

EBV ViraStripe® IgG Test Kit

Stripe-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgG** Antikörpern gegen spezifische **Epstein-Barr Virus** Antigene in humanem Serum.

Der **EBV ViraStripe® IgG Test Kit** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Line/Stripe Format, bei dem folgende aufgereinigte EBV-spezifische Antigene verwendet werden: Virus Capsid Antigene **VCA gp125** sowie **VCA p18**, Nukleäres Antigen **EBNA1** (p76) und Early Antigen **EA-D** (p54).

Testprinzip

EBV-spezifische IgG Antikörper binden während der Seruminkubation an das fixierte Antigen auf dem Teststreifen. Während der Konjugatreaktion bindet das AP-Konjugat an den Antigen-Antikörper-Komplex. Die Alkalische Phosphatase setzt das Chromogen/Substrat um und färbt damit den Antigen-Antikörper-Komplex auf dem Teststreifen lila an. Die Waschschriffe nach der Seruminkubation, der Konjugatinkubation und der Chromogen/Substrat-Inkubation entfernen ungebundene Reagenzien.

Die grüne Trennlinie teilt den Teststreifen in einen Kontrollabschnitt und einen Analytabschnitt. Im Kontrollabschnitt befinden sich die **Negativkontrollbände**, die **Serumkontrolle**, **drei Konjugatkontrollen** (IgG, IgA, IgM) und die **Cut off Kontrolle**.

Der Teststreifencode für die EBV ViraStripe® IgG Teststreifen ist **EG**. Die Teststreifen sind von **01** bis **50** nummeriert. Im Analytabschnitt befinden sich die EBV-spezifischen Antigene.

| | | | |
|-----------------|---------------------------|-----------------|----------------------------|
| Best.-Nr.: | V-EBSGOK | Best.-Nr.: | V-EBSGDK (Deca Kit) |
| Packungsgröße: | 1x 50 Teststreifen | Packungsgröße: | 10x 50 Teststreifen |
| Probenmaterial: | 20 µl Serum | Probenmaterial: | 20 µl Serum |
| Testdauer: | ca. 90 Minuten | Testdauer: | ca. 90 Minuten |

Kitinhalt

| | | |
|-----------------------------|--|-----------------------|
| 1x bzw. 10x 50 Teststreifen | EBV ViraStripe® Antigen Strips (IgG) Teststreifen mit Kontrollabschnitt und EBV-spezifischen Antigenen im Analytabschnitt, gebrauchsfertig | (Prod.-Nr.: V-EBSGAS) |
| 1x bzw. 10x 9 ml | ViraStripe® / ViraBlot® AP-Anti-Human IgG Conjugate Konjugat-Konzentrat, Ziege | (Best.-Nr.: V-UVNGKI) |
| 1x bzw. 10x 100 ml | ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Buffer Proben-/Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach | (Best.-Nr.: V-UVNUWP) |
| 1x bzw. 10x 5 g | ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Powder Proben-/Waschpuffersalz | (Best.-Nr.: V-UVNUMP) |
| 1x bzw. 10x 90 ml | ViraStripe® / ViraBlot® Chromogen / Substrate Solution Chromogen/Substratlösung, gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-UVNUCS) |
| 1 bzw. 10 Exemplare | Auswerteprotokolle EBV ViraStripe® IgG Test Kit | |

Zusätzlich separat lieferbar

| | | |
|--------------|--|-----------------------|
| 330 µl | EBV ViraStripe® IgG Positive Control IgG positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-EBSGPK) |
| 330 µl | EBV ViraStripe® IgG Weak Positive Control IgG schwach positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-EBSGWK) |
| 330 µl | EBV ViraStripe® IgG,A,M Negative Control IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig | (Best.-Nr.: V-EBSPNK) |
| 50 Exemplare | EBV ViraStripe® IgG Auswerteprotokolle für die automatisierte Auswertung mit der ViraScan® Software | (Best.-Nr.: V-EBSUEP) |

Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben

Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-25 °C) bringen. Informationen zur Haltbarkeit finden Sie auf Seite 6.

