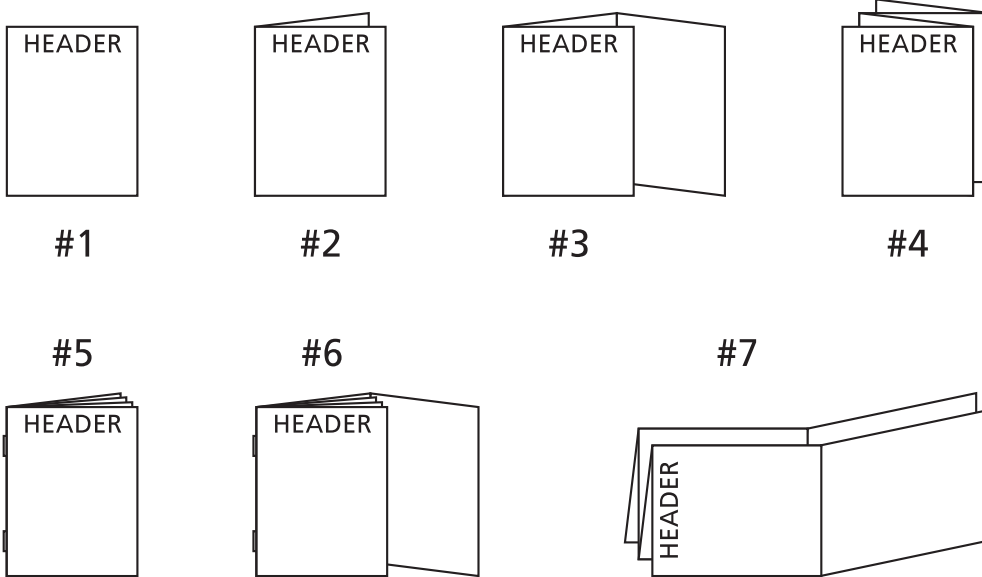



Rev From	Rev To	ECO #	Date	Appr.
0999	0403	1405-03		

Notes

- BD Cat. No. 254201, 254126
- Blank (Sheet) Size : Length: N/A Width: N/A
 Number of Pages: N/A Number of Sheets: N/A
 Page Size: Length N/A Width N/A Final Folded Size: N/A
- Style (see illustrations below): N/A



- See Specification Control No. 0240591 for Material Information
- Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS#
- Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	 Becton, Dickinson and Company 250 Schilling Circle Cockeysville, MD. 21030-0243 USA
Proofer	Date		
Checked By	Date		
Part Number:	0240591	Category and Description	Sheet: 1 of 41
		Package Insert VZVscan	Scale:
			A



Varicella-zoster Virus Antibody Card Test

For the Qualitative or Quantitative Determination of *Varicella-zoster* Virus Antibodies in Human Serum



0240591
2003/04

English: pages 1 – 8 Italiano: pagine 23 – 30
Français: pages 9 – 16 Español: páginas 31 – 38
Deutsch: Seiten 16 – 23

See symbol glossary at end of insert. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage. / Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio illustrativo. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto.

INTENDED USE

The VZVscan™ (Varicella-zoster Virus) Antibody Card Test is a qualitative and quantitative latex agglutination assay which utilizes polystyrene particles sensitized with partially purified, attenuated varicella-zoster virus (VZV) antigens for the detection of total VZV antibodies in human serum.

SUMMARY AND EXPLANATION

Varicella-zoster virus is the etiologic agent of chickenpox (varicella) and shingles (herpes zoster). While varicella is second only to gonorrhea in incidence among reported diseases in the United States, the current role of serological diagnosis is to determine the immune status of susceptible individuals in high risk groups, such as immunocompromised patients, hospital employees, transplant recipients and pregnant women. Additionally, antibody identification can be used to help differentiate the vesiculopapular lesions produced by other diseases, including herpes simplex virus, rickettsial pox and secondary syphilis, among others. With varicella-zoster virus vaccines currently under evaluation, general antibody screening may increase in importance.

Varicella is usually a benign disease of childhood. It is characterized by an incubation period of 10 to 21 days (average 14 days), 1 to 2 days of viral shedding, followed by generalized eruptions of individual maculopapules rapidly becoming vesicles that may continue to appear for 4 to 5 days. Patients above 20 years of age and, to a lesser extent, those below one year of age are at increased risk of complications. IgG-specific antibodies are detectable within 4 to 5 days after the onset of symptoms, and typically are present throughout life. Therefore, a single serum sample may be assayed as positive or negative for VZV antibody as an indication of previous exposure to the virus. ANTIBODIES ARE NOT 100% PROTECTIVE AND SECONDARY INFECTIONS CAN OCCUR, ALTHOUGH RARELY.¹ (See "Limitations of the Procedure"). However, like other herpes viruses, a permanent reservoir exists in the sensory nerve ganglia and recrudescence of the primary infection may occur in the elderly or otherwise immune suppressed. This is most commonly manifest as herpes zoster (shingles), an extremely painful vesicular eruption usually limited to one or two dermatomes occurring during the lifetime of 10 – 20% of individuals. In the severely immune compromised, the virus can disseminate, producing a widespread cutaneous syndrome, pneumonitis or encephalitis. While cluster cases of zoster infections suggest that reinfection may occur,² the increased use of immunosuppressive therapies which disrupt the dormant state of the virus contributes to the increasing rate of incidence. Post herpetic neuralgia may be severe and debilitating.

In both varicella and zoster, inapparent infections may be accompanied by a rise in antibody titer.³ In a serological study of children with no history of past disease, antibody to VZV was demonstrated in one-third of the subjects.⁴ Therefore, elicitation of a history of clinical symptoms does not necessarily accompany either a positive screen or a rise in antibody titer.

Therapies available for infection include acyclovir, alpha interferon and zoster immune globulin (ZIG). The use of ZIG as a preventative measure in children at high risk – specifically those with leukemia or lymphoma, immunodeficiency syndromes, or undergoing immunosuppressive therapy – may result in protection, subclinical infection, or occasional severe illness.⁴ It appears that the period between exposure and treatment is critical.⁵

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The VZVscan Card Test follows the established principles of latex agglutination and employs polystyrene latex particles coated with VZV antigens. When this reagent is mixed with human serum that contains antibodies to VZV, a reaction occurs that produces visible agglutination (clumping) on the test card surface. The assay is read macroscopically without the aid of mechanical devices. In the absence of VZV-specific antibodies, no agglutination occurs and a smooth, milky appearance is observed.

The VZVscan test may be utilized to screen serum samples as positive or negative for varicella-zoster virus antibodies, or serial two-fold dilutions may be performed to obtain a titer of relative antibody level.

REAGENTS

- Reagent A,** VZVscan Latex Antigen, polystyrene particles sensitized with partially purified, inactivated varicella-zoster antigen, with 0.2% sodium azide and 0.025% gentamicin in a glycine buffer.
- Reagent B,** VZVscan Card Dilution Buffer, glycine buffer containing 0.1% sodium azide and 0.025% gentamicin.
- Control ++,** VZVscan High Reactive Control (human serum), containing varicella-zoster virus antibodies.
- Control +,** VZVscan Low Reactive Control (human serum), containing varicella-zoster virus antibodies.
- Control –,** VZVscan Nonreactive Control (human serum), nonreactive to varicella-zoster virus antibodies; all controls with 0.1% sodium azide.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

After review by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC), and the U.S. Food and Drug Administration (FDA) under CLIA '88, this product has been identified as moderate complexity.

Reagents: Do not use beyond the expiration date. Upon removal from refrigeration, allow reagents to warm to room temperature (23 to 29°C) before use. DO NOT mix reagents from different kit lot numbers.

To ensure proper drop delivery when dispensing **VZVscan Reagent A**, the dispensing bottle must be held vertically.

Reagent A has been prepared from disrupted vaccine strain virus which has been judged to be inactivated by bioassay procedures.

The serum controls are derived from human blood tested by an FDA-approved method for the presence of the antibody to HIV (Human Immunodeficiency Virus) and HBsAg (hepatitis B surface antigen) and found to be non-reactive.

Warning: Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"⁶⁻⁹ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.

Warning: Reagents contain sodium azide. Very toxic by inhalation, in contact with skin, and if swallowed. Contact with acids liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azides may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Test Cards: Cards must be flat for proper reactions. If necessary, flatten cards by bowing back in a direction opposite to that of the curl. Care should be taken not to finger-mark the test areas, since this may result in an oily deposit and improper test results. Use each card once and discard. Store cards in the original package in a dry area at room temperature.

Reading of Test Results: Prior to reading, a brief hand rotation of the card must be made following the mechanical rotation. Results should be read promptly under a high intensity incandescent lamp holding the card at least six inches from the light source. Fluorescent lighting is generally insufficient to distinguish minimally reactive results. The use of magnification in reading test results is not recommended.

Rotation: The recommended mechanical rotation speed is 100 ± 2 rpm, but rotation between 95 and 110 rpm does not significantly affect the results obtained. The rotator should circumscribe a circle approximately two centimeters in diameter in the horizontal plane. A moistened humidifying cover should be used to prevent drying of test specimens during rotation.

Storage of Reagents: Refrigerate at 2 to 8°C. DO NOT FREEZE. Heating reagents beyond 32°C and freezing temperatures will invalidate the reactivity of the test. Reagents should be recapped and returned to refrigeration when not in use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Whole blood should be collected by venipuncture and separated from serum without the use of anticoagulants. The use of plasma has not been established. Heat inactivation of the serum does not adversely affect the performance of the test. Specimens with obvious microbial contamination should not be used; however, lipemia or hemolysis does not affect the performance of the test. The sera may be stored up to 48 h at 2 to 8°C, but should be frozen in a non-self defrosting freezer if longer storage is desired.

When using the VZVscan test in evaluating active infection, the first serum should be obtained as soon as possible after the onset of illness and a convalescent serum obtained 10 to 14 days later. Both acute and convalescent samples should be assayed at the same time.

No special preparation of the patient is required prior to specimen collection.

PROCEDURES

Review "Precautions" and "Specimen Collection and Preparation" prior to performing procedures. The testing area, reagents, test specimens and test components should be at room temperature (23 to 29°C) when used.

Materials Provided:	No. 254126 (30 Tests)	No. 254201 (100 Tests)
Reagent A, VZVscan Latex Antigen,	0.5 mL	1.6 mL
Reagent B, VZVscan Card Dilution Buffer,	5.0 mL	20.0 mL
Control ++, VZVscan High Reactive Control (human serum),	0.5 mL	0.5 mL
Control +, VZVscan Low Reactive Control (human serum),	0.5 mL	0.5 mL
Control -, VZVscan Nonreactive Control (human serum),	0.5 mL	0.5 mL
Test Cards, and test disposables and accessories.	5	8

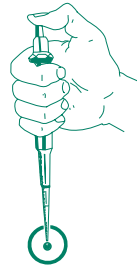
Materials Required But Not Provided: Rotator with humidifying cover, micropipettor, 25 µL delivery, centrifuge, and high intensity incandescent lamp.

Also required are the necessary equipment and labware used for preparation, storage and handling of serologic specimens.

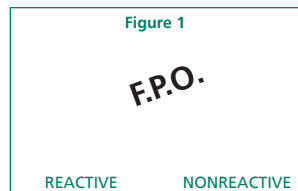
Qualitative Screening Procedure

The following procedure may be used to screen patients' sera as reactive or nonreactive for VZV antibodies, and to test the reactivity of the VZVscan Latex **Reagent A** utilizing the accompanying reactive and nonreactive control sera.

- Dilution of serum samples
 - With a micropipettor, place 25 µL of **Reagent B** onto a test circle.
 - Using the same micropipettor with a new tip, place 25 µL of the **Control +**, **Control -**, or the patient serum into **Reagent B** in the appropriate circle and mix by drawing up and down with the micropipettor 7 times. A new tip must be used with each serum sample.
 - Withdraw 25 µL of this mixture and discard. The serum in the circle is now a 1:2 dilution.
 - Repeat steps "a" through "c" for each sample being tested.
- Using a new plastic stirrer for each serum sample, spread the diluted serum to fill the entire circle.
- Mix **Reagent A** by gently inverting the bottle several times. Holding in a vertical position, dispense 1 free-falling drop onto each test circle containing diluted serum.
- Hand rotate the card 3 or 4 times back and forth to distribute the latex throughout each circle. Avoid cross contamination of test areas in adjacent circles.
- Place the card on a rotator and rotate for 10 min under a moistened humidifying cover.
- Immediately following mechanical rotation, read the card macroscopically in the wet state under a high intensity incandescent lamp. Gently tilt the card (3 or 4 back-and-forth motions) to help differentiate weak agglutination from no agglutination.
- The Reactive Control should show agglutination, while the Nonreactive Control should show no agglutination (Figure 1).



Report as Positive:
 Reactive-----Showing any agglutination of the VZVscan Latex Antigen (**Reagent A**).
 Report as Negative:
 Nonreactive-----Suspension remains evenly dispersed, showing no agglutination of the VZVscan Latex Antigen (**Reagent A**).



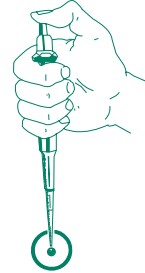
To eliminate the possibility of a false negative result caused by prozoning, (See "Limitations of Procedure"), the following protocol using a 1:40 serum dilution should be used:

- Using a micropipettor, prepare a 1:40 dilution by placing 190 µL of **Reagent B** into a test tube (example: 12 X 75 mm).
- Using a micropipettor, place 10 µL of sample serum into the test tube and mix by drawing up and down 7 times.
- Using a micropipettor, place 25 µL of **Reagent B** onto a test circle.
- Using a micropipettor, place 25 µL of the diluted serum into **Reagent B** in the appropriate test circle and mix by drawing the micropipettor up and down 7 times.
- Withdraw 25 µL of this mixture and discard. The serum in the circle is now a 1:40 dilution.
- Repeat steps "a" through "e" for each sample being tested.
- Follow preceding steps 2 through 6.

Quantitative Titer Procedure

The following procedure may be used to quantify the relative VZVscan antibody level of patients' sera and the positive control serum. If the high positive control serum does not meet the labeled titer level, then the test should be repeated.

1. Dilution of serum samples
 - a. With a micropipettor, place 25 μ L of **Reagent B** onto circles 1 – 5 on the test card.
 - b. With a micropipettor, and new tip, place 25 μ L of the **Control ++**, **Control –**, or patient serum into **Reagent B** in circle 1. Mix by drawing up and down the micropipettor 7 times. This produces a 1:2 dilution of the sample. A new tip must be used with each serum sample.
 - c. Using the same micropipettor and tip, transfer 25 μ L of the 1:2 dilution directly into the buffer in circle 2, mix as before, and continue this preparation of serial two-fold dilutions through circle 5. Withdraw 25 μ L from circle 5 and discard. The dilution in circle 5 is now a 1:32 dilution of sample serum.
 - d. Repeat steps "a" through "c" for each sample being tested.



- NOTE: Additional two-fold dilutions of each serum may be continued by following steps "a" through "c" in additional test card circles.
2. Using a new plastic stirrer for each serum sample, start at circle 5 and spread the diluted serum to fill the entire circle. Proceed to the next lower dilution circles (4, 3, 2, 1) until each is spread.
 3. Mix **Reagent A** by gently inverting the bottle several times. Holding in a vertical position, dispense 1 drop onto each test circle containing diluted serum.
 4. Hand rotate the card 3 or 4 times back and forth to distribute the latex throughout each circle. Avoid cross contamination of test areas in adjacent circles.
 5. Place the card on a rotator and rotate for 10 min under a moistened humidifying cover.
 6. Immediately following mechanical rotation, read the card macroscopically in the wet state under a high intensity incandescent lamp. Gently tilt the card (3 or 4 back-and-forth motions) to help differentiate weak agglutination from no agglutination. Weak agglutination is defined as a rough appearance where aggregated latex is visible. No agglutination is defined as a smooth milky appearance.
 7. The antibody titer is the inverse of the ratio of the last positive test circle (e.g., 1:32 becomes a titer of 32).

Quality Control: The reactive controls are formulated to produce definite agglutination within the labelled dilutions. Do not report control endpoints as "Reactive" unless definite agglutination is observed, assuring that the antigen antibody system is performing properly within the test environment. The nonreactive control should show no agglutination. If controls do not produce appropriate response, the test is invalid. Weak or no agglutination of the 1:2 dilution of the High Reactive Control may be the result of the prozone phenomenon. At a minimum, the Low Reactive Control and Nonreactive Control should be run each day the kit is used.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditations requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

Qualitative Test: The single serum specimen assayed is reported as positive for VZV antibody when any agglutination (clumping) is visible without the aid of mechanical devices. In the absence of agglutination in the 1:2 and the 1:40 dilution, the specimen is reported as negative for VZV antibody.

Quantitative Test: Report reactivity in terms of highest dilution showing any agglutination of the VZVscan Latex Reagent. Specimens showing no agglutination at any dilution should be reported as nonreactive. When comparing paired sera collected from 10 to 14 days apart, the two samples should be assayed at the same time. A four-fold rise in the convalescent serum compared to the acute serum or seroconversion from a negative to a positive result is indicative of active or recurrent infection.¹⁰

Refer to the following example:	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
High Reactive Control ++	R	R	R	R	R	R
Low Reactive Control +	R	R	R	N	N	N
Nonreactive Control –						
Sample No. 1	R	R	N	N	N	N
Sample No. 2	R	R	R	R	R	N

R = Reactive N = Nonreactive

Report as: High Reactive Control – Reactive, \geq 1:64 dilution
 Low Reactive Control – Reactive, 1:8 dilution
 Nonreactive Control – Nonreactive
 Sample No. 1 – Reactive, 1:4 dilution
 Sample No. 2 – Reactive, 1:32 dilution

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Patients with positive titers due to naturally occurring immunity may become reinfected. A reinfection incidence of 6% was observed in one study.¹ Rare patients screened positive at 1:2 are negative at 1:4 dilution. These patients are probably at higher risk for infection with infectious VZV than individuals with 1:8 or greater dilution of VZV-specific immunoglobulin in their serum; however this is not proven. When screening high risk individuals with no recollection of prior infection, performing quantitative titers may provide additional information useful for clinical decision making.

Serum antibody titers are not recommended for the demonstration of acute (active) infection because of the lack of detectable antibody in early infection, the potential prozoning phenomenon at serum dilutions less than 1:40, as well as the lack of antibody response in some immunosuppressed patients. Direct testing for virus or antigen in the lesions is preferable in these cases.

The instance of a prozoning phenomenon in serum containing unusually high VZV antibody levels cannot be ruled out. If confirmation of a nonreactive serum is desired, such as in high risk patients, the sample should be re-assayed using a 1:40 dilution in Specimen Dilution Buffer as described under "Qualitative Screening Procedure."

The test should be run between 23 to 29°C. Temperatures outside this range may cause false positive reactions.

Cards held too close to a high intensity lamp may be exposed to excessive heat. This may cause a false positive reaction due to the drying of the reagents.

The presence of passive immune globulin in sera collected from recipients of varicella zoster immune globulin (VZIG) or blood products received by the patient within the previous 3 to 6 months may result in positive test results. Therefore, prior infection of VZV may not be identifiable.

Test results from cord blood or newborns should be interpreted with caution due to the passive transfer of IgG from the mother.

Primary infections by other herpes viruses can cause a corresponding increase in antibody level from a previous VZV infection.^{11,12}

Seroconversion or a four-fold or greater rise in antibody titer are the classic methods of evaluating patient status regarding recent exposure to the virus. However, test results should be evaluated in conjunction with clinical symptoms, patient history and other laboratory findings to establish a diagnosis.

EXPECTED VALUES AND PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Methods used to detect antibodies to VZV in human serum include: FAMA (Fluorescent Antibody to Membrane Antigen), indirect immunofluorescence, immune adherence hemagglutination, neutralization, indirect hemagglutination, complement fixation and enzyme immunoassays.

The FAMA test represents one of the oldest and most reliable antibody detection tests and is considered the standard method.

One hundred eighty serum samples, obtained from normal donors, were assayed to compare results from two commercially available ELISA test kits to the VZVscan Latex Agglutination Test. There was a 97.8% overall qualitative agreement between ELISA and the VZVscan Latex Agglutination Tests (Tables 1 a and 1 b).

Table 1 a
Qualitative Agreement
Between BioWhittaker VZ Stat ELISA
and the VZVscan Latex Agglutination Test (LA)

		ELISA	
		+	-
LATEX	+	41	2
	-	1	45

Sensitivity = 41/42 = 97.6%
 Specificity = 45/47 = 95.7%
 Accuracy = 86/89 = 96.0%

Table 1 b
Qualitative Agreement
Between Diamedix VZV ELISA and the VZVscan
Latex Agglutination Test (LA)

		ELISA		
		+	-	Equip
LATEX	+	79	0	1
	-	0	6	0

Sensitivity = 79/79 = 100.0%
 Specificity = 6/7 = 86.0%
 Accuracy = 85/86 = 98.8%

Sera from 50 adults with no history of varicella were tested for antibody to VZV. The results are shown in Table 2. The FAMA assay detected 34 positives out of 50 sera (68%), while LA and ELISA detected 36 (72%) and 30 (60%) positives respectively, yielding 92% accuracy for both tests compared to the FAMA Assay.

