Tests
-  Achtung
-  Siehe Gebrauchsanleitung


 Nur zur *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen


 Gebrauchsfertig

 8°C
Bei 2 °C bis 8 °C lagern

 Verwendbar bis/Verfallsdatum


 Autorisierte Vertretung


 Hersteller

 CE-Zeichen gemäß Richtlinie 98/79/EG für *In-vitro*-Diagnostika (IVD)


 Antigen-Objektträger


 Positive Kontrolle


 Negative Kontrolle

 Antihuman-Konjugat mit Gegenfärbung

 PBS-Pulver

 Eindeckmittel, gepuffertes Glycerol

 Löschpapier

 Xn – gefährlicher Stoff. Siehe Sicherheitsdatenblatt.

 Potentielle biologische Gefährdung

 SCIMEDX CORPORATION
100 Ford Road
Denville, NJ 07834 USA
Tel: 800.221.5598 Tel: 973.625.8822
Fax: 973.625.8796
www.scimedx.com

Printed in U.S.A. Rev A 11/24/08 I-HV801G.rev A