| | |
|---|---|
| Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung: | Proben-/Waschpuffer-Konzentrat 1:10 in destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen (100 ml Konzentrat + 900 ml Wasser). Anschließend Proben-/Waschpuffersalz komplett zugeben und solange mischen, bis sich das Pulver vollständig aufgelöst hat. Eventuell 10-15 Minuten auf einen Magnetrührer stellen. Der pH-Wert sollte um pH 7,5 bei 20 °C liegen. |
| Teststreifen: | Benötigte Teststreifen vorsichtig mit der Pinzette an der Beschriftung fassen, vom Steg lösen und in die vorbereitete Inkubationswanne legen (Arbeitsvorschrift Punkt 2). Nach Entnahme aus der Verpackung sofort verwenden. Teststreifen nicht mit den Fingern berühren. Nicht benötigte Teststreifen sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8 °C lagern. |
| Patientenproben: | Pro Ansatz werden 20 µl Patientenserum unverdünnt eingesetzt. |
| Kontrollen: | Pro Ansatz werden je 100 µl des positiven Kontrollserums sowie des negativen Kontrollserums unverdünnt eingesetzt. |
| Konjugat-Gebrauchsverdünnung: | Konjugat-Konzentrat 1:10 mit Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung ansetzen (siehe Tabelle 1). Vor jedem Testansatz frisch ansetzen. Nicht aufbewahren. |
| Chromogen/Substratlösung: | Gebrauchsfertig. |

EBV ViraStripe® IgG Test Kit

- 2 -

Herstellung der Konjugat-Gebrauchsverdünnung IgG

| Anzahl Streifen | Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung | Konjugat-Konzentrat | Endvolumen | Anzahl Streifen | Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung | Konjugat-Konzentrat | Endvolumen | | |
|-----------------|---|---------------------|------------|-----------------|---|---------------------|------------|---------|---------|
| 1 | 1,35 ml | + | 0,15 ml | 1,5 ml | 26 | 35,10 ml | + | 3,90 ml | 39,0 ml |
| 2 | 2,70 ml | + | 0,30 ml | 3,0 ml | 27 | 36,45 ml | + | 4,05 ml | 40,5 ml |
| 3 | 4,05 ml | + | 0,45 ml | 4,5 ml | 28 | 37,80 ml | + | 4,20 ml | 42,0 ml |
| 4 | 5,40 ml | + | 0,60 ml | 6,0 ml | 29 | 39,15 ml | + | 4,35 ml | 43,5 ml |
| 5 | 6,75 ml | + | 0,75 ml | 7,5 ml | 30 | 40,50 ml | + | 4,50 ml | 45,0 ml |
| 6 | 8,10 ml | + | 0,90 ml | 9,0 ml | 31 | 41,85 ml | + | 4,65 ml | 46,5 ml |
| 7 | 9,45 ml | + | 1,05 ml | 10,5 ml | 32 | 43,20 ml | + | 4,80 ml | 48,0 ml |
| 8 | 10,80 ml | + | 1,20 ml | 12,0 ml | 33 | 44,55 ml | + | 4,95 ml | 49,5 ml |
| 9 | 12,15 ml | + | 1,35 ml | 13,5 ml | 34 | 45,90 ml | + | 5,10 ml | 51,0 ml |
| 10 | 13,50 ml | + | 1,50 ml | 15,0 ml | 35 | 47,25 ml | + | 5,25 ml | 52,5 ml |
| 11 | 14,85 ml | + | 1,65 ml | 16,5 ml | 36 | 48,60 ml | + | 5,40 ml | 54,0 ml |
| 12 | 16,20 ml | + | 1,80 ml | 18,0 ml | 37 | 49,95 ml | + | 5,55 ml | 55,5 ml |
| 13 | 17,55 ml | + | 1,95 ml | 19,5 ml | 38 | 51,30 ml | + | 5,70 ml | 57,0 ml |
| 14 | 18,90 ml | + | 2,10 ml | 21,0 ml | 39 | 52,65 ml | + | 5,85 ml | 58,5 ml |
| 15 | 20,25 ml | + | 2,25 ml | 22,5 ml | 40 | 54,00 ml | + | 6,00 ml | 60,0 ml |
| 16 | 21,60 ml | + | 2,40 ml | 24,0 ml | 41 | 55,35 ml | + | 6,15 ml | 61,5 ml |
| 17 | 22,95 ml | + | 2,55 ml | 25,5 ml | 42 | 56,70 ml | + | 6,30 ml | 63,0 ml |
| 18 | 24,30 ml | + | 2,70 ml | 27,0 ml | 43 | 58,05 ml | + | 6,45 ml | 64,5 ml |
| 19 | 25,65 ml | + | 2,85 ml | 28,5 ml | 44 | 59,40 ml | + | 6,60 ml | 66,0 ml |
| 20 | 27,00 ml | + | 3,00 ml | 30,0 ml | 45 | 60,75 ml | + | 6,75 ml | 67,5 ml |
| 21 | 28,35 ml | + | 3,15 ml | 31,5 ml | 46 | 62,10 ml | + | 6,90 ml | 69,0 ml |
| 22 | 29,70 ml | + | 3,30 ml | 33,0 ml | 47 | 63,45 ml | + | 7,05 ml | 70,5 ml |
| 23 | 31,05 ml | + | 3,45 ml | 34,5 ml | 48 | 64,80 ml | + | 7,20 ml | 72,0 ml |
| 24 | 32,40 ml | + | 3,60 ml | 36,0 ml | 49 | 66,15 ml | + | 7,35 ml | 73,5 ml |
| 25 | 33,75 ml | + | 3,75 ml | 37,5 ml | 50 | 67,50 ml | + | 7,50 ml | 75,0 ml |