A Comparison Between the FAMA Assay (a) with the VZVscan Latex Agglutination Test and with the ELISA Assay (b) using Sera from Adults with no Previous History of Varicella

Table 2 a

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	33	3
	-	1	13

Sensitivity = 33/34 = 97.0%
 Specificity = 13/16 = 81.3%
 Accuracy = 46/50 = 92.0%

Table 2 b

		FAMA	
		+	-
ELISA	+	30	0
	-	4	16

Sensitivity = 30/34 = 88.2%
 Specificity = 16/16 = 100.0%
 Accuracy = 46/50 = 92.0%

- a Fluorescent Antibody to Membrane Antigen (Columbia University, USA)
- b VZ STAT (BioWhittaker, USA)

Sera from 18 adults with a history of varicella in childhood were positive by FAMA and LA as shown in Table 3.

Sera from 15 children and adults prior to clinical varicella were negative by both FAMA and LA. Sera taken from the same individuals after clinical varicella were positive by both FAMA and LA (Table 4).

Table 3
A Comparison Between the FAMA Assay and VZVscan Latex Agglutination Test Using Sera from 18 Adults with Previous History of Varicella

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	18	0
	-	0	0

Sensitivity = 18/18 = 100%

Table 4
A Comparison Between the FAMA Assay and VZVscan Latex Agglutination Test Using 15 Sera from Children and Adults Before and After Clinical Varicella

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	15	0
	-	0	15

Sensitivity = 15/15 = 100%
 Specificity = 15/15 = 100%
 Accuracy = 30/30 = 100%

Table 5 represents the results of a comparison in which sera from 44 children on day 1 of varicella were negative for antibody to VZV by both FAMA and LA. However, on day 28, during convalescence, all 44 children were positive by FAMA and LA (titers ranged from 64 to 1024). Both tests were capable of detecting 100% seroconversion.

Table 5
A Comparison Between the FAMA Assay and VZVscan Latex Agglutination Test Using Sera from 44 Children on Day 1 of Chickenpox and Day 28 of Convalescence

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	0
	-	0	44

Specificity = 44/44 = 100%

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	44	0
	-	0	0

Sensitivity = 44/44 = 100%

A comparison between FAMA and LA using sera from 83 normal adults selected for vaccination as negative for VZV antibody by FAMA assay is shown in Table 6.

Table 6
A Comparison Between the FAMA Assay and VZVscan Latex Agglutination Test Using Sera from 83 Normal Adults Prior to Vaccination

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	3*
	-	0	80*

Specificity = 80/83 = 96.4%

*These 3 samples were also positive by ELISA VZ STAT (BioWhittaker, USA).

A comparison between FAMA and LA using VZV positive sera from 5 vaccinated leukemic children who upon documented exposure to chickenpox developed a four-fold increase in VZV antibody titer is shown on Table 6 a. All paired serum samples were run simultaneously.

Table 6 a

A Comparison Between the FAMA Assay and VZVscan Latex Agglutination Test Using Sera from Vaccinated Leukemic Children Prior to and Following Documented Chickenpox Exposure

Patient	Date	Post Vaccine Titers		Date of Documented Chickenpox Exposure*	Date	Post Exposure Titers	
		FAMA**	LA			FAMA	LA
1	09/30/86	16	128	10/17/86	11/25/86	64	512
2	11/17/86	16	64	05/22/87	06/15/87	64	512
3	02/20/85	4	16	03/21/85	04/29/85	64	512
4	04/15/86	8	16	04/10/87	04/21/87	256	512
5	11/13/86	8	8	12/11/86	12/16/86	256	32

* Documented exposure includes home exposure or multiple school exposures.

** Data supplied by Dr. Anne Gershon and Sharon P. Steinberg, Columbia University, USA.

Absence of Cross-Reactivity with other Herpes Viruses: Fifteen adult serum samples were shown to be negative for VZV antibodies by both LA and FAMA. These serum samples were tested for antibodies to other human herpes viruses using commercial kits for antibody detection. Each serum tested positive for antibodies to at least one of the other herpes viruses (13 EBV, 5 CMV, 11 HSV) (Table 7). This data indicates the absence of cross reactivity between antibodies directed against other herpes viruses and the VZV antigens in the **VZVscan** Latex Agglutination Test.

Reproducibility

The intra-assay reproducibility of the **VZVscan** Latex Agglutination Test was examined in 5 replicate tests of 4 serum samples (1 high positive, 1 medium positive, 1 low positive, 1 negative). The results are shown in Table 8. All replicate tests gave the same agglutination titer with each of the serum samples.

The inter-assay reproducibility was examined by determining the agglutination titers of 4 serum samples (1 high positive, 1 medium positive, 1 low positive, 1 negative) with 3 different lots of **VZVscan** Latex Reagent. No significant variation (\pm one dilution) in agglutination titers was observed from lot-to-lot of **VZVscan**™ Latex Reagent (Table 8).

Table 7

Absence of Cross Reactivity with Other Herpes Viruses

Serum Sample ^a	VZV ^b	HSV ^c	CMV ^d	EBV ^e
A 7B	-	-	-	120
A10B	-	1024	-	14 ^f
A19B	-	-	-	18 ^f
A28B	-	256	512	164
A55B	-	512	256	288
A60B	-	1024	-	145
A95B	-	64	-	81
A108B	-	64	-	95
A114B	-	-	512	161
A148B	-	128	-	166
A150B	-	128	-	227
A152B	-	512	-	184
A177B	-	64	256	148
A190B	-	-	-	94
A251B	-	256	64	97

^a Serum samples obtained from normal adults.

^b **VZVscan**™ Latex Agglutination Test and the FAMA Assay (Columbia University, USA).

^c Virogen HSV Ab Latex Test (Wampole Laboratories, USA).

^d **CMVscan**™ (Becton, Dickinson and Company, USA).

^e EB-VCA G FIAx (BioWhittaker USA).

^f Equivocal.

Table 8

Within Run Reproducibility				
Test	Serum Titers			
	High	Medium	Low	Negative
1	256	32	4w ^a	< 2
2	256	32	4w	< 2
3	256	32	4w	< 2
4	256	32	4w	< 2
5	256	32	4w	< 2
Lot-to-Lot Reproducibility				
VZV Latex Lot	Serum Titers			
	High	Medium	Low	Negative
#1	256	32	4w ^a	< 2
#2	256	32	2	< 2
#3	256	32	2	< 2

^a, w = weak agglutination

AVAILABILITY

Cat. No.	Description	Cat. No.	Description
254126	VZVscan™ 30 Test Kit (<i>Qualitative</i>).	277979	Macro-Vue Card Test Rotator Accessories Package , containing one 15" x 7" extension top and two humidifying covers.
254201	VZVscan 100 Test Kit (<i>Qualitative</i>).	273310	Pipette Tips, Box 1000.
278501	Macro-Vue™ Card Test Rotator (with humidifying cover), 100 ± 2 rpm, automatic timer, friction drive, Model 51-II (110 V) and Model 54 (220 V).		

REFERENCES

- Gershon, A., Steinberg, S., Gelb, L., and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Varicella Vaccine Study Group. Clinical reinfection with varicella-zoster virus, *J. Infect. Dis.*, 149:137-142, 1984.
- Pallett, A., and Nicholls, N., Varicella-zoster: Reactivation or reinfection? *Lancet* 1:160, 1986.
- Boughton, C., Varicella-zoster in Sydney. I. Varicella and its complications, *Med. J. Aust.* 2:392-397, 1966.
- Gershon, A., Steinberg, S., and Brunell, P., Zoster immune globulin: A further assessment, *N. Engl. J. Med.* 290:243-245, 1974.
- Winsnes, R., Efficacy of zoster immunoglobulin in prophylaxis of varicella in high risk patients, *Acta Paediatr. Scand.*, 67:77-82, 1978.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
- Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53-80.
- U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Directive 200/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021-0045.
- Weller, T., Varicella and Herpes Zoster. In: *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*, Lennette and Schmidt, eds. American Public Health Association, Inc., Washington, D.C., 175-395, 1979.
- Brunell, P.A., Varicella-zoster virus, Chapter 82, *Manual of Clinical Immunology*, Second edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1980.
- Gallo, D., Schmidt, N., Comparison of Anticomplement Immunofluorescence and Fluorescent Antibody-to-Membrane Antigen Tests for Determination of Immunity Status to Varicella-Zoster Virus and for Serodifferentiation of Varicella-Zoster Virus and for Herpes Simplex Virus Infections, *J. of Clin. Microbiol.*, V. 14, 539-543, 1981.



Varicella-zoster Virus Antibody Card Test

Pour la détermination qualitative ou quantitative d'anticorps du virus varicelle-zona dans le sérum humain

Français

APPLICATION

VZVscan (Varicella-zoster Virus) Antibody Card Test (test sur carte d'anticorps) est un dosage qualitatif et quantitatif d'agglutination sur latex qui utilise des particules de polystyrène sensibilisées avec des antigènes du virus varicelle-zona (VZV) atténué et partiellement purifié pour la détection des anticorps totaux contre le VZV dans le sérum humain.

RESUME ET EXPLICATION

Le virus varicelle-zona est l'agent étiologique de la varicelle (varicella) et du zona (herpès zoster). Puisque la varicelle n'est précédée que par la blennorrhagie pour le nombre de cas reportés aux Etats-Unis, le rôle actuel des diagnostics sérologiques est de déterminer l'état immunitaire des individus sensibles dans les groupes à haut risque, tels les patients à immunité compromise, le personnel hospitalier, les receveurs de greffes et les femmes enceintes. De plus, l'identification des anticorps peut être utilisée comme moyen de différencier les lésions papulo-vésiculeuses produites par d'autres maladies, comme le virus herpès simplex, la rickettsiose et la syphilis secondaire. Les vaccins contre le virus varicelle-zona étant actuellement à l'étude, l'importance du dépistage général des anticorps peut augmenter.

La varicelle est habituellement une maladie bénigne de l'enfance. Elle est caractérisée par une période d'incubation de 10 à 21 jours (14 jours en moyenne), puis 1 à 2 jours de développement viral, suivis par des éruptions généralisées de maculopapules individuelles qui se gonflent rapidement pour former des vésicules pouvant persister pendant 4 à 5 jours. Les patients âgés de plus de 20 ans et, dans une moindre mesure, ceux de moins d'un an, courent un risque accru de complications. Les anticorps spécifiques IgG sont détectables dans les 4 à 5 jours suivant l'apparition des symptômes et sont généralement présents tout au long de la vie. Pour cette raison, un échantillon de sérum peut être testé comme étant positif ou négatif pour les anticorps du VZV, donnant ainsi une indication d'exposition antérieure au virus. **LES ANTICORPS NE SONT PAS CONSIDERES COMME UNE PROTECTION A 100% ET DES INFECTIONS SECONDAIRES, BIEN QUE RARES, PEUVENT SURVENIR.**¹ (Voir « Limites de la méthode ».) Cependant, comme pour d'autres virus de l'herpès, un réservoir permanent existe dans les ganglions du nerf sensitif et une recrudescence de l'infection primaire peut survenir chez les sujets âgés ou immunodéprimés. Ceci se manifeste le plus communément par l'herpès zoster (zona), une éruption vésiculaire extrêmement douloureuse limitée habituellement à un ou deux dermatomes au cours de la vie pour 10 à 20 % des individus. Chez les sujets immunocompromis, le virus peut se propager et produire un syndrome cutané étendu, une pneumopathie inflammatoire ou une encéphalite. Alors que des cas regroupés d'infections par le virus zoster suggèrent qu'une réinfection peut survenir,² l'utilisation croissante de thérapies immunosuppressives, qui perturbent l'état dormant du virus, contribue à l'augmentation de la fréquence d'apparition. Les algies post-zostériennes peuvent être sévères et débilantes.

Dans le cas de la varicelle et du zona, des infections non apparentes peuvent être accompagnées d'une augmentation du titre des anticorps.³ Une étude sérologique sur des enfants sans antécédent a révélé la présence de l'anticorps contre le VZV chez un tiers des sujets.⁴ Des antécédents de symptômes cliniques n'accompagnent donc pas nécessairement un dépistage positif ou une augmentation du titre des anticorps.

Les thérapies disponibles pour l'infection comprennent l'acyclovir, les interférons alpha et la globuline immune du zona (ZIG). L'utilisation de la ZIG comme mesure préventive chez les enfants à haut risque – particulièrement ceux atteints de leucémie ou de lymphomes, présentant des syndromes d'immunodéficience ou soumis à une thérapie immuno-suppressive – peut entraîner une protection, une infection subclinique ou parfois des maladies graves.⁴ Il semble que la période entre l'exposition au virus et le traitement soit d'une importance capitale.⁵

PRINCIPES DE LA METHODE

VZVscan Card Test suit les principes connus de l'agglutination sur latex et utilise des particules de latex de polystyrène recouvertes d'antigènes du VZV. Lorsque ce réactif est mélangé avec du sérum humain qui contient les anticorps contre le VZV, une réaction produit une agglutination visible sur la surface de la carte de test. Le dosage est lu à l'œil nu, sans l'aide de d'instruments. En l'absence d'anticorps spécifiques contre le VZV, aucune agglutination ne se forme et un aspect lisse et laiteux est observé.

Le test **VZVscan** peut être utilisé pour tester des échantillons de sérum comme positifs ou négatifs pour les anticorps contre le virus varicelle-zona ou des dilutions à 1/2 en série peuvent être réalisées pour obtenir un titre du niveau relatif d'anticorps.

REACTIFS

Réactif A, VZVscan Latex Antigen, particules de polystyrène sensibilisées avec un antigène varicelle-zona partiellement purifié et inactivé, contenant 0,2 % d'azide de sodium et 0,025 % de gentamicine dans un tampon de glycine.

Réactif B, VZVscan Card Dilution Buffer, tampon de glycine contenant 0,1 % d'azide de sodium et 0,025 % de gentamicine.

Contrôle ++, VZVscan High Reactive Control (sérum humain), contenant des anticorps du virus varicelle-zona.

Contrôle +, VZVscan Low Reactive Control (sérum humain), contenant des anticorps du virus varicelle-zona.

Contrôle –, VZVscan Nonreactive Control (sérum humain), non-réactif aux anticorps du virus varicelle-zona ; tous les contrôles contiennent 0,1 % d'azide de sodium.

Mises en garde et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Après une évaluation de sa complexité d'exécution au regard des normes CLIA '88 effectuée par le Centers for Disease Control and Prevention (CDC) et la U.S. Food and Drug Administration (FDA), ce produit a été identifié comme présentant une complexité modérée.

Réactifs : Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption. Après avoir sorti les réactifs du réfrigérateur, les laisser se réchauffer à température ambiante (entre 23 et 29 °C) avant de les utiliser. NE PAS mélanger des réactifs provenant de coffrets portant des numéros de lot différents.

Pour assurer une distribution correcte des gouttes du **Réactif A VZVscan**, le flacon verseur doit être tenu verticalement.

Le **Réactif A** a été préparé à partir d'un virus scindé de souche vaccinale, estimé inactif par une recherche d'activité biologique.

Les sérums de contrôle sont fabriqués à partir de sang humain qui a satisfait aux tests prouvant l'absence de contamination par le VIH (virus d'immunodéficience humaine) et par HBsAg (antigènes de surface de l'hépatite B) exigés par la FDA.

Avertissement : Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « précautions standard »⁶⁻⁹ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.

Avertissement : Les réactifs contiennent de l'azide de sodium, très toxique par inhalation, au contact avec la peau et en cas d'ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec beaucoup d'eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

Tests sur carte : Les cartes doivent être bien plates pour donner des réactions justes. Si nécessaire, les aplatir en les faisant bomber dans le sens inverse de l'incurvation. Bien veiller à ne pas laisser d'empreintes de doigts sur les zones de test car tout dépôt gras risque de fausser les résultats. N'utiliser chaque carte qu'une seule fois, puis la jeter. Conserver les cartes neuves dans l'emballage d'origine à l'abri de l'humidité et à température ambiante.

Lecture des résultats du test : Avant la lecture, une brève rotation manuelle doit suivre l'agitation mécanique. Lire immédiatement les résultats sous une lampe à incandescence de forte intensité en tenant la carte à au moins 15 cm de la lampe. L'éclairage fluorescent est généralement insuffisant pour distinguer l'agglutination lorsque la réaction est faible. Il est déconseillé d'utiliser un système de grossissement pour lire les résultats.

Rotation : La vitesse de rotation mécanique recommandée est de 100 ± 2 rpm (rotations par minute), mais une vitesse entre 95 et 110 rpm ne modifie pas de façon significative les résultats obtenus. L'appareil rotateur doit décrire un cercle d'approximativement deux centimètres de diamètre à l'horizontale. Il faut utiliser un protège-carte humidificateur mouillé pour empêcher que les échantillons ne se dessèchent pendant la rotation.

Conservation des réactifs : Réfrigérer à une température comprise entre 2 et 8 °C. NE PAS CONGELER. La réactivité du test est invalidée si les réactifs sont portés à une température supérieure à 32 °C ou inférieure au point de gelée. Les remettre bouchés au réfrigérateur après usage.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Prélever le sang total par ponction veineuse et le séparer du sérum sans utilisation d'anticoagulants. L'utilisation de plasma n'a pas été instaurée. L'inactivation du sérum par la chaleur ne modifie pas de façon significative les caractéristiques du test. Il est déconseillé d'utiliser des échantillons présentant une contamination microbienne évidente ; en revanche, une lipémie ou une hémolyse ne modifie pas les caractéristiques du test. Les sérums peuvent être conservés pendant 48 heures maximum à une température comprise entre 2 et 8 °C. Les congeler dans un congélateur sans auto-dégivrage si si une conservation plus longue est souhaitée.

Lorsque le test VZVscan est utilisé pour évaluer une infection active, il est conseillé de prélever le premier échantillon de sérum aussi tôt que possible après le début de la maladie, et le sérum en phase convalescente de 10 à 14 jours plus tard. Il est conseillé d'analyser en même temps les échantillons en phases aiguë et convalescente.

Aucune préparation spéciale du patient n'est requise avant le prélèvement de l'échantillon.

MODE OPERATOIRE

Relire les paragraphes « Précautions » et « Prélèvement et préparation des échantillons » avant de procéder au test. Lors de l'analyse, le plan de travail, les réactifs, les échantillons et les composants du test doivent tous être à température ambiante (entre 23 et 29 °C).

Matériel fourni :		No. 254126 (30 tests)	No. 254201 (100 tests)
Réactif A,	VZVscan Latex Antigen,	0,5 mL	1,6 mL
Réactif B,	VZVscan Card Dilution Buffer,	5,0 mL	20,0 mL
Contrôle ++,	VZVscan High Reactive Control (sérum humain),	0,5 mL	0,5 mL
Contrôle +,	VZVscan Low Reactive Control (sérum humain),	0,5 mL	0,5 mL
Contrôle -,	VZVscan Nonreactive Control (sérum humain),	0,5 mL	0,5 mL
Tests sur carte,		5	8
accessoires pour le test et matériel jetable.			

Matériaux requis mais non fournis: Rotateur avec protège-carte humidificateur, micropipette à distribution de 25 µL, centrifugeuse et lampe à incandescence puissante.

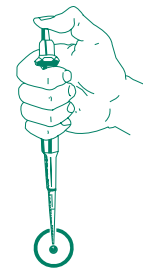
L'équipement et le matériel de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation des échantillons sérologiques sont également nécessaires.

Méthode de dépistage qualitatif

La méthode suivante peut être utilisée pour sélectionner les sérums de patients comme réactifs ou non réactifs pour les anticorps de VZV, et pour tester la réactivité du **Réactif A** de **VZVscan Latex** en utilisant les sérums de contrôle réactif et non réactif fournis.

1. Dilution des échantillons de sérum

- A l'aide de la micropipette, déposer 25 µL de **Réactif B** sur un cercle d'analyse.
- En utilisant la même micropipette et un embout neuf, déposer 25 µL de Contrôle +, de Contrôle - ou de sérum du patient dans le **Réactif B** du cercle approprié et mélanger par aspiration/dépose à sept reprises. Il faut utiliser un embout neuf pour chaque échantillon de sérum.
- Prélever et rejeter 25 µL de ce mélange. Le sérum présent dans le cercle est maintenant dilué à 1/2.
- Répéter les étapes de « a » à « c » pour chaque échantillon à tester.