Tabelle 1: Konjugat-Konzentrat 1:10 mit Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung ansetzen

Arbeitsvorschrift

- Inkubationswanne mit jeweils ca. 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung spülen, Puffer abgießen**
Inkubationswanne mit einem wasserunlöslichen Stift beschriften. Das Spülen entfernt Staubpartikel.
 - Die gewünschte Anzahl an Teststreifen in die Inkubationswanne legen - ein Teststreifen pro Rinne**
Pro Patienten- bzw. Kontrollserum je einen Teststreifen vorsichtig mit einer Pinzette an der Beschriftung fassen, vom Steg lösen und in die Inkubationswanne legen. **Die Seite mit der grünen Trennlinie und der Beschriftung muss nach oben weisen.**
 - Je 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben und 5 Minuten bei Raumtemperatur (RT) auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen. Überlaufen vermeiden. **Puffer nicht abgießen.**
 - Je 20 µl Patientenserum bzw. 100 µl Kontrollserum zugeben**
Seren direkt im Bereich der Beschriftung auf dem Teststreifen zugeben. Darauf achten, dass der Schüttler läuft, bzw. die Inkubationswanne nach jeder Serumzugabe schwenken.
 - 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
 - Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklöpfen. **Beim Abgießen bleiben die Teststreifen am Inkubationswannenboden haften.**
 - 3 x waschen:**
- je 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren
- Flüssigkeit abgießen
Auf dem Schüttler. Restliche Flüssigkeit gut auf Filterpapier abklöpfen.
 - Je 1,5 ml frische Konjugat-Gebrauchsverdünnung zugeben**
Darauf achten, dass die Teststreifen vollständig mit Konjugat-Gebrauchsverdünnung bedeckt sind.
 - 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
 - Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklöpfen.
 - 3 x waschen wie in Punkt 7**
Auf dem Schüttler.
 - Je 1,5 ml destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben und 1 Minute bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
 - Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklöpfen.
 - Je 1,5 ml Chromogen/Substratlösung zugeben**
Darauf achten, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind.
 - Bei RT auf dem Schüttler entwickeln**
Sobald die Cut off Kontrolle sichtbar ist, muss die Reaktion abgestoppt werden. **Die Cut off Kontrolle befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen. Achtung:** Zu langes Entwickeln verursacht Hintergrundfärbung.
- EBV ViraStripe® IgG: ca. 5 bis 15 Minuten**
- Stoppen: Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklöpfen.
 - 3 x mit je 1,5 ml dest. oder deionisiertem Wasser spülen**
Ohne Zwischeninkubation.
 - Teststreifen trocknen lassen und auswerten**
Inkubationswanne gut abklöpfen. Teststreifen auf Filterpapier oder saugfähiges, ungebleichtes Papier legen und trocknen lassen.

Auswertung

- Auswerteprotokoll:** Daten in das Auswerteprotokoll aufnehmen. Die entwickelten Teststreifen auf das Auswerteprotokoll kleben. Dabei die grüne Trennlinie der Teststreifen exakt auf die im Protokoll vorgedruckte Trennlinie legen.
- Gültigkeit der Teststreifen:** Ein Teststreifen ist gültig, wenn folgende Banden sichtbar sind:
 - Die **Serumkontrolle** (sc).
 - Die **Konjugatkontrolle** (ccG, ccA, ccM) der untersuchten Konjugatklasse. Falls mehr als eine der drei Konjugatkontrollen auftreten, muss die stärkste Bande der untersuchten Konjugatklasse entsprechen.
 - Die **Cut off Kontrolle** (cc).**und** wenn folgende Bande **nicht** sichtbar ist:
 - Die **Negativkontrollbande** (nc).
 Ungültige Teststreifen nicht auswerten!
- Zuordnung der Antigenbanden:** Die grüne Trennlinie des Teststreifens gibt die Orientierung für die Zuordnung der Antigenbanden zu dem Bandlocator auf dem Auswerteprotokoll an. Banden zuordnen und entsprechend Punkt 4 protokollieren.
- Bandenbewertung:** Entsprechend den Qualitätsrichtlinien im Labor soll pro Testansatz eine Cut off Kontrolle mitgeführt werden (13). **Die Cut off Kontrolle für den EBV ViraStripe® IgG befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen.** Die Intensität der Cut off Kontrolle gibt den Schwellenwert an, ab dem eine Bande gewertet wird:

Eine Bande wird als **deutlich** gewertet, wenn die Intensität **gleich** oder **größer** als die Intensität der Cut off Kontrolle ist. Entsprechende Banden werden im Auswerteprotokoll mit **X** gekennzeichnet.

Eine Bande wird als **schwach** gewertet, wenn die Intensität **kleiner** als die Intensität der Cut off Kontrolle ist. Entsprechende Banden werden im Auswerteprotokoll mit **(X)** gekennzeichnet.

Achtung: Banden, die nur ganz minimal zu erkennen sind, werden nicht gewertet. Eine Bande wird nicht gewertet, wenn sie **nicht vorhanden** ist.
- Beurteilung der Patienten-Proben:** Die Patientenbanden sind als Krankheitssymptome zu werten. Eine endgültige Diagnose sollte immer unter Wertung von Anamnese, Klinik und Labordaten erfolgen. Als **hochspezifisch** für EBV gelten die Banden folgender Antigene: **VCA gp125, VCA p18, EBNA1 (p76) und EA-D (p54).**

IgG Interpretationskriterien

Allgemein gilt: Die Bandenintensitäten werden anhand der Cut off Kontrolle bestimmt. Diese befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen. Deutliche Banden haben eine Intensität \geq der Cut off Kontrolle. Schwache Banden haben eine Intensität $<$ der Cut off Kontrolle.