- En utilisant un nouvel agitateur en plastique pour chaque échantillon de sérum, étaler le sérum dilué jusqu'à recouvrir le cercle entier.
- Mélanger le **Réactif A** en retournant le flacon délicatement plusieurs fois. Maintenir en position verticale et déposer une goutte sur chaque cercle contenant du sérum dilué.
- Tourner la carte à la main trois ou quatre fois en un mouvement de va-et-vient pour disperser le latex sur chaque cercle. Éviter les contaminations croisées de champs d'analyse dans des cercles adjacents.
- Poser la carte sur un rotateur et le mettre en marche pendant 10 minutes avec le couvercle humidificateur mouillé.
- Dès que l'appareil est arrêté, lire la carte à l'œil nu à l'état humide sous une lampe à incandescence de haute intensité. Incliner délicatement la carte (trois ou quatre mouvements de va-et-vient) pour permettre de différencier une agglutination faible d'une absence d'agglutination.

- Le contrôle réactif doit indiquer une agglutination et le contrôle non réactif aucune agglutination (figure 1).

Interpréter positif :

Réactif-----Signes d'agglutination de **VZVscan Latex Antigen (Réactif A)**.

Interpréter négatif :

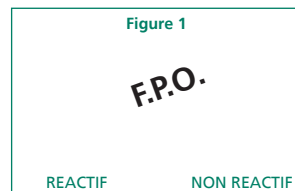
Non-réactif-----La suspension demeure uniformément dispersée, sans aucun signe d'agglutination de **VZVscan Latex Antigen (Réactif A)**.

Pour éliminer la possibilité d'un résultat négatif erroné causé par un effet de prozone (voir « Limites de la méthode »), le protocole suivant devrait être utilisé avec un sérum dilué à 1/40 :

- A l'aide d'une micropipette, préparer la dilution à 1/40 en déposant 190 µL de **Réactif B** dans un tube à essai (par exemple : 12 x 75 mm).
- A l'aide d'une micropipette, déposer 10 µL de l'échantillon de sérum dans le tube à essai et mélanger par aspiration/dépose à sept reprises.
- A l'aide d'une micropipette, déposer 25 µL du **Réactif B** dans un cercle d'analyse.
- A l'aide d'une micropipette, déposer 25 µL du sérum dilué dans le **Réactif B** dans un cercle d'analyse approprié et mélanger par aspiration/dépose à sept reprises.
- Prélever et rejeter 25 µL de ce mélange. Le sérum présent dans le cercle est maintenant dilué à 1/40.
- Répéter les étapes de a à e pour chaque échantillon à tester.
- Effectuer les étapes 2 à 6 ci-dessus.

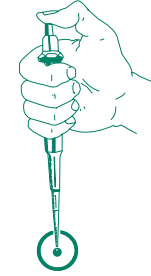
Méthode de Titration Quantitatif

La méthode suivante peut être utilisée pour mesurer quantitativement le taux relatif d'anticorps **VZVscan** de sérums de patients et du sérum de contrôle positif. Si le sérum de contrôle fortement positif ne correspond pas au titre indiqué, le dosage doit être répété.



1. Dilution des échantillons de sérum

- A l'aide d'une micropipette, déposer 25 µL de **Réactif B** sur les cercles de 1 à 5 de la carte de test.
- A l'aide d'une micropipette, et en utilisant un embout neuf, déposer 25 µL de **Contrôle ++**, **Contrôle -**, ou de sérum du patient dans le **Réactif B** dans le cercle 1. Mélanger par aspiration/dépose à sept reprises. Ceci produit une dilution à 1/2 de l'échantillon. Il faut utiliser un embout neuf pour chaque échantillon de sérum.
- A l'aide de la même pipette et du même embout, transférer 25 µL du sérum dilué à 1/2 directement dans le tampon du cercle 2, mélanger comme indiqué précédemment, et continuer les dilutions à 1/2 en série jusqu'au cercle 5. Prélever et rejeter 25 µL du cercle 5. Le cercle 5 contient à présent un échantillon de sérum dilué à 1/32.
- Répéter les étapes de « a » à « c » pour chaque échantillon à tester.



REMARQUE: Des dilutions supplémentaires à 1/2 peuvent être réalisées en répétant les étapes de « a » à « c » sur des cartes supplémentaires.

- En utilisant un nouvel agitateur en plastique pour chaque échantillon de sérum, commencer au cercle 5 et étaler le sérum dilué jusqu'à recouvrir le cercle entier. Répéter l'opération sur les cercles successifs (4, 3, 2, 1) à dilution moins élevée.
- Mélanger le **Réactif A** en retournant le flacon délicatement plusieurs fois. Maintenir en position verticale et déposer une goutte sur chaque cercle contenant du sérum dilué.
- Tourner la carte à la main trois ou quatre fois en un mouvement de va-et-vient pour disperser le latex sur chaque cercle. Éviter les contaminations croisées de champs d'analyse dans des cercles adjacents.
- Poser la carte sur un rotateur et le mettre en marche pendant 10 minutes avec le couvercle humidificateur mouillé.
- Dès que l'appareil est arrêté, lire la carte à l'œil nu à l'état humide sous une lampe à incandescence de haute intensité. Incliner délicatement la carte (trois ou quatre mouvements de va-et-vient) pour permettre de différencier une agglutination faible d'une absence d'agglutination. Une agglutination faible se définit par un aspect rugueux et une agrégation visible du latex. L'absence d'agglutination se traduit par un aspect lisse et laiteux.
- Le titre des anticorps est l'inverse du rapport de dilution du dernier cercle positif (par exemple, 1/32 donne un titre de 32).

Contrôle de qualité : Les contrôles réactifs sont formulés de manière à produire une agglutination nette pour les dilutions indiquées. Ne pas rapporter les points terminaux de contrôle comme étant « réactifs », à moins de constater une nette agglutination, preuve que le système antigène/anticorps fonctionne correctement dans le milieu de l'analyse. Le contrôle non réactif ne doit présenter aucune agglutination. Si les contrôles ne réagissent pas convenablement, le test n'est pas valable. Une agglutination faible ou une absence d'agglutination à une dilution de 1/2 du contrôle fortement positif peut être le résultat d'un phénomène de prozone. Chaque jour que le test est effectué, tester au moins le contrôle faiblement réactif et le contrôle non réactif.

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Analyses qualitatives : l'échantillon unique de sérum testé est considéré comme positif pour les anticorps du VZV si une agglutination est visible sans l'aide d'instruments. En absence d'agglutination à une dilution de 1/2 et 1/40, l'échantillon est considéré comme négatif pour les anticorps du VZV.

Analyses qualitatives : Exprimer la réactivité par la dilution la plus élevée présentant une agglutination du réactif sur latex **VZVscan**. Les échantillons ne présentant aucune agglutination à toutes les dilutions doivent être déclarés non réactifs. Lors de la comparaison par paires de sérums prélevés à un intervalle de 10 à 14 jours, les deux échantillons doivent être testés en même temps. Une multiplication par quatre dans le sérum convalescent comparé à celui prélevé en période aiguë ou une séroconversion d'un résultat négatif à un résultat positif indiquent une infection active ou récurrente.¹⁰

Se référer à l'exemple suivant :

	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Contrôle réactif haut ++	R	R	R	R	R	R
Contrôle réactif bas +	R	R	R	N	N	N
Contrôle non réactif -						
Echantillon n° 1	R	R	N	N	N	N
Echantillon n° 2	R	R	R	R	R	N

Interpréter :

R = Réactif	N = Non réactif
Contrôle réactif haut	- Réactif, ≥ dilution à 1/64
Contrôle réactif bas	- Réactif, dilution à 1/8
Contrôle non réactif	- Non réactif
Echantillon no 1	- Réactif, dilution à 1/4
Echantillon no 2	- Réactif, dilution à 1/32

LIMITES DE LA METHODE

Les patients montrant un titre positif dû à une immunité naturelle peuvent être réinfectés. Une étude a rapporté une incidence de réinfection de 6 %.¹ Lors de tests de dépistage, le sérum de rares patients est positif à une dilution de 1/2 et négatif à 1/4. Ces patients ont un risque probablement plus élevé de développer une infection à la suite d'un contact avec une souche infectieuse de VZV que des individus montrant un titre sérique d'immunoglobulines spécifiques au VZV de 1/8 ou plus; cependant ceci n'est pas prouvé. Lors de tests de dépistage avec des individus à haut risque sans histoire d'infection antérieure, l'utilisation de la méthode de titrage quantitatif peut donner des informations additionnelles utiles lors de décisions cliniques.

Les titres d'anticorps sérique ne sont pas recommandés pour la démonstration d'infections aiguës (actives) en raison de l'absence d'anticorps détectable au stade initial de l'infection, du phénomène éventuel de prozone à des dilutions sériques inférieures à 1/40, ainsi que de l'absence de réponse d'anticorps chez certains patients immunosupprimés. Dans ces cas, il est préférable de procéder à des tests directs de dépistage de virus ou d'antigène dans les lésions.

La possibilité d'un phénomène de prozone dans un sérum contenant des niveaux inhabituellement élevés d'anticorps contre le VZV ne peut pas être écartée. Si on désire la confirmation de la non-réactivité d'un sérum, comme par exemple chez les patients à haut risque, l'échantillon doit être testé de nouveau en utilisant une dilution à 1/40 dans le tampon de dilution de l'échantillon, comme décrit à la rubrique « Méthode de dépistage qualitatif ». Le test doit être effectué à une température comprise entre 23 et 29 °C. Une température en dehors de ces limites peut causer des réactions faussement positives.

Les cartes tenues trop près d'une lampe à haute intensité peuvent être exposées à une chaleur excessive. Ceci peut causer une réaction faussement positive due à l'assèchement des réactifs.

La présence de globuline immune passive dans les sérums prélevés chez des patients receveurs de globulines immunes contre le virus varicelle zona (VZIG) ou dans les produits sanguins reçus par le patient dans les 3 à 6 mois précédents, peut donner des résultats de test positifs. Une infection préalable par le VZV peut donc ne pas être identifiable.

Les résultats de dosage sur le sang provenant du cordon ombilical ou de nouveau-nés doivent être interprétés avec précaution du fait du transfert passif des IgG de la mère à l'enfant.

Les infections primaires par d'autres virus de l'herpès peuvent entraîner une augmentation correspondante du taux d'anticorps à la suite d'une infection préalable par le VZV.^{11,12}

La séroconversion ou une multiplication par au moins quatre du titre des anticorps sont les méthodes classiques d'évaluation de l'état d'un patient en ce qui concerne une récente exposition au virus. Cependant, pour établir un diagnostic, les résultats de test doivent être examinés en coordination avec les symptômes cliniques, les antécédents du patient et les conclusions d'autres examens biologiques.

VALEURS ATTENDUES ET CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Les méthodes pour détecter les anticorps contre le VZV dans le sérum humain comprennent : FAMA (anticorps fluorescent sur membrane d'antigène), immunofluorescence indirecte, hémagglutination due à l'adhérence immune, neutralisation, hémagglutination indirecte, fixation du complément et dosages immuno-enzymatiques.

Le test FAMA est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus fiables de détection d'anticorps et est considéré comme la méthode de référence.

Cent quatre-vingts échantillons de sérum, obtenus chez des donneurs normaux, ont été dosés pour comparer les résultats obtenus au moyen de deux trousseaux de test ELISA disponibles dans le commerce avec VZVscan Latex Agglutination Test. Un accord qualitatif de 97,8 % a été trouvé entre les tests ELISA et VZVscan Latex Agglutination Test (Tableaux 1 a et 1 b).

Tableau 1 a
Accord qualitatif entre les tests
BioWhittaker VZ Stat ELISA et the VZVscan
Latex Agglutination Test (LA)

		ELISA	
		+	-
LATEX	+	41	2
	-	1	45

Sensibilité = $41/42 = 97,6 \%$
Spécificité = $45/47 = 95,7 \%$
Précision = $86/89 = 96,0 \%$

Tableau 1 b
Accord qualitatif entre les tests
Diamedix VZV ELISA et the VZVscan
Latex Agglutination Test (LA)

		ELISA		
		+	-	Equiv
LATEX	+	79	0	1
	-	0	6	0

Sensibilité = $79/79 = 100,0 \%$
Spécificité = $6/7 = 86,0 \%$
Précision = $85/86 = 98,8 \%$

Les sérums de 50 adultes sans antécédent de varicelle ont été testés pour la présence d'anticorps contre le VZV. Les résultats sont présentés dans le tableau 2. Le dosage FAMA a détecté 34 sérums positifs sur 50 (68 %), alors que les tests LA et ELISA ont détecté respectivement 36 (72 %) et 30 (60 %) sérums positifs, donnant une précision de 92 % pour les deux tests par comparaison avec le dosage FAMA.

Comparaison entre le dosage FAMA (a) et VZVscan Latex Agglutination Test et avec le dosage ELISA (b) sur des sérums provenant d'adultes sans antécédent de varicelle

Tableau 2 a

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	33	3
	-	1	13

Sensibilité = $33/34 = 97,0 \%$
Spécificité = $13/16 = 81,3 \%$
Précision = $46/50 = 92,0 \%$

Tableau 2 b

		FAMA	
		+	-
ELISA	+	30	0
	-	4	16

Sensibilité = $30/34 = 88,2 \%$
Spécificité = $16/16 = 100,0 \%$
Précision = $46/50 = 92,0 \%$

a Fluorescent Antibody to Membrane Antigen (Université Columbia, Etats-Unis)

b VZ STAT (BioWhittaker, Etats-Unis)

Les sérums provenant de 18 adultes sans antécédent de varicelle étaient positifs par les dosages FAMA et LA conformément au tableau 3.

Les sérums provenant de 15 enfants et adultes avant une varicelle clinique étaient négatifs par les dosages FAMA et LA. Les sérums prélevés des mêmes individus après la varicelle clinique étaient positifs par les dosages FAMA et LA (tableau 4).

Tableau 3
Comparaison entre le dosage FAMA et VZVscan Latex Agglutination sur des sérums provenant de 18 adultes normaux ayant des antécédents de varicelle

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	18	0
	-	0	0

Sensibilité = $18/18 = 100\%$

Tableau 4
Comparaison entre le dosage FAMA et VZVscan Latex Agglutination sur 15 sérums provenant d'enfants et d'adultes avant et après une varicelle clinique

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	15	0
	-	0	15

Sensibilité = $15/15 = 100\%$
Spécificité = $15/15 = 100\%$
Précision = $30/30 = 100\%$

Le tableau 5 représente les résultats d'une comparaison dans lesquels les sérums de 44 enfants au 1er jour de la varicelle étaient négatifs pour les anticorps à VZV par les deux dosages FAMA et LA. Toutefois, le 28e jour, pendant la convalescence, les 44 enfants étaient positifs par les dosages FAMA et LA (les titres allaient de 64 à 1024). Les deux tests étaient capables de détecter une séroconversion de 100 %.

Tableau 5
Comparaison entre le dosage FAMA et VZVscan Latex Agglutination
Utilisation des sérums provenant de 44 enfants le jour 1 de la varicelle et le jour 28 de la convalescence

JOUR 1 DE LA VARICELLE

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	0
	-	0	44

Spécificité = $44/44 = 100\%$

JOUR 28 DE LA CONVALESCENCE

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	44	0
	-	0	0

Sensibilité = $44/44 = 100\%$

Le tableau 6 montre une comparaison entre le dosage FAMA et le test LA sur des sérums provenant de 83 adultes normaux retenus pour la vaccination, interprétés négatifs pour l'anticorps VZV par le dosage FAMA.

Tableau 6
Comparaison entre le dosage FAMA et VZVscan Latex Agglutination Test des sérums provenant de 83 adultes normaux avant vaccination

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	3*
	-	0	80*

Spécificité = $80/83 = 96,4\%$

*Ces 3 échantillons étaient également positifs par le test ELISA VZ STAT (BioWhittaker, Etats-Unis).

Une comparaison entre les dosages FAMA et LA utilisant des sérums positifs VZV provenant de 5 enfants leucémiques vaccinés qui, après une exposition documentée à la varicelle, ont développé une augmentation multipliée par quatre dans le titrage des anticorps VZV, apparaît sur le tableau 6 a. Toutes les paires d'échantillons de sérums ont été analysées en même temps.

Tableau 6 a
Comparaison entre le dosage FAMA et VZVscan Latex Agglutination Test sur des sérums provenant d'enfants leucémiques avant et après une exposition documentée à la varicelle

Patient	Date	Titres après vaccin		Date d'exposition documentée à la varicelle*	Date	Titres après exposition	
		FAMA**	LA			FAMA	LA
1	09/30/86	16	128	10/17/86	11/25/86	64	512
2	11/17/86	16	64	05/22/87	06/15/87	64	512
3	02/20/85	4	16	03/21/85	04/29/85	64	512
4	04/15/86	8	16	04/10/87	04/21/87	256	512
5	11/13/86	8	8	12/11/86	12/16/86	256	32

* Les cas d'exposition documentés incluent des expositions scolaires multiples ou domestiques.

** Données fournies par les docteurs Anne Gershon et Sharon P. Steinberg, Université Columbia, Etats-Unis.

Absence de réactivité croisée avec d'autres virus de l'herpès : Quinze échantillons de sérum obtenus sur des adultes se sont avérés négatifs pour les anticorps VZV avec les tests LA et FAMA. Ces échantillons de sérum ont été testés pour détecter la présence d'anticorps à d'autres virus de l'herpès au moyen de trousse de détection d'anticorps disponibles dans le commerce. Chaque sérum a été testé positif pour les anticorps d'au moins un des autres virus de l'herpès (13 EBV, 5 CMV, 11 HSV) (Tableau 7). Ces données indiquent l'absence de réactivité croisée entre les anticorps dirigés contre d'autres virus d'herpès et les antigènes VZV dans VZVscan Latex Agglutination Test.

Reproductibilité

La reproductibilité intra-dosage de VZVscan Latex Agglutination Test a été examinée dans 5 tests en parallèle de 4 échantillons sériques (1 positif haut, 1 positif intermédiaire, 1 positif bas, 1 négatif). Les résultats apparaissent dans le tableau 8. Tous les tests en parallèle ont donné le même titre d'agglutination avec chaque échantillon de sérum.

La reproductibilité inter-dosage a été examinée en déterminant les titres d'agglutination de 4 échantillons sériques (1 positif haut, 1 positif intermédiaire, 1 positif bas, 1 négatif) avec 3 lots différents de réactif VZVscan Latex Reagent. Aucune variation sensible (\pm une dilution) n'a été observée dans les titres d'agglutination entre les lots de

Tableau 7
Absence de réactivité croisée avec d'autres virus de l'herpès

Echantillon de sérum ^a	VZV ^b	HSV ^c	CMV ^d	EBV ^e
A 7B	-	-	-	120
A10B	-	1024	-	14 ^f
A19B	-	-	-	18 ^f
A28B	-	256	512	164
A55B	-	512	256	288
A60B	-	1024	-	145
A95B	-	64	-	81
A108B	-	64	-	95
A114B	-	-	512	161
A148B	-	128	-	166
A150B	-	128	-	227
A152B	-	512	-	184
A177B	-	64	256	148
A190B	-	-	-	94
A251B	-	256	64	97

^a Echantillons de sérum obtenus auprès d'adultes normaux.

^b VZVscan Latex Agglutination Test et dosage FAMA (Université Columbia, Etats-Unis).

^c Virogen HSV Ab Latex Test (Wampole Laboratories, Etats-Unis).

^d CMVscan (Becton, Dickinson and Company, Etats-Unis).

^e EB-VCA G FIAX (BioWhittaker, Etats-Unis).

^f Equivoque.

Tableau 8

Reproductibilité dans la série				
Test	Titres de sérum			
	Haut	Intermédiaire	Bas	Négatif
1	256	32	4w ^a	< 2
2	256	32	4w	< 2
3	256	32	4w	< 2
4	256	32	4w	< 2
5	256	32	4w	< 2
Reproductibilité par lot				
Lot de latex VZV	Titres de sérum			
	Haut	Intermédiaire	Bas	Négatif
#1	256	32	4w ^a	< 2
#2	256	32	2	< 2
#3	256	32	2	< 2

^a, ^f = faible agglutination

CONDITIONNEMENT

Réf.	Description	Réf.	Description
254126	VZVscan 30 Test Kit (<i>Qualitatif</i>).	277979	Macro-Vue Card Test Rotator Accessories Package, comprenant un couvercle-rallonge de 38 x 18 cm et deux protège-carte humidificateurs.
254201	VZVscan 100 Test Kit (<i>Qualitatif</i>)		
278501	Macro-Vue Card Test Rotator (avec protège-carte humidificateur), 100 ± 2 rpm, minuterie automatique, entraînement à friction, modèle 51-II (110 V) et modèle 54 (220 V).	273310	Embouts pour micropipette, boîte de 1000.

VZVscan Latex Reagent (Tableau 8).

REFERENCES: Voir la rubrique « References » du texte anglais.



Varicella-zoster Virus Antibody Card Test

Zum qualitativen oder quantitativen Nachweis von Varizellen-Zoster-Virus-Antikörpern in Humanserum

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Der VZVscan (Varicella-zoster Virus) Antibody Card Test (Varicella-zoster-Virus Antikörper-Kartentest) ist ein qualitativer und quantitativer Latex-Agglutinationstest, bei dem zum Nachweis von VZV-Antikörpern in Humanserum mit partiell gereinigtem, attenuiertem Varizellen-Zoster-Virus (VZV)-Antigen beschichtete Polystyrenpartikel verwendet werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Das Varizellen-Zoster-Virus ist der Erreger von Windpocken (Varizellen) und Gürtelrose (Herpes Zoster). Die Windpocken stellen in den Vereinigten Staaten nach der Gonorrhoe die zweithäufigste Erkrankung dar. Die Rolle der Seradiagnostik besteht dabei heute in der Bestimmung des Immunstatus empfänglicher Angehöriger von Hochrisikogruppen, wie z.B. Patienten mit Immunsuffizienz, medizinisches Personal, Transplantatempfänger und Schwangere. Darüber hinaus kann die Identifikation der Antikörper zur Differentialdiagnose vesikulopapillärer Effloreszenzen anderer Erkrankungen, wie z.B. Herpes Simplex, Rickettsienpocken, Lues II u.a. dienen. Mit der Entwicklung von Impfstoffen gegen VZV-Infektionen, wie sie derzeit getestet werden, kann ein allgemeines Screening auf VZV-Antikörper an Bedeutung gewinnen.

Die Varizellen sind normalerweise eine harmlose Kinderkrankheit. Die Inkubationszeit beträgt 10 bis 21 Tage (im Durchschnitt 14 Tage), die Phase der Virusausscheidung dauert 1 bis 2 Tage. Anschließend entwickeln sich am ganzen Körper einzelne makulopapulöse Effloreszenzen, die rasch zu vesikulären Effloreszenzen werden und weitere 4 bis 5 Tage lang auftreten können. Bei Patienten über 20 Jahre und, in geringerem Ausmaß, bei Kindern innerhalb des ersten Lebensjahres ist das Risiko von Komplikationen erhöht. Innerhalb von 4 bis 5 Tagen nach Beginn der Symptome werden IgG-spezifische Antikörper nachweisbar und bleiben es im typischen Fall lebenslang. Anhand einer einzelnen Serumprobe kann festgestellt werden, ob VZV-Antikörper vorhanden sind. Ist dies der Fall, bedeutet es, dass der Patient schon einmal Kontakt mit dem Virus hatte. ANTIKÖRPER SCHÜTZEN NICHT VOR ZWEITINFESTIONEN, DIE ALLERDINGS SELTEN AUFTRETEN.¹ (siehe „Verfahrensbeschränkungen“). Da jedoch das VZV-Virus, wie andere Herpes-Viren, in den sensorischen Nervenganglien latent persistiert, kann die Krankheit bei älteren Personen oder immunsupprimierten Patienten reaktiviert werden. Eine Reaktivierung äußert sich normalerweise in der Form von Herpes Zoster (Gürtelrose), einem Ausbruch äußerst schmerzhafter, auf ein oder zwei Dermatome beschränkter, vesikulärer Effloreszenzen. Zoster tritt während der Lebenszeit von 10 bis 20 % der Virusträger auf. Bei Patienten mit stark geschwächter Immunität kann sich das Virus verbreiten und ein generalisiertes Kutansyndrom, Pneumonie oder Enzephalitis hervorrufen. Obwohl das gehäufte Auftreten von Herpes Zoster auf die Möglichkeit von Reinfektionen schließen lässt,² trägt die zunehmende Anwendung von Immunsuppressiva, die den Latenzzustand des Virus unterbrechen, zur steigenden Inzidenzrate bei. Postherpetische Neuralgien können sehr schwer und kräftezehrend verlaufen.

Auch inapparente Varizellen- bzw. Herpes-Zoster-Infektionen können zu einem Anstieg des Antikörpertiters führen.³ In einer serologischen Studie konnten VZV-Antikörper bei einem Drittel der teilnehmenden Kinder ohne manifeste Erkrankung in der Anamnese nachgewiesen werden.⁴ Bei positivem Antikörpertest bzw. einem Anstieg des Antikörpertiters müssen daher nicht unbedingt gleichzeitig manifeste Symptome auftreten.

Die Behandlung der Infektion erfolgt mit Aciclovir, Alpha-Interferon und Zoster-Immunglobulin (ZIG). Die prophylaktische Gabe von ZIG bei Kindern mit hohem Risiko – insbesondere Kindern mit Leukämie bzw. Lymphomen oder mit Immunschwäche sowie Kindern unter Immunsuppressiva – kann zu passivem Impfschutz oder subklinischer Erkrankung, gelegentlich aber auch zu schwerer Erkrankung führen.⁴ Dabei scheint der Zeitraum zwischen Exposition und Behandlung entscheidend zu sein.⁵

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Der **VZVscan Card Test** folgt den anerkannten Prinzipien der Latex-Agglutination und verwendet mit VZV-Antigen beschichtete Polystyren-Latexpartikel. Wird dieses Reagenz mit Humanserum gemischt, das Antikörper gegen VZV enthält, findet eine Reaktion statt, die sich in einer sichtbaren Agglutination (Verklumpung) auf der Oberfläche der Testkarte niederschlägt. Der Test wird makroskopisch ohne mechanische Hilfsmittel abgelesen. Sind keine VZV-spezifischen Antikörper vorhanden, findet keine Agglutination statt und die Oberfläche bleibt glatt und milchig.

Der **VZVscan Test** kann verwendet werden, um festzustellen, ob Serumproben negativ oder positiv für VZV-Antikörper sind. Außerdem kann mit Hilfe von Reihenverdünnungen (Verdünnungsfaktor 2) der relative Antikörpertiter festgestellt werden.

REAGENZIEN

- Reagenz A,** **VZVscan** Latex Antigen, mit partiell gereinigtem, inaktiviertem Varizellen-Zoster-Antigen sensibilisierte Polystyrenpartikel, mit 0,2 % Natriumazid und 0,025 % Gentamicin in Glycerinpuffer.
- Reagenz B,** **VZVscan** Card Dilution Buffer Glycerinpuffer mit 0,1 % Natriumazid und 0,025 % Gentamicin.
- Kontrolle ++,** **VZVscan** High Reactive Control (Humanserum), mit Antikörpern gegen das Varizellen-Zoster-Virus.
- Kontrolle +,** **VZVscan** Low Reactive Control (Humanserum), mit Antikörpern gegen das Varizellen-Zoster-Virus.
- Kontrolle –,** **VZVscan** Nonreactive Control (Humanserum), nicht reaktiv gegen das Varizellen-Zoster-Virus; alle Kontrollen mit 0,1 % Natriumazid.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Nach einer Prüfung seitens der U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) und der U.S. Food and Drug Administration (FDA) gemäß dem CLIA '88 wurde dieses Produkt als ein Produkt mäßiger Komplexität identifiziert.

Reagenzien: Verfallsdatum beachten. Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (23 bis 29 °C) erwärmen. AUSSCHLIESSLICH Reagenzien derselben Chargen-Nr. verwenden.

Zum Einstellen einer exakten Tropfengröße und um die Abgabe freifallender Tropfen zu gewährleisten, muss das Tropffläschchen beim Auftragen des **VZVscan Reagenz A** senkrecht gehalten werden.

Reagenz A wurde aus aufgespaltenem, im Bioassay als inaktiviert befundenem Impfstammvirus gewonnen.

Die Kontrollseren werden aus Humanblut gewonnen, das zuvor mit einer von der FDA genehmigten Methode zum Nachweis von HIV-Antikörpern (Human Immunodeficiency Virus) sowie von HBsAg (hepatitis B surface antigen) getestet und als nicht reaktiv befunden wurde.

Warnung: Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z.B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁶⁻⁹ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten.

Warnung: Die Reagenzien enthalten Natriumazid. Sehr giftig beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken. Bei Kontakt mit Säuren entstehen hochgiftige Gase. Bei Kontakt mit Haut sofort gründlich mit Wasser waschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferrohren reagieren und dabei hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen zu vermeiden.

Testkarten: Zur Erzielung eines korrekten Testergebnisses ist darauf zu achten, dass die Testkarte nicht gebogen ist. Karte, falls erforderlich, vorsichtig entgegen der Wölbung geradebiegen. Testfelder nicht berühren, da eventuelle Fettschichten zu falschen Ergebnissen führen können. Jede Testkarte nur einmal verwenden und danach verwerfen. Karten in der Originalpackung an einem trockenen Ort bei Raumtemperatur aufbewahren.

Ablesen der Testergebnisse: Vor dem AbleSEN muss die Karte nach der mechanischen Rotation kurz von Hand gedreht werden. Die Ergebnisse sollten sofort unter einer starken Lichtquelle abgelesen werden, wobei der Abstand zwischen der Karte und der Lichtquelle mindestens 15 cm betragen sollte. Leuchtstofflampen reichen gewöhnlich nicht aus, um minimal reaktive Ergebnisse erkennen zu können. Eine Lupe o. ä. wird zum AbleSEN der Testergebnisse nicht empfohlen.

Rotation: Die empfohlene Rotationsgeschwindigkeit für mechanische Rotation beträgt 100 ± 2 U/Min., eine Geschwindigkeit zwischen 95 und 110 U/Min. beeinflusst die Ergebnisse jedoch nicht wesentlich. Der Rotator sollte einen horizontalen Kreis von ca. zwei Zentimetern Durchmesser beschreiben. Um zu vermeiden, dass die Proben dabei austrocknen, sollte während des Rotationsvorgangs ein Verdunstungsschutzdeckel verwendet werden.

Aufbewahrung der Reagenzien: Bei 2 bis 8 °C kühl aufbewahren. NICHT EINFRIEREN. Durch Erwärmen über 32 °C oder Einfrieren der Reagenzien verliert der Test seine Reaktionsfähigkeit. Reagenzfläschchen nach Gebrauch wieder verschließen und im Kühlschrank aufbewahren.

PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Vollblut sollte durch Venenpunktur entnommen und vom Serum ohne die Verwendung von Antikoagulantien abgetrennt werden. Über die Verwendung von Plasma liegen keine Erfahrungen vor. Hitzeinaktivierung des Serums hat keinen negativen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit des Tests. Proben, die offensichtlich mikrobiell kontaminiert sind, nicht verwenden; Lipämie oder Hämolyse beeinflussen den Test jedoch nicht. Die Seren können bis zu 48 Stunden bei 2 bis 8 °C aufbewahrt werden. Längerfristige Lagerung sollte in einem Gefrierschrank ohne Abtauautomatik erfolgen.

Zur Beurteilung einer aktiven Infektion mit dem **VZVscan**-Test sollte die erste Serumprobe möglichst bald nach Beginn der Erkrankung entnommen werden. Eine weitere Serumprobe wird 10 bis 14 Tage später während der Rekonvaleszenz entnommen. Beide Proben sollten gleichzeitig getestet werden.

Eine spezielle Behandlung des Patienten vor der Probenentnahme ist nicht erforderlich.

VERFAHREN

Vor der Durchführung des Tests die Abschnitte „Sicherheitshinweise“ sowie „Probenentnahme und -vorbereitung“ gut durchlesen. Die Testfläche, alle Reagenzien, das gesamte Untersuchungsmaterial sowie die Verbrauchsmaterialien sollten bei Gebrauch Raumtemperatur (23 bis 29°C) aufweisen.

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:	Nr. 254126 (30 Tests)	Nr. 254201 (100 Tests)
Reagenz A, VZVscan Latex Antigen,	0,5 mL	1,6 mL
Reagenz B, VZVscan Card Dilution Buffer,	5,0 mL	20,0 mL
Kontrolle ++, VZVscan High Reactive Control (Humanserum)	0,5 mL	0,5 mL
Kontrolle +, VZVscan Low Reactive Control (Humanserum)	0,5 mL	0,5 mL
Kontrolle –, VZVscan Nonreactive Control (Humanserum)	0,5 mL	0,5 mL
Testkarten, und Test-Einwegmaterialien und -zubehör.	5	8

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Rotator mit Verdunstungsschutzdeckel, Mikropipetten mit 25 µL Festvolumen, Zentrifuge und starke Lichtquelle.

Ferner werden die zur Vorbereitung, Lagerung und Verarbeitung der klinischen Proben verwendeten Geräte und Laborutensilien benötigt.

Qualitatives Screening Verfahren

Dieses Verfahren kann als Screeningtest verwendet werden, um festzustellen, ob Patientenserum reaktiv oder nicht reaktiv auf VZV-Antikörper sind, und um die Reaktivität des VZVscan Latex **Reagenz A** mit Hilfe der beigefügten reaktiven und nicht reaktiven Kontrollserum zu testen.

1. Verdünnung von Serumproben
 - a. Mit einer Mikropipette 25 µL **Reagenz B** auf ein rundes Testfeld auftragen.
 - b. Mit der gleichen Mikropipette und einer neuen Pipettenspitze 25 µL der **Kontrolle +, –** oder Patientenserum zu **Reagenz B** im entsprechenden Testfeld pipettieren. Durch 7-maliges Aufziehen und Entleeren der Pipette mischen. Für jede Serumprobe muss eine neue Pipettenspitze verwendet werden.
 - c. 25 µL dieser Mischung aus dem Testfeld entnehmen und verwerfen. Die Verdünnung des Serums im Testfeld beträgt jetzt 1:2.
 - d. Die Schritte „a“ bis „c“ für jede zu testende Probe wiederholen.
2. Für jede Serumprobe ein neues Plastikrührstäbchen verwenden und damit das verdünnte Serum über das gesamte Testfeld verteilen.
3. **Reagenz A** durch mehrmaliges Kippen des Fläschchens mischen. Das Fläschchen senkrecht nach unten halten und 1 Tropfen in jedes Testfeld mit verdünntem Serum auftragen.
4. Testkarte drei- bis viermal von Hand hin- und herschwenken, um das Latex-Antigen gleichmäßig in den Testfeldern zu verteilen. Kreuzkontamination benachbarter Testfelder vermeiden.
5. Testkarte auf einen Rotator legen und 10 Min. unter einem befeuchteten Verdunstungsschutzdeckel rotieren lassen.
6. Nach der mechanischen Drehung die Testkarte sofort makroskopisch in noch feuchtem Zustand unter einer starken Lichtquelle ablesen. Wird die Karte leicht schräg gehalten und 3 oder 4 Mal in beide Richtungen geneigt, ist es leichter, eine schwache Agglutination von einer nicht eingetretenen Agglutination zu unterscheiden.
7. Das reaktive Kontrollserum sollte eine sichtbare Agglutination aufweisen, während das nicht reaktive Kontrollserum keine Agglutination aufweisen sollte (Abb. 1).

Als positiv zu interpretieren:

Reaktiv-----Sichtbare Agglutination des VZVscan Latex-Antigens
(Reagenz A).

Als negativ zu interpretieren:

Nicht reaktiv-----Suspension bleibt gleichmäßig verteilt und es erfolgt
keine Agglutination des VZVscan Latex-Antigens
(Reagenz A).



Um die Möglichkeit von falsch-negativen Ergebnissen durch das Prozonenphänomen (s. „Methodische Einschränkungen“) zu vermeiden, sollte das folgende Testprotokoll mit einer Serumverdünnung von 1:40 durchgeführt werden:

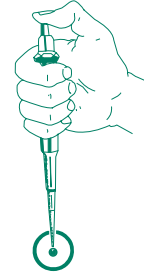
- a. Mit einer Mikropipette eine Verdünnung im Verhältnis 1:40 zubereiten. Dazu 190 µL **Reagenz B** in ein Teströhrchen (z.B. 12 X 75 mm) pipettieren.
- b. Mit einer Mikropipette 10 µL der Serumprobe in das Teströhrchen geben und durch 7-maliges Aufziehen und Entleeren der Mikropipette mischen.
- c. Mit einer Mikropipette 25 µL des **Reagenz B** auf ein rundes Testfeld auftragen.
- d. Mit einer Mikropipette 25 µL des verdünnten Serums zu **Reagenz B** im entsprechenden Testfeld pipettieren. Durch 7-maliges Aufziehen und Entleeren der Pipette mischen.
- e. 25 µL dieser Mischung aus dem Testfeld entnehmen und verwerfen. Die Verdünnung des Serums im Testfeld beträgt jetzt 1:40.
- f. Die Schritte „a“ bis „e“ für jede zu testende Probe wiederholen.
- g. Gemäß den o.g. Schritten 2 bis 6 fortfahren.

Quantitativer Titer Verfahren

Dieses Verfahren kann zur Quantifizierung des relativen Antikörperspiegels von Patientenserum und des positiven Kontrollserum im **VZVscan** verwendet werden. Erreicht das stark positive Kontrollserum nicht den auf dem Etikett angegebenen Titer, muss der Test wiederholt werden.

1. Verdünnung von Serumproben

- Mit einer Mikropipette 25 µL **Reagenz B** auf die runden Testfelder 1 – 5 auftragen.
- Mit der Mikropipette und einer neuen Pipettenspitze 25 µL **Kontrolle ++**, - oder Patientenserum zu **Reagenz B** in Testfeld 1 geben. Durch 7-maliges Aufziehen und Entleeren der Mikropipette mischen. Damit wird eine Probenverdünnung von 1:2 erreicht. Für jede Serumprobe muss eine neue Pipettenspitze verwendet werden.
- Mit derselben Mikropipette und derselben Pipettenspitze 25 µL der 1:2 Verdünnung direkt zum Verdünnungspuffer in Testfeld 2 geben. Wie zuvor mischen und die Reihenverdünnung im Verhältnis 1:2 bis zu Testfeld 5 fortsetzen. 25 µL der Verdünnung von Testfeld 5 entnehmen und verwerfen. Die Verdünnung der Serumprobe in Testfeld 5 beträgt jetzt 1:32.
- Die Schritte „a“ bis „c“ für jede zu testende Probe wiederholen.



HINWEIS: Zusätzliche Serumverdünnungen im Verhältnis 1:2 können mit den Schritten „a“ bis „c“ in anderen Testfeldern zubereitet werden.

- Für jede Serumprobe ein neues Plastikrührstäbchen verwenden und damit zuerst in Testfeld 5 das verdünnte Serum über das gesamte Testfeld verteilen. Die Proben in den restlichen Testfeldern in der Reihenfolge 4 - 3 - 2 - 1 gleichsam verteilen.
- Reagenz A** durch mehrmaliges Kippen des Fläschchens mischen. Das Fläschchen senkrecht nach unten halten und 1 Tropfen in jedes Testfeld mit verdünntem Serum auftragen.
- Testkarte drei- bis viermal von Hand hin- und herschwenken, um das Latex-Antigen gleichmäßig in den Testfeldern zu verteilen. Kreuzkontamination benachbarter Testfelder vermeiden.
- Testkarte auf einen Rotator legen und 10 Min. unter einem befeuchteten Verdunstungsschutzdeckel rotieren lassen.
- Nach der mechanischen Drehung die Testkarte sofort makroskopisch in noch feuchtem Zustand unter einer starken Lichtquelle ablesen. Wird die Karte leicht schräg gehalten und 3 oder 4 Mal in beide Richtungen gereinigt, ist es leichter, eine schwache Agglutination von einer nicht eingetretenen Agglutination zu unterscheiden. Sichtbare Latexanhäufung mit einer rauen Beschaffenheit zeigt eine schwache Agglutination an. Bei einer nicht eingetretenen Agglutination erscheint die Oberfläche glatt und milchig.
- Der Antikörpertiter ist der Reziprokwert der letzten Verdünnungsstufe, bei der der Test positiv ausfällt (z.B. 1:32 wird zu einem Titer von 32).

Qualitätskontrolle: Die reaktiven Kontrollseren sind so angelegt, dass sie in den entsprechend gekennzeichneten Verdünnungen eine eindeutige Agglutination hervorrufen. Die Ergebnisse sind nur dann als „reaktiv“ zu interpretieren, wenn eine eindeutige Agglutination zu beobachten ist; dadurch wird gleichzeitig der Beweis erbracht, dass das Antigen-Antikörpersystem unter den gegebenen Testbedingungen ordnungsgemäß wirkt. Die nicht reaktive Kontrolle darf keine Agglutination aufweisen. Zeigen die Kontrollseren keine entsprechende Reaktion, so ist der Test ungültig. Ist bei der Verdünnung im Verhältnis 1:2 des stark reaktiven Kontrollserums nur eine schwache oder gar keine Agglutination zu beobachten, so kann dies die Folge des Prozenphenomens sein. Das schwach reaktive Kontrollserum und das nicht reaktive Kontrollserum sollten zumindest an all den Tagen, an denen das Kit verwendet wird, getestet werden.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten NCCLS-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Qualitatives Testverfahren: Eine einzelne Serumprobe kann als positiv für VZV-Antikörper gewertet werden, wenn ohne die Verwendung mechanischer Geräte eine Agglutination (Verklumpung) sichtbar ist. Falls bei der Verdünnung von 1:2 und 1:40 keine Agglutination eintritt, ist die Probe als negativ für VZV-Antikörper zu werten.