| Auftretende Banden | Bewertung / Ergebnis | Beurteilung |
|--|----------------------|---|
| Eine deutliche VCA gp125 Bande | Positiv | Spezifische IgG Antikörper gegen VCA gp125 nachweisbar. Je nach Bandenkonstellation ist sowohl eine Primärinfektion als auch eine abgelaufene EBV Infektion möglich. Zur Differenzierung auf EBNA1 IgG Antikörper überprüfen. |
| Eine deutliche EBNA1 Bande | Positiv | Spezifische IgG Antikörper gegen EBNA1 nachweisbar. Eine abgelaufene EBV Infektion ist sehr wahrscheinlich. Auch bei gleichzeitig vorhandenen VCA IgM Antikörpern (VCA gp125 / VCA p18) kann in der Regel eine Primärinfektion ausgeschlossen werden. |
| Eine deutliche EA-D Bande | Positiv | Spezifische IgG Antikörper gegen EA-D nachweisbar. Diese können bei Primärinfektionen zu finden sein, können aber auch bei abgelaufenen Infektionen und Reaktivierungen auftreten. |
| Eine deutliche VCA p18 Bande | Positiv | Spezifische IgG Antikörper gegen VCA p18 nachweisbar. VCA p18 IgG Antikörper gelten als Spätmarker. Bei einer starken Intensität der VCA p18 IgG Bande ist eine abgelaufene EBV Infektion wahrscheinlich. |
| Eine schwache EBNA1 Bande | Grenzwertig | Geringe Mengen an spezifischen IgG Antikörpern gegen EBNA1 nachweisbar. Bei gleichzeitigem Auftreten einer starken VCA p18 IgG Bande ist eine abgelaufene EBV Infektion wahrscheinlich. Bei gleichzeitig positivem VCA gp125 IgM Ergebnis ist eine Primärinfektion wahrscheinlich. Mit einer zweiten Serumprobe nach 2-3 Wochen überprüfen. |
| Mindestens eine schwache Bande aus: VCA gp125, VCA p18 oder EA-D | Grenzwertig | Geringe Mengen an spezifischen IgG Antikörpern gegen VCA gp125, VCA p18 oder EA-D nachweisbar. Je nach Bandenkonstellation ist sowohl eine Primärinfektion als auch eine abgelaufene EBV Infektion möglich. Prüfen, ob EBNA1 IgG Antikörper bzw. VCA IgM Antikörper vorhanden sind. Mit einer zweiten Serumprobe nach 2-3 Wochen überprüfen. |
| Keine Bande(n) | Negativ | Keine spezifischen IgG Antikörper gegen EBV nachweisbar. Bei klinischem Verdacht auf eine Primärinfektion IgM Antikörper und eine zweite Serumprobe nach 2-3 Wochen überprüfen. |

IgG Teststreifen

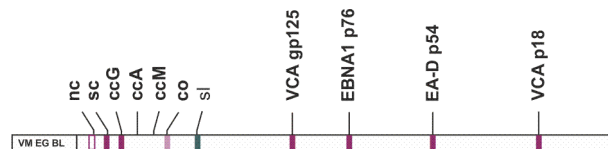


Abbildung 1: Schematische Abbildung eines EBV ViraStripe® IgG in Originalgröße.

Nomenklatur und Beschreibung der EBV Banden aus der Literatur

| Antigen: | Bemerkungen: |
|------------------|---|
| VCA gp125 | Natives Virales Capsid Antigen / Glycoprotein 125 |
| EBNA1 p76 | EBV nukleäres Antigen 1 / Protein 76 |
| EA-D p54 | Early D Antigen / Protein 54 |
| VCA p18 | Virales Capsid Antigen / Protein 18 |

Diagnostische Bedeutung von EBV Antikörpern

VCA IgG: IgG Antikörper gegen VCA weisen auf eine EBV Infektion hin. IgG Antikörper gegen **VCA gp125** sind bei einer Primärinfektion meist schon bei Auftreten der klinischen Symptome nachweisbar. Sie steigen dann über mehrere Wochen an und sinken anschließend auf niedrigere Titer ab, die lebenslang persistieren. IgG Antikörper gegen **VCA p18** hingegen gelten als Spätmarker. Sie werden zeitlich etwas verzögert gebildet und deuten bei starker Reaktivität auf eine abgelaufene Infektion hin (14).

Eine Unterscheidung zwischen Primärinfektion und abgelaufener EBV Infektion wird zunächst über das EBNA1 IgG Ergebnis getroffen. Bei negativem EBNA1 IgG (z.B. sekundärer EBNA1-Verlust) und negativem VCA gp125 IgM Ergebnis deutet ein stark positives VCA p18 IgG Ergebnis auf eine abgelaufene EBV Infektion hin (Ausschluss einer Primärinfektion) (1,2,3).