Quantitatives Testverfahren: Die Reaktivität wird an dem höchsten Verdünnungswert, der eine Agglutination der **VZVscan**-Latex-Reagenz zeigt, ermittelt. Proben, die in keinem Verdünnungsstadium eine Agglutination aufweisen, werden als nicht reaktiv gewertet. Serumpaare, die im Abstand von 10 – 14 Tagen abgenommen wurden und verglichen werden sollen, sollten gleichzeitig getestet werden. Ein Titeranstieg auf das Vierfache im Rekonvaleszenz-Serum gegenüber dem akuten Stadium oder eine Serokonversion von einem negativen zu einem positiven Ergebnis bedeutet, dass eine aktive Infektion oder ein Rezidiv vorliegt.¹⁰

Beispiel:	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Stark reaktives Kontrollserum ++	R	R	R	R	R	R
Schwach reaktives Kontrollserum +	R	R	R	N	N	N
Nicht reaktives Kontrollserum –						
Proben-Nr. 1	R	R	N	N	N	N
Proben-Nr. 2	R	R	R	R	R	N

	R = Reaktiv	N = Nicht reaktiv
Interpretieren als:	Stark reaktives Kontrollserum	– Reaktiv, ≥ 1:64-Verdünnung
	Schwach reaktives Kontrollserum	– Reaktiv, 1:8-Verdünnung
	Nicht reaktives Kontrollserum	– Nicht reaktiv
	Proben-Nr. 1	– Reaktiv, 1:4-Verdünnung
	Proben-Nr. 2	– Reaktiv, 1:32-Verdünnung

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Bei Patienten mit positiven Titern aufgrund natürlicher Immunität kann es zu einer Reinfektion kommen. In einer Studie wurde eine Reinfektionsrate von 6 % festgestellt.¹ Seltene Fälle von Patienten mit positiven Antikörpertests bei der Verdünnungsstufe 1:2 zeigen negative Ergebnisse bei einer Verdünnung von 1:4. Für diese Patienten besteht wahrscheinlich ein höheres Risiko einer Infektion mit infektiösem VZV, als für Patienten mit einer Verdünnung von 1:8 oder höher von VZV-spezifischem Immunglobulin im Serum; dies ist jedoch nicht nachgewiesen. Bei Screeningtests mit Hochrisikopatienten, bei denen keine vorherige Infektion vorliegt, können quantitative Titer zusätzliche, für den klinischen Entscheidungsprozess nützliche Informationen liefern.

Serumantikörper-Titer werden für den Nachweis von akuter (aktiver) Infektion nicht empfohlen, da im frühen Infektionsstadium kaum Antikörper nachzuweisen sind, da bei Serumverdünnungen von weniger als 1:40 das Prozonenphänomen auftreten kann und da bei einigen immunsupprimierten Patienten die Antikörperreaktion ausbleiben kann. In solchen Fällen ist ein direktes Testen auf das Virus oder Antigen in den Läsionen vorzuziehen.

Es ist nicht auszuschließen, dass in Serum mit einem ungewöhnlich hohen VZV-Antikörpertiter das Prozonenphänomen auftritt. Wird die Bestätigung eines negativen Ergebnisses gewünscht, wie z.B. bei Hochrisikopatienten, sollte die Probe wie im Abschnitt „Qualitatives Screening“ beschrieben, noch einmal mit einer Verdünnung von 1:40 mit Probenverdünnungspuffer getestet werden.

Der Test sollte bei einer Temperatur von 23 bis 29 °C durchgeführt werden. Temperaturen, die außerhalb dieses Bereiches liegen, können zu falsch-positiven Ergebnissen führen.

Karten, die zu nahe an die Lichtquelle gehalten werden, können zu starker Hitze ausgesetzt sein. Dies kann bewirken, dass die Reagenzien austrocknen und somit zu falsch-positiven Ergebnissen führen.

Passiv erworbene Immunglobuline im Serum von Patienten, die innerhalb der letzten drei bis sechs Monate Varizellen-Zoster-Immunglobulin (VZIG) oder Blutprodukte erhalten haben, können zu positiven Testresultaten führen. In solchen Fällen kann nicht feststellbar sein, ob der Patient schon einmal eine VZV-Infektion durchgemacht hat.

Wird für die Analyse Nabelschnurblut oder Blut von Neugeborenen verwendet, ist bei der Auswertung der Ergebnisse Vorsicht geboten, da eine passive Übertragung der IgG-Antikörper von der Mutter auf das Kind stattgefunden haben kann.

Primärinfektionen durch andere Herpesviren können einen entsprechenden Anstieg des Antikörpertiters aufgrund einer früheren VZV-Infektion verursachen.^{11,12}

Serokonversion oder ein Anstieg des Antikörpertiters auf das Vierfache oder mehr sind die klassischen Kriterien für eine frische Virusexposition. Die Testergebnisse müssen jedoch im Zusammenhang mit der klinischen Symptomatik, der Anamnese und anderen Laborergebnissen beurteilt werden, um die Diagnose zu stellen.

ZU ERWARTENDE WERTE UND LEISTUNGSMERKMALE

Es gibt verschiedene Methoden zum Nachweis von VZV-Antikörpern in Humanserum; z.B. den FAMA-Test, den indirekten Immunofluoreszenztest, den Immunoadhärenz-Hämagglutinationstest, den Neutralisationstest, den indirekten Hämagglutinationstest, die Komplementfixation und Enzymimmunoassays.

Der FAMA-Test ist einer der ältesten und zuverlässigsten Tests zum Nachweis von Antikörpern und gilt als Standardmethode.

Einhundertachtzig Serumproben von gesunden Spendern wurden mit zwei handelsüblichen ELISA-Testkits getestet, und die Ergebnisse dieser Tests wurden mit denen des VZVscan Latex-Agglutinationstest verglichen. Der qualitative Test ergab eine Übereinstimmung von insgesamt 97,8 % zwischen den ELISA-Tests und den VZVscan Latex-Agglutinationstests (Tabellen 1a und 1b).

Tabelle 1 a
Qualitative Übereinstimmung
zwischen dem BioWhittaker VZ
Stat ELISA-Test und dem
VZVscan Latex Agglutinationstest (LA)

		ELISA	
		+	-
LATEX	+	41	2
	-	1	45

Sensitivität = $41/42 = 97,6 \%$
Spezifität = $45/47 = 95,7 \%$
Genauigkeit = $86/89 = 96,0 \%$

Tabelle 1 b
Qualitative Übereinstimmung
zwischen dem Diamedix
VZV ELISA-Test und dem
VZVscan Latex Agglutinationstest (LA)

		ELISA		
		+	-	Equiv
LATEX	+	79	0	1
	-	0	6	0

Sensitivität = $79/79 = 100,0 \%$
Spezifität = $6/7 = 86,0 \%$
Genauigkeit = $85/86 = 98,8 \%$

Seren von 50 Erwachsenen ohne Varzellenerkrankung in der Anamnese wurden auf VZV-Antikörper getestet. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 2 ersichtlich. Im FAMA-Test wurden 34 von 50 positiven Seren richtig identifiziert (68 %), im Latex-Agglutinationstest (LA) und im ELISA-Test waren es 36 (72 %) bzw. 30 (60 %); die Richtigkeit der beiden letztgenannten Tests im Vergleich zum FAMA-Test lag bei 92 %.

Ein Vergleich zwischen dem FAMA-Test (a) und dem VZVscan Latex-Agglutinationstest und dem ELISA-Test (b) mit Seren von Erwachsenen ohne Varzellenerkrankung in der Anamnese

Tabelle 2 a

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	33	3
	-	1	13

Sensitivität = $33/34 = 97,0\%$
 Spezifität = $13/16 = 81,3\%$
 Genauigkeit = $46/50 = 92,0\%$

Tabelle 2 b

		FAMA	
		+	-
ELISA	+	30	0
	-	4	16

Sensitivität = $30/34 = 88,2\%$
 Spezifität = $16/16 = 100,0\%$
 Genauigkeit = $46/50 = 92,0\%$

a Fluoreszenz-Antikörpertest gegen Membranantigen (Columbia University, USA)

b VZV STAT (BioWhittaker USA)

Seren von 18 Erwachsenen mit Varzellenerkrankung in der Kindheit erwiesen sich mit dem FAMA- und dem LA-Test als positiv, wie in Tabelle 3 aufgeführt.

Seren von 15 Kindern und Erwachsenen vor der klinischen Varzellenerkrankung erwiesen sich sowohl mit dem FAMA- und LA-Test als negativ. Seren, die denselben Personen nach der klinischen Varzellenerkrankung entnommen wurden, erwiesen sich sowohl beim FAMA- als auch beim LA-Test (Tabelle 4) als positiv.

Tabelle 3

Ein Vergleich zwischen dem FAMA-Test und dem VZVscan Latex-Agglutinationstest mit Seren von 18 Erwachsenen mit einer Varzellenerkrankung

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	18	0
	-	0	0

Sensitivität = $18/18 = 100\%$

Tabelle 4

Ein Vergleich zwischen dem FAMA-Test und dem VZVscan Latex-Agglutinationstest mit 15 Seren von Kindern und Erwachsenen vor und nach der klinischen Varzellenerkrankung

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	15	0
	-	0	15

Sensitivität = $15/15 = 100\%$
 Spezifität = $15/15 = 100\%$
 Genauigkeit = $30/30 = 100\%$

Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse eines Vergleichs, bei dem Seren von 44 Kindern am 1. Tag der Varzellenerkrankung sowohl beim FAMA- als auch beim LA-Test als VZV-negativ erwiesen. Am 28. Tag jedoch, während der Rekonvaleszenz, erwiesen sich alle 44 Kinder beim FAMA- und LA-Test als positiv (die Titer reichten von 64 bis 1024) Mit beiden Tests konnte eine 100%ige Serokonversion erfasst werden.

Tabelle 5

Ein Vergleich zwischen dem FAMA-Test und dem VZVscan Latex-Agglutinationstest Mit Seren von 44 Kindern am 1. Tag der Windpocken und am Tag 28 der Rekonvaleszenz

TAG 1 DER WINDPOCKEN

TAG 28 DER REKONVALESENZ

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	0
	-	0	44

Spezifität = $44/44 = 100\%$

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	44	0
	-	0	0

Sensitivität = $44/44 = 100\%$

Tabelle 6 enthält die Ergebnisse eines Vergleichs zwischen dem FAMA und dem LA-Test bei der Untersuchung von im FAMA-Test VZV-negativen Serumproben von 83 normalen, zur Impfung ausgewählten Erwachsenen.

Tabelle 6

Ein Vergleich zwischen dem FAMA-Test und dem VZVscan Latex-Agglutinationstest mit Seren von 83 normalen Erwachsenen vor der Impfung

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	3*
	-	0	80*

Spezifität = $80/83 = 96,4\%$

*Diese 3 Proben waren ebenfalls bei ELISA VZ STAT (BioWhittaker, USA) positiv.

In der Tabelle 6a ist ein Vergleich aufgeführt zwischen dem FAMA- und dem LA-Test unter Verwendung von VZV-positiven Seren von 5 geimpften Kindern mit Leukämie, die bei dokumentiertem Kontakt mit Windpocken einen um das Vierfache angestiegenen VZV-Antikörpertiter entwickelten. Alle Serumprobenpaare wurden gleichzeitig in einem Durchgang getestet.

Tabelle 6 a

Ein Vergleich zwischen dem FAMA-Test und dem VZVscan Latex-Agglutinationstest mit Seren von geimpften leukämischen Kindern vor und nach dokumentiertem Kontakt mit Windpocken

Patient	Datum	Titer nach dem Kontakt		Datum des dokumentierten Kontakts mit Windpocken*	Datum	Titer nach der Impfung	
		FAMA**	LA			FAMA	LA
1	09/30/86	16	128	10/17/86	11/25/86	64	512
2	11/17/86	16	64	05/22/87	06/15/87	64	512
3	02/20/85	4	16	03/21/85	04/29/85	64	512
4	04/15/86	8	16	04/10/87	04/21/87	256	512
5	11/13/86	8	8	12/11/86	12/16/86	256	32

* Dokumentierter Kontakt zu Hause oder mehrfacher Kontakt in der Schule.

** Daten bereitgestellt von Dr. Anne Gershon und Sharon P. Steinberg, Columbia University, USA

Keine Kreuzreaktivität mit anderen Herpesviren: Fünfzehn Serumproben von Erwachsenen erwiesen sich sowohl im FAMA als auch im LA-Test als VZV-Antikörper-negativ. Diese Serumproben wurden mit Hilfe handelsüblicher Testkits zum Antikörpernachweis auf andere Herpesviren-Antikörper untersucht. In allen Seren wurden Antikörper gegen mindestens ein anderes Herpesvirus (13 EBV, 5 CMV, 11 HSV) nachgewiesen (s. Tabelle 7). Dieses Ergebnis zeigt, dass zwischen Antikörpern gegen andere Herpesviren und den VZV-Antigenen im VZVscan Latex-Agglutinationstest keine Kreuzreaktivität besteht.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bei mehrmaligem Testen mit demselben VZVscan Latex-Agglutinationstest wurde durch fünfmalige Untersuchung von vier Serumproben (eine stark positiv, eine mäßig positiv, eine schwach positiv, eine negativ) geprüft. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 8 ersichtlich. Alle Wiederholungstests ergaben für jede der Serumproben denselben Agglutinationstiter.

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bei Verwendung drei verschiedener Testchargen wurde durch die Bestimmung der Agglutinationstiter von vier Serumproben (eine stark positiv, eine mäßig positiv, eine schwach positiv, eine negativ) mit VZVscan Latex-Reagenz geprüft. Zwischen den einzelnen Chargen mit VZVscan Latex-Reagenz waren keine signifikanten Schwankungen (\pm eine Verdünnung) der gemessenen Agglutinationstiter festzustellen

Tabelle 7

Nichtvorhandensein von Kreuzreaktionen mit anderen Herpesviren

Serumprobe ^a	VZV ^b	HSV ^c	CMV ^d	EBV ^e
A 7B	-	-	-	120
A10B	-	1024	-	14 ^f
A19B	-	-	-	18 ^f
A28B	-	256	512	164
A55B	-	512	256	288
A60B	-	1024	-	145
A95B	-	64	-	81
A108B	-	64	-	95
A114B	-	-	512	161
A148B	-	128	-	166
A150B	-	128	-	227
A152B	-	512	-	184
A177B	-	64	256	148
A190B	-	-	-	94
A251B	-	256	64	97

a Normalen Erwachsenen entnommene Serumproben.

b VZVscan Latex Agglutination Test und FAMA-Test (Columbia University, USA).

c Virogener HSV Ab-Latextest (Wampole Laboratories, USA).

d CMVscan (Becton, Dickinson and Company, USA).

e EB-VCA G FIAX (BioWhittaker USA).

f Zweideutig.

Tabelle 8

Reproduzierbarkeit innerhalb des Testlaufs				
Test	Serumtiter			
	Hoch	Medium	Niedrig	Negativ
1	256	32	4w ^a	< 2
2	256	32	4w	< 2
3	256	32	4w	< 2
4	256	32	4w	< 2
5	256	32	4w	< 2
Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge				
VZV-Latex- -Charge	Serumtiter			
	Hoch	Medium	Niedrig	Negativ
#1	256	32	4w ^a	< 2
#2	256	32	2	< 2
#3	256	32	2	< 2

^a, w = schwache Agglutination

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr.	Beschreibung	Best.-Nr.	Beschreibung
254126	VZVscan: 30 Tests per Testkit (<i>Qualitativ</i>).	277979	Macro-Vue-Kartentest-Rotator-Zubehörset, Inhalt: ein Aufsatz (38 x 18 cm) und zwei Verdunstungsschutzdeckel.
254201	VZVscan: 100 Tests pro Testkit (<i>Qualitativ</i>).		
278501	Macro-Vue-Kartentest-Rotator (mit Verdunstungsschutzdeckel), 100 ± 2 U/min, automatischer Zeitschalter, Reibradantrieb, Modell 51-II (110 V) und Modell 54 (220 V).	273310	Pipettenspitzen (Packung mit 1000 Stück).

(siehe Tabelle 8).



BD VZVscan

Varicella-zoster Virus Antibody Card Test

Per la determinazione qualitativa o quantitativa degli anticorpi anti virus della varicella zoster nel siero umano

Italiano

USO PREVISTO

Il test su cartoncino **VZVscan** (virus della varicella-zoster) è un test qualitativo e quantitativo di agglutinazione al latex che utilizza particelle di polistirene sensibilizzate con antigeni del virus della varicella-zoster (VZV) attenuati, parzialmente purificati, per la rilevazione degli anticorpi anti-VZV totali nel siero umano.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il virus della varicella-zoster è l'agente eziologico della varicella e dell'herpes zoster. Per quanto concerne l'incidenza delle malattie notificate negli Stati Uniti, la varicella è seconda soltanto alla gonorrea e la relativa diagnosi sierologica è volta pertanto a determinare l'immunità specifica degli individui suscettibili in gruppi ad alto rischio, quali pazienti immunocompromessi o trapiantati, personale sanitario e donne in gravidanza. L'identificazione degli anticorpi può inoltre essere utilizzata per agevolare la differenziazione di lesioni vescicopapulose secondarie ad altre malattie, quali herpes simplex, rickettsialpox e sifilide secondaria. Con i vaccini anti virus varicella-zoster attualmente allo studio, lo screening anticorpale generale può assumere un ruolo più rilevante.

La varicella è di norma una malattia infantile benigna, caratterizzata da un periodo di incubazione di 10 – 21 giorni (mediamente 14 gg.), 1 – 2 giorni di disseminazione virale, seguita da eruzioni generalizzate di singole maculopapule che si trasformano rapidamente in vescicole, in continua comparsa per 4 – 5 giorni. I pazienti al di sopra dei 20 anni e, in misura minore, quelli al di sotto dell'anno di età, sono a maggiore rischio di complicanze. IgG specifiche sono rilevabili entro 4 – 5 giorni dalla comparsa dei sintomi e persistono generalmente tutta la vita. Un singolo campione di siero può pertanto essere analizzato per determinare la positività o la negatività per gli anticorpi anti-VZV come indice di precedente esposizione al virus. GLI ANTICORPI NON SONO PROTETTIVI AL 100%

E, SEPPURE RARAMENTE, POSSONO INSORGERE INFEZIONI SECONDARIE.¹ (Vedere "Limitazioni della procedura"). Come per altri virus dell'herpes, esiste tuttavia un reservoir permanente nei gangli sensitivi e può verificarsi una recrudescenza dell'attacco primario negli anziani o in soggetti altrimenti immunodepressi. Questo si manifesta in genere – durante l'arco della vita del 10 – 20% degli individui – come herpes zoster, un'eruzione vescicolare estremamente dolorosa di norma limitata a uno o due dermatomeri. Nei soggetti gravemente immunocompromessi, il virus può diffondersi producendo una sindrome cutanea disseminata, polmonite o encefalite. Anche se cluster di casi di infezioni da zoster suggeriscono la possibilità di reinfezione,² l'uso crescente di terapie immunosoppressive che alterano lo stato di latenza virale contribuisce all'aumentata incidenza. La neuralgia post-erpetica può essere grave e debilitante.

Sia per varicella sia per zoster, l'infezione inapparente può essere accompagnata da un aumento del titolo anticorpale.³ Uno studio sierologico su bambini senza anamnesi di malattia ha dimostrato la presenza di anticorpi anti-VZV in un terzo dei soggetti esaminati.⁴ Di conseguenza, uno screening positivo o un aumento del titolo anticorpale non sono necessariamente accompagnati da sintomi clinici.

Le terapie disponibili per l'infezione includono aciclovir, alfa interferone e immunoglobuline specifiche (ZIG). L'uso di ZIG come misura preventiva in bambini ad alto rischio – particolarmente quelli con leucemia o linfoma, sindromi di immunodeficienza o sottoposti a terapia immunosoppressiva – può determinare protezione, infezioni subcliniche o malattia grave occasionale.⁴ Sembra che il periodo intercorrente tra esposizione e trattamento sia critico.⁵

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test su cartoncino VZVscan segue i principi definiti per l'agglutinazione al latex e utilizza particelle di latex di polistirene rivestite di antigeni VZV. La miscelazione di questo reagente con siero umano contenente anticorpi anti-VZV provoca una reazione, con conseguente agglutinazione visibile sulla superficie del cartoncino. L'analisi è verificabile macroscopicamente, senza l'ausilio di dispositivi meccanici. In assenza di anticorpi specifici anti-VZV, non si verifica alcuna agglutinazione e la sospensione si mantiene omogenea e lattiginosa.

Il test VZVscan può essere usato per lo screening di campioni di siero positivi o negativi per gli anticorpi anti-VZV, oppure si possono effettuare diluizioni seriali al raddoppio per ottenere un titolo del livello anticorpale relativo.

REAGENTI

- Reagente A,** VZVscan Latex Antigen (antigene al latex VZVscan), particelle di polistirene sensibilizzate con antigeni inattivati del virus della varicella-zoster, parzialmente purificati, con sodio azide allo 0,2% e gentamicina allo 0,025% di gentamicina in un tampone di glicina.
- Reagente B,** VZVscan Card Dilution Buffer (tampone di diluizione VZVscan), tampone di glicina contenente sodio azide allo 0,1% e gentamicina allo 0,025%.
- Controllo ++,** VZVscan High Reactive Control (controllo VZVscan altamente reattivo) (siero umano), contenente anticorpi contro il virus della varicella-zoster.
- Controllo +,** VZVscan Low Reactive Control (controllo VZVscan debolmente reattivo) (siero umano), contenente anticorpi contro il virus della varicella-zoster.
- Controllo –,** VZVscan Nonreactive Control (controllo VZVscan non reattivo) (siero umano), non reattivo al virus della varicella-zoster; tutti i controlli contengono sodio azide allo 0,1%.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

In seguito alla valutazione compiuta dai Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e dall'U.S. Food and Drug Administration (FDA) ai sensi delle norme CLIA '88, la complessità di questo prodotto è stata definita Moderata.

Reagenti - Non usare oltre la data di scadenza. Una volta estratti i reagenti dal frigorifero, attendere che si portino a temperatura ambiente (23 – 29 °C) prima dell'uso. NON mescolare reagenti appartenenti a kit con numeri di lotto diversi.

Per garantire una dispensazione appropriata del **Reagente A VZVscan**, tenere il flacone in posizione verticale.

Il **Reagente A** è stato preparato utilizzando un ceppo vaccinicco di virus frammentato, giudicato inattivato mediante procedure di biosaggio.

I sieri di controllo sono derivati da sangue umano risultato non reattivo ai test – condotti con una metodica approvata dalla FDA – per la determinazione degli anticorpi anti HIV (virus dell'immunodeficienza umana) e dell'HBsAg (antigene di superficie dell'epatite B).

Avvertenza - I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guide dell'istituto e alle "Precauzioni standard".⁶⁻⁹

Avvertenza - I reagenti contengono sodio azide. Altamente tossico per inalazione, contatto con la pelle e ingestione. A contatto con acidi, libera gas altamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Eliminare la sodio azide facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

Cartoncini di reazione - Per ottenere reazioni corrette, i cartoncini devono essere piatti. Se necessario, appiattire i cartoncini ripiegandoli in senso opposto a quello di deformazione. Prestare attenzione a non lasciare impronte delle dita sulle aree di test del cartoncino, perché così facendo si possono formare depositi oleosi che a loro volta alterano i risultati del test. Usare ciascun cartoncino una sola volta e gettarlo. Conservare i cartoncini nella confezione originale in luogo asciutto a temperatura ambiente.

Letture dei risultati del test - Prima della lettura, eseguire con la mano un breve movimento rotatorio del cartoncino dopo la rotazione meccanica. Leggere tempestivamente i risultati alla luce di una lampada ad incandescenza ad alta intensità, tenendo il cartoncino ad almeno 15 cm dalla sorgente luminosa. Di norma, la luce fluorescente è insufficiente per distinguere risultati debolmente positivi. Per la lettura dei risultati dei test, si consiglia l'uso di una

lente di ingrandimento.

Rotazione - Si consiglia una velocità di rotazione meccanica di 100 ± 2 giri/min, sebbene velocità comprese tra 95 e 110 giri/min non influenzino significativamente i risultati. Il rotatore deve circoscrivere un cerchio di circa due centimetri di diametro sul piano orizzontale. Usare un coperchio con umidificatore per evitare l'essiccamento dei campioni durante la rotazione.

Conservazione dei reagenti - Conservare a $2 - 30$ °C. **NON CONGELARE**. Il riscaldamento dei reagenti a oltre 32 °C e temperature inferiori allo zero invalidano la reattività del test. Dopo l'uso, conservare i reagenti in frigorifero ben tappati.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Prelevare sangue intero mediante venipuntura e separarne il siero senza usare anticoagulanti. L'uso di plasma non è stato definito. La terminazione del siero non pregiudica la performance del test. Non usare campioni con evidente contaminazione microbica; la presenza di lipemia o emolisi non influisce tuttavia sulla performance del test. I campioni di siero possono essere conservati sino a 48 ore a $2 - 8$ °C, ma devono essere congelati in freezer non a sbrinamento automatico in caso di periodi di conservazione più lunghi.

Se il test **VZVscan** è condotto per valutare un'infezione in atto, ottenere il primo siero quanto prima dall'inizio della malattia e un siero in fase convalescente 10 - 14 giorni più tardi. I campioni di fase acuta e fase convalescente devono essere analizzati contemporaneamente.

Non è richiesta alcuna preparazione speciale del paziente prima della raccolta dei campioni.

PROCEDURE

Prima di iniziare il test, consultare i paragrafi "Precauzioni" e "Raccolta e preparazione dei campioni". Prima dell'uso, l'area di test, i reagenti, i campioni da testare e tutti i componenti da utilizzare nel test devono essere a temperatura ambiente ($23 - 29$ °C).

Materiali forniti

		N. 254126 (30 test)	N. 254201 (100 test)
Reagente A,	VZVscan Latex Antigen,	0,5 mL	1,6 mL
Reagente B,	VZVscan Card Dilution Buffer,	5,0 mL	20,0 mL
Controllo ++,	VZVscan High Reactive Control (siero umano),	0,5 mL	0,5 mL
Controllo +,	VZVscan Low Reactive Control (siero umano),	0,5 mL	0,5 mL
Controllo - ,	VZVscan Nonreactive Control (siero umano),	0,5 mL	0,5 mL
Cartoncini di reazione, e accessori e materiali monouso per il test.		5	8

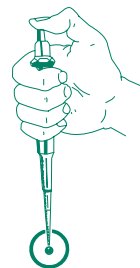
Materiali necessari ma non forniti - Rotatore con coperchio umidificatore, micropipetta da 25 μ L, centrifuga e lampada a incandescenza ad alta intensità.

Sono inoltre necessarie la strumentazione e l'attrezzatura di laboratorio utilizzate per la preparazione, la conservazione e la manipolazione di campioni sierologici.

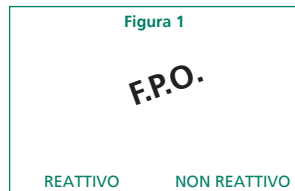
Procedure di screening qualitativa

La seguente procedura può essere utilizzata per eseguire lo screening del siero dei pazienti per la reattività e non reattività agli anticorpi anti-VZV e per testare la reattività del **Reagente A VZVscan** al latex utilizzando i corrispondenti sieri di controllo reattivi e non reattivi.

- Diluizione dei campioni di siero
 - Con una micropipetta, dispensare 25 μ L di **Reagente B** sul cerchio del test.
 - Con la stessa micropipetta e un puntale nuovo, dispensare 25 μ L di **Controllo +**, **Controllo -** o siero del paziente nel cerchio appropriato con il **Reagente B** e mescolare aspirando e versando il liquido sette volte con la micropipetta. Usare un puntale per pipetta nuovo per ciascun campione di siero.
 - Aspirare 25 μ L di questa miscela e gettarla. Il siero nel cerchio è ora a una diluizione 1:2.
 - Ripetere i punti "a" - "c" per ogni campione da testare.
- Usando un agitatore di plastica nuovo per ogni campione di siero, distribuire il siero su tutta la superficie del cerchio.
- Mescolare il **Reagente A** capovolgendo delicatamente il flacone alcune volte. Tenendo il flacone in posizione verticale, dispensare 1 goccia in ciascun cerchio di test contenente siero diluito.
- Ruotare a mano il cartoncino 3 o 4 volte per distribuire uniformemente il latex su ogni cerchio. Evitare la cross-contaminazione delle aree di test nei cerchi adiacenti.
- Porre il cartoncino sul rotatore e ruotare per 10 min, proteggendo con un coperchio umidificatore.
- Subito dopo la rotazione meccanica, leggere macroscopicamente i risultati sul cartoncino allo stato bagnato e alla luce di una lampada a incandescenza ad alta intensità. Inclinare delicatamente il cartoncino (con 3 - 4 movimenti alternati nei due sensi) per facilitare la differenziazione tra agglutinazione e assenza di



- agglutinazione.
7. Il controllo reattivo deve evidenziare agglutinazione, mentre quello non reattivo non deve presentare alcuna agglutinazione (Figura 1).
- Referto positivo
 Reattivo-----Evidenzia qualsiasi grado di agglutinazione di VZVscan Latex Antigene (Reagente A).
- Referto negativo
 Non reattivo-----La sospensione rimane omogeneamente dispersa, senza alcuna agglutinazione di VZVscan Latex Antigene (Reagente A).



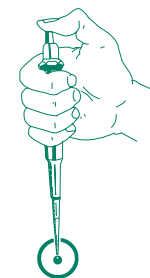
Per eliminare la possibilità di un risultato falsamente negativo causato da un fenomeno di prozona (vedere "Limitazioni della procedura"), usare il seguente protocollo con una diluizione del siero 1:40.

- Usando una micropipetta, preparare una diluizione 1:40, dispensando 190 μ L di Reagente B in una provetta (per esempio da 12 x 75 mm).
- Usando una micropipetta, dispensare 10 μ L del siero campione nella provetta e mescolare aspirando e versando 7 volte.
- Usando una micropipetta, dispensare 25 μ L di Reagente B sul cerchio del test.
- Usando una micropipetta, dispensare 25 μ L del siero diluito nel cerchio appropriato con il Reagente B e mescolare aspirando e espellendo sette volte con la micropipetta.
- Aspirare 25 μ L di questa miscela e gettarla. Il siero nel cerchio è ora a una diluizione 1:40.
- Ripetere i punti "a" - "e" per ogni campione da testare.
- Seguire i precedenti punti da 2 a 6.

Procedura di titolazione quantitativa

La seguente procedura può essere usata per quantificare il livello anticorpale VZVscan relativo del siero dei pazienti e del siero del controllo positivo. Se il siero di controllo altamente positivo non è conforme al livello del titolo indicato sull'etichetta, ripetere il test.

- Diluizione dei campioni di siero
 - Con una micropipetta, dispensare 25 μ L di Reagente B nei cerchi 1 - 5 del cartoncino.
 - Con una micropipetta e un puntale nuovo, dispensare 25 μ L di Controllo ++, Controllo - o siero del paziente nel cerchio 1 con il Reagente B e mescolare aspirando e espellendo il liquido 7 volte con la micropipetta. In questo modo si ottiene una diluizione 1:2 del campione. Usare un puntale per pipetta nuovo per ciascun campione di siero.
 - Usando la stessa micropipetta e lo stesso puntale, trasferire 25 μ L della diluizione 1:2 direttamente nel tampone nel cerchio 2, mescolare come sopra e ripetere questa procedura di diluizione al raddoppio fino al cerchio 5. Aspirare 25 μ L dal cerchio 5 e gettarli. La diluizione del siero del campione nel cerchio 5 è ora 1:32.
 - Ripetere i punti "a" - "c" per ogni campione da testare.



- NOTA - Si possono continuare le diluizioni al raddoppio di ciascun siero seguendo i punti "a" - "c" per altri cerchi.
- Usando un agitatore di plastica nuovo per ogni campione di siero, iniziare dal cerchio 5 e distribuire il siero su tutta la superficie del cerchio. Passare al cerchio con la diluizione successiva (inferiore) (4, 3, 2, 1) fino a distribuire il siero su tutti i cerchi.
 - Mescolare il Reagente A capovolgendo delicatamente il flacone alcune volte. Tenendo il flacone in posizione verticale, dispensare 1 goccia in ciascun cerchio di test contenente siero diluito.
 - Ruotare a mano il cartoncino 3 o 4 volte per distribuire uniformemente il latex su ogni cerchio. Evitare la cross-contaminazione delle aree di test nei cerchi adiacenti.
 - Porre il cartoncino sul rotatore e ruotare per 10 min, proteggendo con un coperchio umidificatore.
 - Subito dopo la rotazione meccanica, leggere macroscopicamente i risultati sul cartoncino allo stato bagnato e alla luce di una lampada a incandescenza ad alta intensità. Inclinare delicatamente il cartoncino (con 3 - 4 movimenti alternati nei due sensi) per facilitare la differenziazione tra agglutinazione e assenza di agglutinazione. La scarsa agglutinazione è caratterizzata da un aspetto rugoso laddove sia visibile lattice aggregato. L'assenza di agglutinazione è caratterizzata da un aspetto uniforme e lattiginoso della sospensione.
 - Il titolo anticorpale è pari al rapporto inverso dell'ultimo cerchio positivo (es. 1:32 diventa un titolo di 32).

Controllo di qualità - I controlli reattivi sono stati formulati in modo da sviluppare una agglutinazione ben definita nell'ambito delle diluizioni indicate riportate sull'etichetta dei flaconi. Non refertare gli endpoint di controllo come "Reattivi" salvo in caso di agglutinazione ben definita, che assicura che il sistema antigene-anticorpo agisce in modo appropriato nel contesto del test. Il controllo non reattivo non deve evidenziare alcuna agglutinazione. Se i controlli non danno una risposta appropriata, il test non è valido. Un'agglutinazione debole o l'assenza di agglutinazione della diluizione 1:2 del controllo altamente reattivo può essere dovuta al fenomeno della prozona. Il controllo debolmente reattivo e il controllo non reattivo devono essere analizzati almeno ogni giorno in cui si usa il kit.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di

controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

Test qualitativo - Il singolo campione di siero analizzato viene refertato come positivo per gli anticorpi anti-VZV quando è visibile qualsiasi grado di agglutinazione senza l'ausilio di dispositivi meccanici. In assenza di agglutinazione nelle diluizioni 1:2 e 1:4, il campione deve essere refertato come negativo per gli anticorpi anti-VZV.

Test quantitativo - Refertare la reattività in base alla diluizione più elevata che evidenzia qualsiasi grado di agglutinazione del reagente VZVscan Latex. I campioni che non evidenziano alcuna agglutinazione ad alcuna diluizione devono essere repertati come non reattivi. Quando si comparano sieri in doppio raccolti a distanza di 10 - 14 giorni, analizzare i due campioni contemporaneamente. Un aumento di quattro volte nel siero di fase convalescente rispetto al siero di fase acuta o la sierconversione da negativo a positivo è indice di infezione in atto o ricorrente.¹⁰

Fare riferimento all'esempio seguente.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Controllo altamente reattivo ++	R	R	R	R	R	R
Controllo debolmente reattivo +	R	R	R	N	N	N
Controllo non reattivo -						
Campione n.1	R	R	N	N	N	N
Campione n.2	R	R	R	R	R	N

R = Reattivo

N = Non reattivo

Refertare come: Controllo altamente reattivo - Reattivo, \geq diluizione 1:64
 Controllo debolmente reattivo - Reattivo, diluizione 1:8
 Controllo non reattivo - Non reattivo
 Campione n. 1 - Reattivo, diluizione 1:4
 Campione n. 2 - Reattivo, diluizione 1:32

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Pazienti con titoli positivi dovuti a immunità naturale possono reinfezzarsi. Uno studio riporta un'incidenza di reinfezione del 6%.¹ I rari pazienti riscontrati positivi alla diluizione 1:2, risultano negativi alla diluizione 1:4. Questi pazienti sono probabilmente a più alto rischio di infezione con VZV infettivo rispetto ai soggetti nel cui siero vi siano immunoglobuline VZV-specifiche a diluizione 1:8 o superiore; questo riscontro non è tuttavia dimostrato. Quando si esegue lo screening di soggetti ad alto rischio che non ricordano precedenti infezioni, la procedura di titolazione quantitativa può fornire ulteriori dati utili per il processo decisionale clinico.

I titoli anticorpali del siero sono sconsigliati per la dimostrazione di infezione in atto (acuta) a causa dell'assenza di anticorpi rilevabili nei primi stadi dell'infezione, di possibili fenomeni di prozona a diluizioni del siero inferiori a 1:40, nonché della mancanza di reazione anticorpale in alcuni pazienti immunosoppressi. In questi casi, sono preferibili test diretti per l'accertamento della presenza del virus o dell'antigene nelle lesioni.

Non è possibile escludere possibili fenomeni di prozona in sieri contenenti livelli insolitamente elevati di anticorpi anti-VZV. Se si desidera la conferma di un siero non reattivo, come per esempio in caso di pazienti ad alto rischio, rianalizzare il campione a una diluizione 1:40 nel tampone di diluizione del campione come descritto nella sezione "Procedura di screening qualitativa".

Eseguire il test a una temperatura compresa tra 23 e 29 °C. Temperature al di fuori di questo range possono causare reazioni falsamente positive.

Avvicinando troppo i cartoncini alla lampada ad alta densità, li si può esporre a un calore eccessivo. Ciò può causare una reazione falsamente positiva, dovuta all'essiccamento dei reagenti.

La presenza di immunoglobuline passive nei sieri raccolti da riceventi di immunoglobuline varicella zoster (VZIG) o in emoderivati ricevuti dal paziente nei 3 - 6 mesi precedenti, può dar luogo a risultati positivi. Non è quindi possibile identificare una precedente infezione da VZV.

I risultati di test da cordone ombelicale o neonati devono essere interpretati con prudenza a causa del trasferimento passivo di IgG dalla madre.

Infezioni primarie da altri herpes virus possono causare un corrispondente aumento del titolo anticorpale da una precedente infezione VZV.^{11,12}

La sierconversione o un aumento di almeno quattro volte del titolo anticorpale sono classiche metodiche di valutazione dello stato del paziente per quanto concerne una recente esposizione al virus. Per formulare una diagnosi, i risultati del test devono tuttavia venire valutati insieme a sintomatologia clinica, anamnesi e ad altri riscontri di laboratorio.

VALORI ATTESI E PERFORMANCE

Le metodiche usate per rilevare gli anticorpi anti-VZV nel siero umano includono FAMA (anticorpo fluorescente diretto contro l'antigene di membrana), immunofluorescenza indiretta, emoagglutinazione da immunoaderenza, neutralizzazione, emoagglutinazione indiretta, fissazione del complemento e dosaggi immunoenzimatici.

Il test FAMA rappresenta una delle procedure di rilevazione degli anticorpi in uso da più tempo e più affidabili ed è considerato la metodica standard.

Centottanta campioni di siero, prelevati da donatori sani, sono stati analizzati allo scopo di comparare i risultati di due kit ELISA in commercio con quelli del test di agglutinazione al latex VZVscan. È stata rilevata una concordanza

qualitativa complessiva del 97,8% tra i kit ELISA e i test di agglutinazione al latex VZVscan (vedere Tabelle 1 a e 1b).

Tabella 1 a
Concordanza qualitativa
tra BioWhittaker VZ Stat ELISA e
test di agglutinazione al latex VZVscan (LA)

		ELISA	
		+	-
LATEX	+	41	2
	-	1	45

Sensibilità = $41/42 = 97,6\%$
Specificità = $45/47 = 95,7\%$
Accuratezza = $86/89 = 96,0\%$

Tabella 1 b
Concordanza qualitativa
tra Diamedix VZV ELISA e
test di agglutinazione al latex VZVscan (LA)

		ELISA		
		+	-	Equiv
LATEX	+	79	0	1
	-	0	6	0

Sensibilità = $79/79 = 100,0\%$
Specificità = $6/7 = 86,0\%$
Accuratezza = $85/86 = 98,8\%$

I sieri di 50 soggetti adulti senza anamnesi di varicella sono stati testati per gli anticorpi anti-VZV. I risultati sono illustrati nella Tabella 2. 34 sieri su 50 (68%) sono risultati positivi con il test FAMA, 36 (72%) con il test LA e 30 (60%) con il test ELISA, con un grado di accuratezza del 92% per entrambi i test rispetto al FAMA.

Comparazione fra il test di agglutinazione al latex VZVscan e il test FAMA (a) e fra il test FAMA e il test ELISA (b) usando campioni di adulti senza anamnesi di varicella

Tabella 2 a

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	33	3
	-	1	13

Sensibilità = $33/34 = 97,0\%$
Specificità = $13/16 = 81,3\%$
Accuratezza = $46/50 = 92,0\%$

Tabella 2 b

		FAMA	
		+	-
ELISA	+	30	0
	-	4	16

Sensibilità = $30/34 = 88,2\%$
Specificità = $16/16 = 100,0\%$
Accuratezza = $46/50 = 92,0\%$

- a Anticorpo fluorescente diretto contro l'antigene di membrana – FAMA (Columbia University, USA)
b VZ STAT (BioWhittaker, USA)

I sieri di 18 adulti con anamnesi di varicella nell'infanzia sono risultati positivi mediante FAMA e LA, come illustrato nella Tabella 3.

I sieri di 15 bambini e adulti prima di varicella clinica, sono risultati negativi mediante FAMA e LA. I sieri prelevati dagli stessi soggetti dopo varicella clinica, sono invece risultati positivi mediante FAMA e LA (Tabella 4).