EBNA1 IgG: IgG Antikörper gegen EBNA1 treten ca. 6-10 Wochen nach Primärinfektion erstmals auf und persistieren lebenslang. Der Nachweis von IgG Antikörpern gegen EBNA1 weist auf eine abgelaufene Infektion hin schließt eine Primärinfektion aus (14).

Bei Immunsupprimierten kann es trotz abgelaufener EBV Infektion zu sekundärem EBNA1-Verlust kommen (1,2). Außerdem bilden ca. 5 % der gesunden Bevölkerung nach einer EBV Infektion keine IgG Antikörper gegen EBNA1. In diesen Fällen kann die Unterscheidung zwischen Primärinfektion und abgelaufener Infektion über den IgG Spätmarker VCA p18 erfolgen. Eine starke Reaktivität dieser Bande deutet auf eine abgelaufene EBV Infektion hin (Ausschluss einer Primärinfektion) (1,2,3).

EA-D IgG: IgG Antikörper gegen EA-D treten bei einer Primärinfektion bei bis zu 80% der Patienten ca. 8-10 Tage nach Beginn der klinischen Symptome erstmals auf und fallen in der Regel nach 3-6 Monaten unter die Nachweisgrenze ab

(16). Jedoch können IgG Antikörper gegen EA-D auch bei gesunden Personen mit einer abgelaufenen EBV Infektion mit hohen Titern persistieren (11,12,14). In einigen Fällen einer Primärinfektion kann eine isolierte EA-D IgG Antikörperreaktion beobachtet werden. IgG Antikörper gegen EA-D können bei Reaktivierungen erneut gebildet werden und werden auch bei Nasopharynxkarzinomen beobachtet (1,2,9,10).

VCA IgM: IgM Antikörper gegen **VCA gp125** treten zu 90% bei Primärinfektionen auf, meist gleichzeitig, manchmal sogar etwas verzögert mit IgG Antikörpern gegen VCA (15). Sie steigen in der Regel nach Infektionen innerhalb weniger Wochen steil an und fallen meist nach ca. 8-10 Wochen unter die Nachweisgrenze, können jedoch in einzelnen Fällen bis zu Monaten oder Jahren persistieren (15). Bei Reaktivierung können IgM Antikörper gegen VCA erneut auftreten (1,2,3).

IgM Antikörper gegen **VCA p18** treten bei Primärinfektionen auf. Ihr Titer bleibt gegenüber dem Titer von VCA gp125 IgM Antikörpern länger erhalten und sinkt in der Regel erst nach Bildung von IgG Antikörpern gegen EBNA1 ab.

EBNA1 IgM: Die klinische Bedeutung von IgM Antikörpern gegen EBNA1 ist nicht hinreichend gesichert und wird daher für die Interpretation nicht berücksichtigt.

EA-D IgM: Das Auftreten von IgM Antikörpern gegen EA-D wird in einigen Fällen bei Primärinfektionen beschrieben (8).

VCA IgA: IgA Antikörper gegen VCA treten häufig bei Patienten mit einer Primärinfektion, meist gleichzeitig mit IgG und IgM Antikörpern gegen VCA auf. Bei Patienten mit Nasopharynxkarzinom sind IgA Antikörper gegen VCA mit sehr hohen Titern nachweisbar (3,4,6,7).

EA-D IgA: IgA Antikörper gegen EA-D werden bei Patienten mit Nasopharynxkarzinom beobachtet und besitzen große Bedeutung bei der Früherkennung des Tumors (5,6,7).