Tabella 3
Comparazione fra il test FAMA e il test
di agglutinazione al latex VZVscan usando sieri di
18 adulti con precedente anamnesi di varicella

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	18	0
	-	0	0

Sensibilità = $18/18 = 100\%$

Tabella 4
Comparazione fra il test FAMA e il test
di agglutinazione al latex VZVscan usando sieri di
15 bambini e adulti prima e dopo varicella clinica

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	15	0
	-	0	15

Sensibilità = $15/15 = 100\%$
Specificità = $15/15 = 100\%$
Accuratezza = $30/30 = 100\%$

La Tabella 5 presenta i risultati di una comparazione in cui i sieri di 44 bambini al primo giorno di varicella sono risultati negativi per gli anticorpi anti-VZV mediante FAMA e LA. Al 28° giorno, durante la convalescenza, tutti e 44 i bambini sono risultati positivi mediante FAMA e LA (con titoli compresi nel range 64 – 1024). Entrambi i test sono stati in grado di rilevazione la sierconversione al 100%.

Tabella 5
Comparazione tra il test FAMA e il test di agglutinazione al latex VZVscan usando sieri
di 44 bambini al giorno 1 di varicella e al giorno 28 di convalescenza
VARICELLA GIORNO 1 CONVALESCENZA GIORNO 28

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	0
	-	0	44

Specificità = $44/44 = 100\%$

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	44	0
	-	0	0

Sensibilità = $44/44 = 100\%$

La tabella 6 illustra la comparazione tra FAMA ed LA usando i sieri raccolti da 83 adulti normali selezionati per la vaccinazione come negativi per anticorpi anti-VZV con analisi FAMA.

Tabella 6

Comparazione fra il test di agglutinazione al latex VZVscan e il test FAMA usando sieri di 83 adulti normali prima della vaccinazione

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	3*
	-	0	80*

Specificità = $80/83 = 96,4\%$

*Questi tre campioni sono risultati positivi anche mediante VZ STAT (BioWhittaker, USA).

La Tabella 6 a presenta una comparazione tra FAMA e LA usando sieri VZV-positivi di 5 bambini leucemici vaccinati che in seguito a esposizione documentata a varicella, hanno sviluppato un aumento di quattro volte del titolo anticorpale VZV. Tutte le coppie di campioni di siero sono state analizzate contemporaneamente.

Tabella 6 a

Comparazione fra il test di agglutinazione al latex VZVscan e il test FAMA usando sieri da bambini leucemici vaccinati prima e dopo esposizione documentata a varicella

Paziente	Data	Titoli post-vaccino		Data dell'esposizione documentata a varicella*	Data	Titoli post-esposizione	
		FAMA**	LA			FAMA	LA
1	09/30/86	16	128	10/17/86	11/25/86	64	512
2	11/17/86	16	64	05/22/87	06/15/87	64	512
3	02/20/85	4	16	03/21/85	04/29/85	64	512
4	04/15/86	8	16	04/10/87	04/21/87	256	512
5	11/13/86	8	8	12/11/86	12/16/86	256	32

* L'esposizione documentata include esposizione a casa o più esposizioni a scuola.

** Dati forniti dalla Dott.ssa Anne Gershon e Sharon P. Steinberg, Columbia University, USA.

Assenza di reattività crociata con altri herpes virus - Quindici campioni di siero di soggetti adulti sono risultati negativi per gli anticorpi anti-VZV sia con LA che con FAMA. Questi campioni di siero sono stati testati per anticorpi contro altri herpes virus umani utilizzando kit di rilevazione anticorpale in commercio. Ogni siero è risultato positivo per anticorpi contro almeno uno degli altri herpes virus (13 EBV, 5 CMV, 11 HSV) (Tabella 7). Questi dati indicano l'assenza di reattività crociata tra anticorpi diretti contro altri herpes virus e gli antigeni VZV nel test di agglutinazione al latex VZVscan.

Riproducibilità

La riproducibilità interna del test di agglutinazione al latex VZVscan è stata esaminata in 5 replicati di 4 campioni di siero (1 altamente positivo, 1 mediamente positivo, 1 debolmente positivo e 1 negativo). I risultati sono riportati nella Tabella 8. Tutti i replicati hanno dato il medesimo titolo di agglutinazione con ciascun campione di siero.

La riproducibilità tra test è stata esaminata determinando i titoli di agglutinazione di 4 campioni di siero (1 altamente positivo, 1 mediamente positivo, 1 debolmente positivo e 1 negativo) con 3 lotti diversi di reagente al latex VZVscan. Nessuna variazione significativa (\pm una diluizione) nei titoli di agglutinazione è stata riscontrata tra i lotti di reagente al latex VZVscan (Tabella 8).

Tabella 7
Assenza di reazioni crociate con altri herpes virus

Campione di siero ^a	VZV ^b	HSV ^c	CMV ^d	EBV ^e
A 7B	-	-	-	120
A10B	-	1024	-	14 ^f
A19B	-	-	-	18 ^f
A28B	-	256	512	164
A55B	-	512	256	288
A60B	-	1024	-	145
A95B	-	64	-	81
A108B	-	64	-	95
A114B	-	-	512	161
A148B	-	128	-	166
A150B	-	128	-	227
A152B	-	512	-	184
A177B	-	64	256	148
A190B	-	-	-	94
A251B	-	256	64	97

a Campioni di siero ottenuti da adulti normali

b Test di agglutinazione al latex **VZVscan** e test FAMA (Columbia University, USA)

c Virogen HSV Ab Latex Test (Wampole Laboratories, USA)

d **CMVscan** (Becton, Dickinson and Company, USA)

e EB-VCA G FIAX (BioWhittaker USA)

f Equivoco

Tabella 8

Riproducibilità intra-sessione				
Test	Titoli sierici			
	Alto	Medio	Basso	Negativo
1	256	32	4w ^a	< 2
2	256	32	4w	< 2
3	256	32	4w	< 2
4	256	32	4w	< 2
5	256	32	4w	< 2
Riproducibilità tra lotti				
Lotto VZV Latex	Titoli sierici			
	Alto	Medio	Basso	Negativo
#1	256	32	4w ^a	< 2
#2	256	32	2	< 2
#3	256	32	2	< 2

a, w = agglutinazione debole

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione	N. di cat.	Descrizione
254126	VZVscan , 30 kit di test (<i>qualitativo</i>)	277979	Confezione di accessori per rotatore per cartoncini Macro-Vue , contenente una estensione del piatto da 38 x 18 cm e due coperchi umidificatori
254201	VZVscan , 100 kit di test (<i>qualitativo</i>)		
278501	Rotatore per cartoncini Macro-Vue (con coperchio umidificatore), 100 ± 2 giri/minuto, cronometro, meccanismo a frizione, Modello 51-II (110 V) e Modello 54 (220 V)	273310	Puntali per pipette, scatola da 1000

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.



Varicella-zoster Virus Antibody Card Test

Para la determinación cualitativa o cuantitativa de anticuerpos del virus de la varicela-zóster en suero humano

Español

USO PREVISTO

La prueba de anticuerpos **VZVscan** (virus de la varicela zoster) en tarjeta es una prueba cualitativa y cuantitativa de aglutinación de látex que utiliza partículas de poliestireno recubiertas de antígenos de varicela-zoster parcialmente purificados y atenuados para la detección de anticuerpos totales contra VZV (virus de la varicela zoster) en suero humano.

RESUMEN Y EXPLICACION

El virus de la varicela zoster es el agente etiológico de la varicela y del herpes zoster. Según los informes, en los Estados Unidos, la gonorrea es la única enfermedad de mayor incidencia que la varicela. Sin embargo, el papel actual del diagnóstico serológico es determinar el estado inmunológico de individuos con predisposición en grupos de alto riesgo, tales como pacientes inmunodeprimidos, personal hospitalario, receptores de transplantes y mujeres embarazadas. Además, la identificación de anticuerpos puede utilizarse para facilitar la diferenciación de lesiones vesiculopapulares producidas por otras enfermedades, entre ellas el virus herpes simple, la rickettsiosis vesicular y la sífilis secundaria, entre otras. En un momento en que se están evaluando las vacunas contra el virus de la varicela zoster, es posible que cobre mayor importancia el examen general para detectar la presencia de anticuerpos contra VZV.

Generalmente, la varicela es una enfermedad infantil benigna. Se caracteriza por un periodo de incubación de 10 a 21 días (promedio de 14 días), 1 o 2 días de diseminación viral, seguida por una erupción generalizada de lesiones maculopapulares individuales que rápidamente se convierten en vesículas que pueden seguir apareciendo durante 4 o 5 días. El riesgo de complicaciones es mayor en los pacientes de más de 20 años de edad y, en menor grado, los de menos de un año de edad. Los anticuerpos IgG específicos se pueden detectar a los 4 o 5 días después de la aparición de los síntomas y normalmente están presentes durante el resto de la vida. Por lo tanto, una sola muestra sérica analizada como positiva o negativa para anticuerpos contra VZV puede indicar exposición previa al virus. **LOS ANTICUERPOS NO SON COMPLETAMENTE PROTECTORES Y LAS INFECCIONES SECUNDARIAS, AUNQUE RARAS, PUEDEN OCURRIR¹.** (Vea "Limitaciones del Procedimiento"). Sin embargo, como en el caso de otros virus herpes, sigue presente en los ganglios nerviosos sensoriales y puede haber un recrudecimiento de la infección primaria en los mayores de edad y otros individuos inmunodeprimidos. En la mayoría de los casos, este recrudecimiento se presenta en forma de herpes zoster, una erupción vesicular extremadamente dolorosa que se limita generalmente a uno o dos dermatomas durante la vida de un 10 a 20% de los individuos. En las personas gravemente inmunodeprimidas, el virus puede diseminarse y producir un síndrome cutáneo difuso, neumonitis o encefalitis. Aunque los casos de infección por zoster en grupos sugieren la posibilidad de reinfección², el uso más frecuente de terapias de inmunodepresión, que rompen el estado latente del virus, contribuye al nivel cada vez más alto de incidencia. La neuralgia posherpética puede ser grave y debilitante.

En ambos casos, varicela y zoster, las infecciones no aparentes pueden estar acompañadas de un aumento en el título de anticuerpos³. En un estudio serológico de niños sin historial de enfermedad, se observaron anticuerpos contra VZV en un tercio de los individuos⁴. Por lo tanto, una prueba positiva o un aumento en el título de anticuerpos no vienen acompañados necesariamente por un historial de síntomas clínicos.

Las terapias actuales para la infección incluyen aciclovir, alfa interferón e inmunoglobulinas contra zoster (ZIG). El uso de ZIG como medida preventiva en niños de alto riesgo, específicamente los que tienen leucemia o linfoma que son síndromes de inmunodeficiencia, o los que reciben terapia inmunodepresiva, puede dar como resultado la protección, la infección subclínica o a veces la enfermedad severa⁴. Parece ser crítico el período entre la exposición y el tratamiento⁵.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba **VZVscan** en tarjeta sigue los principios establecidos de la aglutinación de látex y utiliza partículas de poliestireno recubiertas de antígenos de VZV. Cuando se mezcla este reactivo con suero humano que contiene anticuerpos contra VZV, ocurre una reacción que produce una aglutinación visible en la superficie de la tarjeta de prueba. La prueba se lee a simple vista, sin la ayuda de instrumentos mecánicos. En ausencia de anticuerpos específicos anti-VZV, no hay aglutinación y se observa una superficie lechosa lisa.

La prueba **VZVscan** puede utilizarse para examinar sueros positivos o negativos para anticuerpos contra el virus de la varicela zoster, o se pueden utilizar diluciones dobles en serie para obtener el título del nivel relativo de anticuerpos.

REACTIVOS

Reactivo A,	VZVscan Latex Antigen , partículas de poliestireno recubiertas de antígeno de varicela-zoster parcialmente purificado e inactivado, con azida sódica al 0,2% y gentamicina al 0,025% en un tampón de glicina.
Reactivo B,	VZVscan Card Dilution Buffer , tampón de glicina con azida sódica al 0,1% y gentamicina al 0,025%.
Control ++,	VZVscan High Reactive Control (suero humano), que contiene anticuerpos contra el virus de la varicela zoster.
Control +,	VZVscan Low Reactive Control (suero humano), que contiene anticuerpos contra el virus de la varicela zoster.
Control –,	VZVscan Nonreactive Control (suero humano), no reactivo para anticuerpos contra el virus de la varicela zoster; todos los controles contienen azida sódica al 0,1%.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Tras su revisión por parte de los Centers for Disease control and Prevention (CDC), y la Food and Drug Administration (FDA) de EE.UU. bajo el epígrafe CLIA '88, este producto se ha clasificado como de complejidad moderada.

Reactivos: No utilizar los reactivos después de su fecha de caducidad. Después de sacarlos del refrigerador, dejar que alcancen la temperatura ambiente (entre 23 y 29 °C) antes de usarlos. NO mezclar los reactivos de equipos que tengan números de lote diferentes.

Para asegurar la dosificación adecuada de gotas del **Reactivo A VZVscan**, el frasco dispensador debe mantenerse en posición vertical.

El **Reactivo A** se ha preparado a partir de cepas destruidas de virus de vacuna que se consideran inactivadas después de someterse a procedimientos bioanalíticos.

Los sueros de control se derivan de sangre humana que se analizó y resultó ser no reactiva según un método aprobado por la FDA para detectar la presencia de anticuerpos al HIV (virus de la inmunodeficiencia humana) y al HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B).

Advertencia: En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"⁶⁻⁹ y las directrices del centro.

Advertencia: Los reactivos contienen azida sódica. Muy tóxico por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. El contacto con ácidos libera un gas muy tóxico. En caso de contacto con la piel, lavarla inmediatamente con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y producir azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar el material, utilizar un gran volumen de agua para evitar el depósito de azidas.

Tarjetas de análisis: Para permitir una reacción correcta, las tarjetas deben estar planas. En caso contrario, aplanar la tarjeta curvándola hacia atrás en sentido opuesto al lado ondulado. Tener cuidado de no tocar con los dedos las zonas de análisis, pues existe el peligro de dejar restos grasos que podrían alterar los resultados del mismo. Utilizar cada tarjeta una sola vez y desecharla. Conservar las tarjetas en su envase original en un área seca a temperatura ambiente.

Lectura de los resultados de la prueba: Antes de la lectura, se debe girar brevemente la tarjeta con la mano una vez efectuada la rotación mecánica. Los resultados deben leerse inmediatamente bajo una luz incandescente de alta intensidad sujetando la tarjeta por lo menos a quince centímetros de la fuente luminosa. Las lámparas fluorescentes son generalmente insuficientes para distinguir los casos de reacción débil. No se recomienda el uso de lupas para leer los resultados del análisis.

Rotación: La velocidad de rotación mecánica recomendada es de 100 ± 2 rpm, aunque una rotación de 95 a 110 rpm no altera significativamente los resultados obtenidos. El agitador rotativo debe circunscribir un círculo de aproximadamente dos centímetros de diámetro en el plano horizontal. Debe utilizarse una tapa humidificadora mojada para prevenir la desecación de las muestras durante la rotación.

Almacenamiento de los reactivos: Refrigerar a una temperatura de 2 a 8 °C. NO CONGELAR. No se deben calentar los reactivos a más de 32 °C ni tampoco congelarlos porque así se invalidará la reactividad de la prueba. Tapar los reactivos y colocarlos en el frigorífico cuando no se utilicen.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

La sangre entera debe recogerse mediante la venipuntura y separarse del suero sin el uso de anticoagulantes. No se ha probado el uso de plasma. La inactivación del suero por calor no afecta negativamente el rendimiento de la prueba. No deben usarse muestras con signos evidentes de contaminación microbiana. Sin embargo, la lipemia y la hemólisis no afectan el rendimiento de la prueba. Los sueros pueden almacenarse hasta 48 horas entre 2 y 8 °C, pero deben congelarse en un congelador sin deshielo automático si se quiere un período de almacenamiento más largo.

Cuando se usa la prueba **VZVscan** en tarjeta para evaluar una infección activa, el primer suero debe obtenerse tan pronto como sea posible después del comienzo de la enfermedad y el suero convaleciente debe obtenerse entre 10 y 14 días después. Las muestras aguda y convaleciente deben analizarse al mismo tiempo.

No es necesario preparar al paciente de ningún modo especial antes de recoger la muestra.

PROCEDIMIENTOS

Volver a leer "Precauciones" y "Recogida y preparación de las muestras" antes de efectuar las pruebas. La zona en que se van a realizar las pruebas, los reactivos, las muestras y los componentes de la prueba deben encontrarse a temperatura ambiente (entre 23 y 29 °C) en el momento de usarse.

Materiales suministrados:		N.º 254126 (30 pruebas)	N.º 254201 (100 pruebas)
Reactivo A,	VZVscan Latex Antigen,	0,5 mL	1,6 mL
Reactivo B,	VZVscan Card Dilution Buffer,	5,0 mL	20,0 mL
Control ++,	VZVscan High Reactive Control (suero humano)	0,5 mL	0,5 mL
Control +,	VZVscan Low Reactive Control (suero humano)	0,5 mL	0,5 mL
Control –,	VZVscan Nonreactive Control (suero humano)	0,5 mL	0,5 mL
Tarjetas de prueba, material desechable y accesorios para la prueba.		5	8

Materiales necesarios pero no suministrados: Agitador rotativo con tapa humidificadora, micropipeta de 25 µL, centrifugador y lámpara incandescente de alta intensidad.

También se necesitan los aparatos de laboratorio apropiados para la preparación, el almacenamiento y la manipulación de muestras serológicas.

Procedimiento para el examen cualitativo

Se puede utilizar el procedimiento que se describe a continuación en el examen de sueros de pacientes para determinar si son reactivos o no reactivos a los anticuerpos anti-VZV. Se puede utilizar también para probar la reactividad del **Reactivo A** con látex **VZVscan** utilizando los sueros de control reactivo y no reactivo.

- Dilución de las muestras de suero
 - Con una micropipeta, dosificar 25 µL del **Reactivo B** sobre un círculo de prueba.
 - Con una micropipeta y una punta nueva, dosificar 25 µL del **Control +**, **Control –** o el suero del paciente sobre el **Reactivo B** en el círculo apropiado y mezclar aspirando por la micropipeta 7 veces. Se debe usar una punta nueva con cada muestra de suero.
 - Extraer 25 µL de esta mezcla y desechar. El suero en el círculo se encuentra ahora diluido a 1:2.
 - Repetir los pasos de "a" a "c" para cada muestra que se analiza.
- Utilizando un agitador de plástico nuevo para cada muestra de suero, extender el suero diluido hasta que cubra el círculo completo.
- Mezclar el **Reactivo A** invirtiendo el frasco suavemente varias veces. Manteniendo el frasco en posición vertical, dosificar 1 gota sobre cada círculo de prueba con suero diluido.
- Girar la tarjeta manualmente 3 o 4 veces con un movimiento de vaivén para distribuir el látex por cada círculo. Evitar la contaminación cruzada de las áreas de prueba en círculos adyacentes.
- Colocar la tarjeta en un agitador rotativo y hacerla girar durante 10 minutos bajo la tapa humidificadora mojada.
- Inmediatamente después de la rotación mecánica, efectuar la lectura de la tarjeta a simple vista y en estado húmedo bajo una lámpara incandescente de alta intensidad. Girar suavemente la tarjeta (3 o 4 movimientos de vaivén) para facilitar la diferenciación entre una aglutinación débil y la ausencia de aglutinación.
- El control reactivo debe manifestar aglutinación, mientras que el control no reactivo no debe presentar ninguna aglutinación (Figura 1).

Considerar como positivo:

Reactivo-----Que manifiesta cualquier aglutinación del antígeno con látex **VZVscan (Reactivo A)**.

Considerar como negativo:

No reactivo-----La suspensión permanece dispersada uniformemente, sin mostrar aglutinación del antígeno con látex **VZVscan (Reactivo A)**.

Para eliminar la posibilidad de resultados negativos falsos debido a prozonas, (vea "Limitaciones del procedimiento"), debe seguirse el protocolo que se describe a continuación con una dilución de suero de 1:40.

- Con una micropipeta, preparar una dilución de 1:40 colocando 190 µL del **Reactivo B** en un tubo de ensayo (ejemplo: 12 X 75 mm).
- Con una micropipeta, colocar 10 µL del suero de muestra en el tubo de ensayo y mezclar aspirando 7 veces.
- Con una micropipeta, colocar 25 µL del **Reactivo B** sobre un círculo de prueba.
- Con una micropipeta, dosificar 25 µL del suero diluido sobre el **Reactivo B** en el círculo de prueba apropiado y mezclar aspirando por la micropipeta 7 veces.
- Extraer 25 µL de esta mezcla y desechar. El suero en el círculo se encuentra ahora diluido a 1:40.
- Repetir los pasos "a" a "e" inclusive para cada muestra que se analiza.

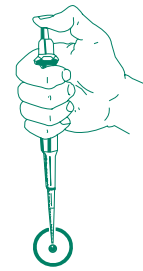


Figura 1

F.P.O.

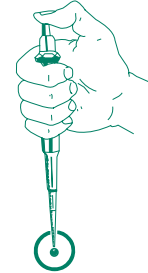
REACTIVO NO REACTIVO

- g. Repetir los pasos 2 a 6 inclusive .

Procedimiento para la **titulación cuantitativa**

El procedimiento que sigue se puede utilizar para cuantificar el nivel relativo de anticuerpo **VZVscan** en el suero de pacientes y el suero de control positivo. Si el suero de control positivo alto no llega al nivel del título indicado, se debe repetir la prueba.

- Dilución de las muestras de suero
 - Con una micropipeta, dosificar 25 µL del **Reactivo B** sobre los círculos 1 a 5 en la tarjeta de prueba.
 - Con una micropipeta y una punta nueva, colocar 25 µL de **Control ++**, **Control –** o suero del paciente sobre el **Reactivo B** en el primer círculo. Mezclar aspirando por la micropipeta 7 veces. Así se produce una dilución de la muestra de 1:2. Se debe usar una punta nueva con cada muestra de suero.
 - Con la misma micropipeta y la misma punta, transferir 25 µL de la dilución de 1:2 directamente a la solución tampón en el círculo 2, mezclar como antes y continuar esta preparación de diluciones dobles en serie hasta terminar con el círculo 5. Extraer 25 µL del círculo 5 y desechar. La dilución en el círculo 5 es ahora una dilución de 1:32 del suero de muestra.
 - Repetir los pasos de "a" a "c" para cada muestra que se analiza.



NOTA: Le pueden obtener diluciones dobles en serie adicionales siguiendo los pasos de "a" a "c" en más círculos de tarjeta de prueba.

- Con un agitador de plástico nuevo para cada muestra de suero, comenzar con el círculo 5 y extender el suero diluido hasta que cubra el círculo completo. Pasar a las diluciones sucesivas (4, 3, 2, 1) hasta que se haya extendido suero por todos los círculos.
- Mezclar el **Reactivo A** invirtiendo el frasco suavemente varias veces. Manteniendo el frasco en posición vertical, dosificar 1 gota sobre cada círculo con suero diluido.
- Girar la tarjeta manualmente 3 o 4 veces con un movimiento de vaivén para distribuir el látex por cada círculo. Evitar la contaminación cruzada de las áreas de prueba en círculos adyacentes.
- Colocar la tarjeta en un agitador rotativo y hacerla girar durante 10 minutos bajo la tapa humidificadora mojada.
- Inmediatamente después de la rotación mecánica, efectuar la lectura de la tarjeta a simple vista y en estado húmedo bajo una lámpara incandescente de alta intensidad. Girar suavemente la tarjeta (3 o 4 movimientos de vaivén) para facilitar la diferenciación entre una aglutinación débil y la ausencia de aglutinación. La aglutinación débil se define como una apariencia rugosa con aglutinación de látex visible. La falta de aglutinación se define como una apariencia lisa y lechosa.
- El título de anticuerpos es la proporción inversa del valor del último círculo de prueba positivo (por ejemplo, 1:32 se convierte en un título de 32).

Control de calidad: Los controles reactivos se formulan para producir aglutinación definida dentro de las diluciones marcadas. No deben considerarse "reactivos" los resultados del control si no se observa aglutinación definida, asegurando que el sistema de anticuerpos al antígeno se comporte adecuadamente dentro del ambiente de la prueba. El control no reactivo no debe mostrar aglutinación alguna. La prueba no es válida si los controles no producen los resultados apropiados. La aglutinación débil o ausencia de aglutinación en la dilución de 1:2 del Control de reactividad alta puede ser el resultado del efecto prozona. El Control de reactividad baja y el Control no reactivo deben analizarse como mínimo cada día que se utilice el equipo.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, conforme a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de NCCLS y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Procedimiento cualitativo: La muestra de suero analizada se considera positiva para anticuerpos anti-VZV cuando se puede ver la aglutinación sin ayuda de aparatos mecánicos. Cuando no hay aglutinación en las diluciones de 1:2 y 1:40, la muestra se considera negativa para anticuerpos anti-VZV.

Procedimiento cuantitativo: La reactividad debe considerarse en términos de la dilución más alta que presente aglutinación del reactivo de látex **VZVscan**. Las muestras sin aglutinación en todas las diluciones deben considerarse no reactivas. Cuando se comparen pares de muestras recogidas con una diferencia de 10 a 14 días, las dos muestras deben analizarse al mismo tiempo. Un incremento de cuatro veces en el suero convaleciente comparado con el suero en la fase aguda o la seroconversión de un resultado negativo a uno positivo indica una infección aguda o recurrente¹⁰.

Consultar el ejemplo siguiente:	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Control ++ de alta reactividad	R	R	R	R	R	R
Control + de reactividad baja	R	R	R	N	N	N
Control – no reactivo						
Muestra N.º 1	R	R	N	N	N	N
Muestra N.º 2	R	R	R	R	R	N

R = Reactivo	N = No reactivo
Notificar como: Control de alta reactividad	– Reactivo, ≥ dilución 1:64
Control de baja reactividad	– Reactivo, dilución 1:8
Control no reactivo	– No Reactivo
Muestra N.º 1	– Reactivo, dilución 1:4
Muestra N.º 2	– Reactivo, dilución 1:32

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los pacientes que presentan determinación de títulos positivos debido a inmunidad natural pueden volver a infectarse. Se observó una frecuencia de reinfección de un 6% en un estudio¹. Pocos pacientes tuvieron resultados positivos en una dilución de 1:2 y negativos en una dilución de 1:4. Estos pacientes probablemente tengan un mayor riesgo de infección con el VZV infeccioso que los sujetos con diluciones de 1:8 o más de inmunoglobulina específica para VZV en sus sueros; sin embargo, esto no ha sido demostrado. Cuando se analizan pacientes de alto riesgo sin reminiscencia alguna de infecciones previas, la determinación de títulos cuantitativos puede proporcionar información adicional provechosa para la toma de decisiones clínicas.

No se recomiendan la determinación de títulos de anticuerpos en el suero para la demostración de infecciones agudas (activas), debido a la falta de anticuerpos detectables al comienzo de la infección, fenómeno potencial de prozona en las diluciones de suero de menos de 1:40, así como la falta de respuesta de los anticuerpos en algunos pacientes inmunodeprimidos. En estos casos, se prefiere el análisis directo de detección del virus o antígeno en las lesiones.

No es posible descartar por completo la posibilidad de fenómenos de prozona en sueros con niveles anormalmente altos de anticuerpos anti-VZV. Si se desea comprobar un suero no reactivo, como en el caso de pacientes de alto riesgo, la muestra debe analizarse de nuevo usando una dilución de 1:40 en el tampón de dilución de muestra, tal como se describe en la sección "Procedimiento para el examen cualitativo".

La prueba debe realizarse a una temperatura entre 23 y 29 °C. Las temperaturas fuera de este rango pueden causar reacciones positivas falsas.

Las tarjetas que se sostienen demasiado cerca de la lámpara de luz de alta intensidad pueden exponerse a un calor excesivo. Esto puede causar una reacción positiva falsa debido a que los reactivos se secan.

La presencia de inmunoglobulinas pasivas en suero recogido de un paciente tratado con inmunoglobulinas contra varicela zoster (VZIG), o en los productos sanguíneos recibidos por el paciente en los 3 a 6 meses anteriores a la prueba, puede generar resultados positivos. Por lo tanto, es posible que no se identifique la infección previa con VZV.

Los resultados de los análisis llevados a cabo con sangre del cordón umbilical o de los recién nacidos deben interpretarse con cautela debido a la transferencia pasiva de inmunoglobulinas G (IgG) maternas.

Las infecciones primarias por otros virus herpes pueden causar un incremento en el nivel de anticuerpos de una infección anterior por VZV^{11,12}.

La seroconversión o el incremento del título de anticuerpos de cuatro veces o más son los métodos clásicos de evaluar el estado del paciente en cuanto a la exposición reciente al virus. Sin embargo, para establecer un diagnóstico, los resultados de la prueba deben evaluarse junto con los síntomas clínicos, el historial del paciente y otros resultados de laboratorio.

VALORES PREVISTOS Y CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Métodos que se usan para detectar anticuerpos contra VZV en suero humano: FAMA (anticuerpo fluorescente frente al antígeno ligado a membrana), inmunofluorescencia indirecta, inmunohemaglutinación de adherencia, neutralización, hemaglutinación indirecta, fijación del complemento y enzimoimmunoensayos.

La prueba FAMA representa una de las pruebas más antiguas y fiables para la detección de anticuerpos y se considera el método estándar.

Se analizaron 180 muestras de suero, obtenidas de donantes normales, para comparar los resultados de dos equipos de prueba ELISA (disponibles comercialmente) con la prueba de aglutinación de látex VZVscan. En conjunto, hubo un acuerdo cualitativo del 97,8% entre la prueba ELISA y la prueba de aglutinación de látex VZVscan (Tablas 1a y 1b).

Tabla 1 a
Acuerdo cualitativo entre la prueba ELISA VZ Stat (BioWhittaker) y la prueba de aglutinación de látex (LA) VZVscan

		ELISA	
		+	-
LATEX	+	41	2
	-	1	45

Sensibilidad = $41/42 = 97,6\%$
Especificidad = $45/47 = 95,7\%$
Exactitud = $86/89 = 96,0\%$

Tabla 1 b
Acuerdo cualitativo entre la prueba ELISA Diamedix VZV y la ELISA y la prueba de aglutinación de látex (LA) VZVscan

		ELISA		
		+	-	Equiv
LATEX	+	79	0	1
	-	0	6	0

Sensibilidad = $79/79 = 100,0\%$
Especificidad = $6/7 = 86,0\%$
Exactitud = $85/86 = 98,8\%$

Se analizaron los sueros de 50 adultos sin historial de varicela para la presencia de anticuerpos anti-VZV. Los resultados se muestran en la Tabla 2. De un total de 50, la prueba FAMA detectó 34 sueros positivos (68%), mientras que las pruebas de LA y ELISA detectaron 36 (72%) y 30 (60%) positivos respectivamente, lo que constituye un 92% de precisión para ambas pruebas comparadas con la prueba FAMA.

Comparación entre el ensayo FAMA y (a) la prueba de aglutinación de látex VZVscan y (b) el ensayo ELISA, utilizando sueros de adultos sin historial de varicela

Tabla 2 a

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	33	3
	-	1	13

Sensibilidad = $33/34 = 97,0\%$
 Especificidad = $13/16 = 81,3\%$
 Exactitud = $46/50 = 92,0\%$

Tabla 2 b

		FAMA	
		+	-
ELISA	+	30	0
	-	4	16

Sensibilidad = $30/34 = 88,2\%$
 Especificidad = $16/16 = 100,0\%$
 Exactitud = $46/50 = 92,0\%$

a Anticuerpo fluorescente frente al antígeno ligado a membrana (Columbia University, USA)

b VZ STAT (BioWhittaker, USA)

Los sueros de 18 adultos con historial de varicela infantil dieron resultado positivo a FAMA y LA, como se muestra en la Tabla 3.

Los sueros de 15 niños y adultos antes de la varicela clínica dieron resultado negativo a FAMA y LA. Los sueros extraídos de las mismas personas después de la varicela clínica dieron resultado positivo a FAMA y LA (ver Tabla 4).

Tabla 3

Comparación entre el ensayo FAMA y la prueba de aglutinación de látex VZVscan utilizando sueros de 18 adultos con historial de varicela

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	18	0
	-	0	0

Sensibilidad = $18/18 = 100\%$

Tabla 4

Comparación entre el ensayo FAMA y la prueba de aglutinación de látex VZVscan utilizando sueros de 15 niños y adultos antes y después de la varicela clínica

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	15	0
	-	0	15

Sensibilidad = $15/15 = 100\%$
 Especificidad = $15/15 = 100\%$
 Exactitud = $30/30 = 100\%$

La Tabla 5 muestra los resultados de una comparación en la que los sueros de 44 niños en el día 1 de varicela dieron resultado negativo para anticuerpos ante VZV mediante el ensayo FAMA y la prueba de LA. Sin embargo, en el día 28, durante la convalecencia, los 44 niños tuvieron resultado positivo al ensayo FAMA y la prueba de LA (los títulos oscilaron entre 64 y 1024). Ambas pruebas pudieron detectar el 100% de seroconversión.

Tabla 5

Comparación entre el ensayo FAMA y la prueba de aglutinación de látex VZVscan utilizando sueros de 44 niños en el día 1 de varicela y en el día 28 de la convalecencia

DÍA 1 DE VARICELA

DÍA 28 DE LA CONVALECENCIA

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	0
	-	0	44

Especificidad = $44/44 = 100\%$

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	44	0
	-	0	0

Sensibilidad = $44/44 = 100\%$

En la Tabla 6 se muestra la comparación entre FAMA y LA, usando sueros de 83 adultos normales seleccionados para vacunación como negativos para anticuerpos anti-VZV mediante la prueba FAMA.

Tabla 6

Comparación entre el ensayo FAMA y la prueba de aglutinación de látex VZVscan, utilizando sueros de 83 adultos normales antes de la vacunación

		FAMA	
		+	-
LATEX	+	0	3*
	-	0	80*

Especificidad = $80/83 = 96,4\%$

*Estas 3 muestras también dieron resultado positivo con la prueba ELISA VZ STAT (BioWhittaker, USA).

Una comparación entre las pruebas FAMA y LA utilizando sueros positivos a VZV de 5 niños leucémicos vacunados, quienes, ante la exposición documentada a la varicela, registraron un incremento de cuatro veces en el título de anticuerpos para VZV (ver Tabla 6 a). Todas las muestras pareadas se analizaron simultáneamente.

Tabla 6 a

Comparación entre el ensayo FAMA y la prueba de aglutinación de látex VZVscan, usando sueros de niños leucémicos vacunados antes y después de la exposición documentada al virus de la varicela

Paciente	Fecha	Títulos después de la vacunación		Fecha de exposición documentada a varicela*	Fecha	Títulos después de la exposición	
		FAMA**	LA			FAMA	LA
1	09/30/86	16	128	10/17/86	11/25/86	64	512
2	11/17/86	16	64	05/22/87	06/15/87	64	512
3	02/20/85	4	16	03/21/85	04/29/85	64	512
4	04/15/86	8	16	04/10/87	04/21/87	256	512
5	11/13/86	8	8	12/11/86	12/16/86	256	32

* La exposición documentada incluye exposición en el hogar y exposición múltiple en la escuela.

** Datos proporcionados por las doctoras Anne Gershon y Sharon P. Steinberg, Columbia University, USA.

Ausencia de reactividad cruzada con otros virus herpes: Mediante LA y FAMA, se demostró que el suero de 15 adultos era negativo para anticuerpos anti-VZV. Estas muestras de suero fueron analizadas para anticuerpos frente a otros virus herpes humanos usando equipos para la detección de anticuerpos disponibles comercialmente. Cada suero resultó positivo para anticuerpos frente al menos uno de los demás virus herpes (13 EBV, 5 CMV, 11 HSV) (ver Tabla 7). Estos datos indican la ausencia de reactividad cruzada entre anticuerpos contra otros virus herpes y los antígenos de VZV en la prueba de aglutinación de látex VZVscan.

Reproducibilidad

Se examinó la reproducibilidad intraanalítica de la prueba de aglutinación de látex VZVscan en pruebas por quintuplicado de 4 muestras de suero (1 positivo alto, 1 positivo medio, 1 positivo bajo, 1 negativo). Los resultados se muestran en la Tabla 8. Todas las pruebas múltiples dieron el mismo título de aglutinación con cada una de las muestras de suero.

Se examinó la reproducibilidad interanalítica mediante la determinación de los títulos de aglutinación de 4 muestras de suero (1 positivo alto, 1 positivo medio, 1 positivo bajo, 1 negativo) con 3 lotes diferentes del reactivo de látex VZVscan. No se observó una variación significativa (\pm una dilución) en los títulos de aglutinación de un lote a otro del reactivo de látex VZVscan (Tabla 8).

Tabla 7

Ausencia de reactividad cruzada con otros virus herpes

Muestra de suero ^a	VZV ^b	HSV ^c	CMV ^d	EBV ^e
A 7B	-	-	-	120
A10B	-	1024	-	14 ^f
A19B	-	-	-	18 ^f
A28B	-	256	512	164
A55B	-	512	256	288
A60B	-	1024	-	145
A95B	-	64	-	81
A108B	-	64	-	95
A114B	-	-	512	161
A148B	-	128	-	166
A150B	-	128	-	227
A152B	-	512	-	184
A177B	-	64	256	148
A190B	-	-	-	94
A251B	-	256	64	97

a Muestras de suero obtenidas de adultos normales.

b Prueba de aglutinación de látex VZVscan y ensayo FAMA (Columbia University, USA).

c Prueba de látex Virogen HSV Ab (Wampole Laboratories, USA).

d CMVscan (Becton, Dickinson and Company, USA).

e EB-VCA G FIAX (BioWhittaker USA).

f Ambiguo.

Table 8

Reproducibilidad intraanalítica				
Prueba	Títulos de suero			
	Alto	Medio	Bajo	Negativo
1	256	32	4w ^a	< 2
2	256	32	4w	< 2
3	256	32	4w	< 2
4	256	32	4w	< 2
5	256	32	4w	< 2
Reproducibilidad entre lotes				
Lote de látex VZV	Títulos de suero			
	Alto	Medio	Bajo	Negativo
#1	256	32	4w ^a	< 2
#2	256	32	2	< 2
#3	256	32	2	< 2

^a. w = aglutinación débil

DISPONIBILIDAD

N.º ref.	Descripción	N.º ref.	Descripción
254126	VZVscan, equipo de 30 pruebas (cualitativas).	277979	Envase de accesorios del agitador rotativo para pruebas en tarjeta Macro-Vue , que contiene una tapa de extensión de 38 cm x 18 cm y dos tapas humidificadoras.
254201	VZVscan, equipo de 100 pruebas (cualitativas).	273310	Puntas de pipeta, caja de 1000.
278501	Agitador rotativo para pruebas en tarjeta Macro-Vue (con tapa humidificadora), 100 ± 2 rpm, cronómetro automático, mecanismo impulsor por fricción, Modelo 51-II (110 V) y Modelo 54 (220 V).		

REFERENCIAS: Véase la sección "Referencias" en el texto inglés.



Manufacturer / Producent / Fabrikant / Valmistaja / Fabricant / Hersteller /
Κατασκευαστής / Ditta produttrice / Fabrikant / Fabricante / Tillverkare



Use by / Anvendes før / Houdbaar tot / Viimeinkayttöpaiva / A utiliser avant /
Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Usare entro / Brukes før / Utilizar em / Usar antes de
/ Anvand fore



Catalog number / Katalognummer / Catalogusnummer / Tuotenumero / Numero
catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Numero di catalogo / Katalognummer /
Numero do catalogo / Numero de catalogo / Katalognummer



Authorized Representative in the European Community / Autoriseret repræsentant i EU /
Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Valtuutettu edustaja Euroopan
yhteisossa / Representant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung /
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Rappresentante
autorizzato nella Comunità europea / Autorisert representant i EU / Representante
autorizado na União Europeia / Representante autorizado en la Comunidad Europea /
Auktoriserad representant i EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / In vitro diagnostisk medicinsk anordning /
Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte /
Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro
διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro
diagnostisk medisinsk utstyr / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositivo
médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik



Temperature limitation / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimitet /
Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich /
Όριο θερμοκρασίας / Temperatura limite / Temperaturbegrænsning / Limitação da
temperatura / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning



Control / Kontrol / Controle / Kontrolli / Contrôle / Kontrolle / Controllo /
Kontroll / Controlo / Έλεγχος



Batch Code (Lot) / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Erakoodi (LOT) / Code de lot
(Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Codice del
lotto (partita) / Batch-kode (Serie) / Código do lote (Lote) / Código de lote (Lote) /
Satskod (parti)



Contains sufficient for <n> tests / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor
<n> tests / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests /
Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / Contenuto
sufficiente per <n> test / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Contémo suficiente para
<n> testes / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester



Consult Instructions for Use / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing /
Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten /
Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultare le istruzioni per l'uso / Se i
bruksanvisningen / Consulte as instrucoes de utilizacao / Consultar las instrucciones de
uso / Se bruksanvisningen



Negative control / Negativ kontrol / Negatieve controle / Negatiivkontrolli / Contrôle
négatif / Negative Kontrolle / Αρνητικός έλεγχος / Controllo negativo / Negativ kontroll /
Controlo negativo / Control negativo / Negativ kontroll



Positive control / Positiv kontrol / Positieve controle / Positiivkontrolli / Contrôle
positif / Positive Kontrolle / Θετικός έλεγχος / Controllo positivo / Positiv kontroll / Controllo
positivo / Control positivo / Positiv kontroll



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663



BENEX Limited
Bay K 1a/d, Shannon Industrial Estate
Shannon, County Clare, Ireland
Tel: 353-61-47-29-20
Fax: 353-61-47-25-46

BD, BD Logo, CMVscan, Macro-View and VZVscan are
trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2003 BD