IgG Leistungsdaten

Sensitivität und Spezifität

Die Evaluation des **EBV ViraStripe®** erfolgte über ein Serumpanel von 178 Seren. Das Panel setzt sich zusammen aus 140 Seren von gesunden Blutspendern und 38 Seren von Patienten mit bestätigten frischen Infektionen und Reaktivierungen. Diese Seren wurden über alle verfügbaren serologischen Standardmethoden vorcharakterisiert: Vollantigen-Westernblot, IFT und Elisa.

| EBNA1 IgG | Referenzteste | | Positiv | Negativ |
|-----------|-----------------|----------|------------|----------|
| | EBV ViraStripe® | | | |
| | Positiv | | 138 | 4 |
| Negativ | | 1 | 35 | |

EBNA1 IgG: Sensitivität: **99,3 %**
Spezifität: **89,7 %**

| VCA IgG | Referenzteste | | Positiv | Negativ |
|---------|-----------------|----------|------------|----------|
| | EBV ViraStripe® | | | |
| | Positiv | | 156 | 2 |
| Negativ | | 5 | 15 | |

VCA IgG: Sensitivität: **96,9 %**
Spezifität: **88,2 %**

| EA-D IgG | Referenzteste | | Positiv | Negativ |
|----------|-----------------|----------|------------|----------|
| | EBV ViraStripe® | | | |
| | Positiv | | 35 | 1 |
| Negativ | | 3 | 139 | |

EA-D IgG: Sensitivität: **92,1 %**
Spezifität: **99,3 %**

Vorsichtsmaßnahmen / Sicherheitsvorkehrungen

- Alle humanen Serumkomponenten wurden auf HCV-, HIV1,2-Antikörper und HBS-Antigen untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kitkomponenten, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös betrachtet und mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen verwendet werden. Bei Arbeiten mit potentiell gefährlichen oder infektiösen Materialien sind die entsprechenden nationalen/internationalen Gesetze, Verordnungen und Vorschriften zu beachten. Dies gilt ebenfalls für die Lagerung und Entsorgung der verwendeten Chemikalien und Reagenzien.
- Die Schutzmaßnahmen für das Arbeiten mit Gefahr- und Biostoffen sind gemäß den aktuell gültigen länderspezifischen Richtlinien für Laboratorien zu beachten. Allgemein sollten beim Umgang mit biologischen und chemischen Arbeitsstoffen die Richtlinien zur „Guten Laborpraxis (GLP)“ angewendet werden. Allgemeine Hygienemaßnahmen sind unter anderem:
 - Nicht mit dem Mund pipettieren.
 - Einweg-Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
 - Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken oder rauchen.

- Die Chromogen/Substratlösung enthält BCIP und NBT. Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Bei Berührung mit Haut und Augen sofort mit viel Wasser nachwaschen.
- Proben und alle möglicherweise kontaminierten Materialien sowie flüssige infektiöse Abfälle sind gemäß allgemein anerkannter Labortechniken zu dekontaminieren, z.B. durch ein mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121 °C bei feuchter Hitze. Zur Entsorgung flüssiger Abfälle können diese z.B. mit Natriumhypochlorit in einem Volumenverhältnis gemischt werden, so dass das Endgemisch 1% Natriumhypochlorit enthält. Zur vollständigen Desinfektion 30 Minuten einwirken lassen.
- Bitte beachten Sie die Angaben in den Sicherheitsdatenblättern über mögliche Gefahren, Erste-Hilfe-Maßnahmen, Maßnahmen bei unbeabsichtigter Freisetzung von größeren Mengen, Handhabung und Lagerung, persönliche Schutzausrüstung, Hinweise zur Entsorgung sowie Angaben zur Toxikologie.

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

- Teststreifen:** Verschlossen in der Originalverpackung bei 2-8 °C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Konjugat-Konzentrat:** Bei 2-8 °C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Konjugat-Gebrauchsverdünnung:** Vor jedem Testansatz frisch ansetzen. Nicht aufbewahren.
- Proben-/Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach:** Bei 2-8 °C haltbar bis zum Verfallsdatum.

- Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** Bei 2-8 °C ca. 2 Wochen haltbar. Bei längerer Aufbewahrung kann die Gebrauchsverdünnung aliquotiert bei -20 °C eingefroren werden.
- Proben-/Waschpuffersalz:** Bei 2-8 °C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Chromogen/Substratlösung:** Bei 2-8 °C haltbar bis zum Verfallsdatum. Vor Lichteinfall schützen!

Hinweise zum Probenmaterial

- Der **EBV ViraStripe® IgG Test Kit** ist mit Serum als Probenmaterial durchzuführen.
- Es sind nur klare, nicht-hämolytierte und nicht mikrobiell kontaminierte Proben zu verwenden.
- Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu falschen Ergebnissen führen.

- In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8 °C aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung sind die Proben in Aliquots bei -20 °C (oder kälter) einzufrieren.
- Vor Beginn der Testdurchführung sollten die Proben auf Raumtemperatur gebracht werden. Proben nach dem Auftauen vorsichtig mischen und bei Bedarf sichtbare Partikel durch Zentrifugation entfernen.
- Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Einschränkungen des Verfahrens

- Um ein exaktes Testergebnis zu erhalten, müssen die Gebrauchsanweisung und „Good Laboratory Practice“ genau eingehalten werden.
- Ein positives Testergebnis wird aufgrund erhöhter spezifischer Antikörpertiter erreicht und ist wie ein Symptom zu werten. Der Rückschluss auf eine Infektion ist nur bedingt möglich.

- Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.
- Dieser Test ist nur durchzuführen von Fachpersonal, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde.
- Der Nachweis von spezifischen Antikörpern kann bei Untersuchungen

EBV ViraStripe® IgG Test Kit

- 6 -

mit verschiedenen Testen bzw. von verschiedenen Herstellern aufgrund von unterschiedlichen Sensitivitäten, Spezifitäten und Testmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.

6. Teststreifen mit extrem starkem Hintergrund sind nicht auszuwerten, vor allem wenn Banden heller als der Hintergrund erscheinen.









7. *In vitro*-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.

8. Gründliches Waschen ist essentiell für exakte Testergebnisse. Unge-
nügendes Waschen kann falsche Ergebnisse verursachen.

Literatur

1. BAUER, G.; Internist 33: 586-592 (1992)
2. BAUER, G.; MTA 10, 6 (1995)
3. BAUER, G.; Clin. Lab. 41, 623-634 (1995)
4. HENLE, W. et al.: Virusdiagnostik für Klinik und Praxis, Hersg., H: 39-46 (1979)
5. DÖLKEN et al.: DMW 109, 48 (1984)
6. MODROW, S. et al.: Molekulare Virologie; Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag (1997)
7. ZUH, X. et al.: Int J Cancer 37:689 - 691 (1986)
8. GORGIEVSKI-HRISOHO, M. et al.: J. of Clin. Microbiol. 28, 10 (1990)
9. NILLER, H. H. et al.: Diagnost. Bibliothek Nr. 6/7 (1992)
10. HARMS, E. et al.: Dt. Ärzteblatt: A - 436 - 441 [Heft 1] (1995)
11. THOMAS, L.: 2008, Labor und Diagnose, Med. Verlagsgesellschaft Marburg
12. ENDERS, G.: Labormedizin 10: 350 (1986)
13. RILI-BÄK: Bäk-Richtlinie zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen, (01.04.2008), www.bundesaeztekammer.de
14. BAUER, G. Clin. Lab. 47, 223-230 (2001)
15. SCHILLINGER, M.: Med. Microbiol. Letters 2, 296-303 (1993)
16. CDC National Center for Infectious Diseases: Epstein-Barr Virus and Infectious Mononucleosis (2010) <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/ebv.htm>

Symbolerklärungen

| | | | |
|---|------------------------------|---|---|
|  | Hersteller | REF | Bestellnummer |
|  | Gebrauchsanweisung beachten |  | Verwendbar bis / Mindesthaltbarkeitsdatum |
| IVD | <i>In-Vitro</i> Diagnostikum |  | Temperaturbegrenzung (Lagerung) |
| LOT | Testkit-Chargen-Nummer | CONTROL+ | Positive Serumkontrolle |
|  | Ausreichend für 50 Ansätze | CONTROL- | Negative Serumkontrolle |
|  | Raumtemperatur in °C | CONTROL | Kontrolle |
|  | Bearbeiter | DATE | Datum |
| # | Probennummer |  SUBSTRATE | Chromogen/Substratentwicklungszeit in Minuten |
| PROTOCOL | Auswerteprotokoll | No | Protokollnummer |