MASTAZYME HSV-2

Enzymimmunoassay zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von humanen IgG / IgM / IgA Antikörpern gegen das Herpes simplex Virus 2 in Serum und Plasma

Enzyme immunoassay for the detection and quantification of human IgG / IgM / IgA antibodies against Herpes simplex virus 2 in serum and plasma

Test immunoenzymatique pour la détection et la quantification des anticorps IgG / IgM / IgA anti-Virus Herpes simplex type 2 dans le sérum et le plasma humain

Gebrauchsinformation / Instructions for Use / Notice Technique

CE

Nur zur *in-vitro* Diagnostik

For *in-vitro* diagnostic use only

Usage *in vitro* uniquement

Deutsch:	Seiten	02 - 08
English:	Pages	09 - 15
Français:	Pages	16 - 23

Test	**Best.-Nr.:/ Oder Codes:/ Code**	**Kits für/ Kits for/ Conditionnement**
MASTAZYME HSV-2 IgG	680621	12 x 8 Tests
MASTAZYME HSV-2 IgM	680622	12 x 8 Tests
MASTAZYME HSV-2 IgA	680623	12 x 8 Tests

Lagerung / Storage / Conservation: 4 - 8 °C

	Inhalt	Seite
1.	Einleitung	3
2.	Testprinzip und Verwendungszweck	3
3.	Packungsinhalt	4
4.	Zusätzlich benötigte Materialien	4
5.	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	5
6.	Lagerung und Stabilität	5
7.	Probengewinnung und -handhabung	5
8.	Testdurchführung	6
9.	Auswertung und Interpretation	7
10.	Testcharakteristika	7
11.	Literatur	8

1. Einleitung

Das Herpes-simplex-Virus vom Typ 2 (HSV-2) ist ein beim Menschen weltweit vorkommender pathogener Erreger, der meist eine asymptomatische Infektion oder leichte Haut- bzw. Schleimhaut-Läsionen hervorruft. Antikörper gegen HSV-2 sind bei ca. 20 % aller Erwachsenen nachzuweisen. Die Primärinfektion erfolgt in der Regel durch orale Sekrete oder offene Wunden. In sozial schwachen Schichten oder bei Personen mit hoher Promiskuität liegt die Prävalenz bei ca. 60 %.

Eine Erstinfektion mit HSV-2 Infektion findet üblicherweise im Urogentitaltrakt statt und kann trotz einer bestehenden HSV-1 Infektion erfolgen. HSV-2 bleibt in den Lumbosakralganglien oder im peripheren Gewebe latent und löst von dort Episoden manifesten Herpes genitalis aus.

Neurologische Komplikationen treten selten auf und verlaufen gutartiger als durch HSV-1 verursachte. Hingegen sind Infektionen bei Neugeborenen während oder kurz nach der Geburt, z. B. bei Herpes genitalis der Mutter, wegen der hohen Letalitätsrate gefürchtet.

Durch einen signifikanten IgG-Titeranstieg lässt sich eine Erstinfektion mit HSV-1/2 innerhalb von 6 - 10 Tagen nachweisen. Eine überstandene Infektion kann ebenfalls mit dem IgG-ELISA überprüft werden. Bei Verdacht auf eine HSV-Enzephalitis sollte die parallele Bestimmung von spezifischen HSV-Antikörpern (IgG, IgM) aus Serum und Liquor durchgeführt werden.

2. Testprinzip und Verwendungszweck

Der MASTAZYME HSV-2 Antikörper ELISA dient dem Nachweis und der Quantifizierung von spezifischen IgG-/ IgM-/ IgA-Antikörpern gegen HSV-2 in Serum oder Plasma. Die Verwendung des ELISAs für andere Körperflüssigkeiten kann auf Anfrage zur Verfügung gestellt werden. MASTAZYME HSV-2 ist nur zur *in-vitro* Diagnostik zu verwenden.

Das Testprinzip des ELISAs kann in 4 Schritten beschrieben werden.

2.1 Seruminkubation und 1. Waschschritt

Spezifische Antikörper bilden mit dem Antigen, das an die Festphase gebunden ist, einen stabilen Immunkomplex. Nach einer 60minütigen Inkubation bei Raumtemperatur werden unspezifisch gebundene Serumkomponenten durch Waschen entfernt.

2.2 Konjugatinkubation und 2. Waschschritt

Meerrettich-Peroxidase-markiertes anti-human-IgG /-IgM /-IgA bindet an die entsprechenden Antikörper auf dem Festphasenantigen und bildet mit diesen einen stabilen Immunkomplex. Überschüssiges nicht gebundenes Konjugat wird nach der 30minütigen Inkubation durch Waschen entfernt.

2.3 Substrat- und Stoppreaktion

Nach Zugabe des TMB-Substrats wird dieses durch das Enzymkonjugat umgesetzt. Es entsteht eine bläuliche Färbung, deren Intensität mit der Menge der gebundenen Konjugatmoleküle korreliert. Nach 20 Minuten Inkubation wird die Reaktion durch Zugabe von 0,5 N Schwefelsäure (H_2SO_4) gestoppt. Die pH-Verschiebung führt zum Farbumschlag von blau nach gelb.

2.4 Auswertung

Die Reaktionsansätze können nun mit einem ELISA-Plattenreader bei 450 nm (empfohlene Referenzwellenlänge bei bichromatischer Messung: 600 – 690 nm) gemessen werden. Die Extinktion (OD) korreliert mit der Konzentration der spezifischen Antikörper.

Das Ergebnis kann aus einer Eichkurve abgelesen oder durch geeignete Kurvenberechnung (4-Parameter-Anpassung, Spline-Approximation o.ä.) ermittelt werden.

3. Packungsinhalt

Der Testkit enthält genügend Reagenzien für 12 x 8 = 96 Bestimmungen. Die Streifen der Mikrotiterplatte sowie alle anderen Reagenzien sind bei 4 - 8 °C zu lagern. Das Verfallsdatum der einzelnen Komponenten ist auf den jeweiligen Etiketten vermerkt.

12	Streifen	mit je 8 einzeln abbrechbaren Wells, die mit Antigen von HSV-2 beschichtet sind.
1 x	Rahmen	für Streifen der Mikrotiterplatte (MTP).
4 x 2 mL	Kalibratoren 1 - 4	humanes Serum mit IgG-/ IgM-/ IgA-Antikörpern gegen HSV-2, verdünnt mit PBS in folgenden Konzentrationen, stabilisiert mit 0,01 % Methylisothiazolon und 0,01 % Bromnitrodioxan als Konservierungsmittel, gebrauchsfertig.

		IgG	IgM	IgA
Kal. 1 (negativ)	Konzentration (U/mL)	1	1	1
Kal. 2 (Cut-off)		10	10	10
Kal. 3 (schwach positiv)		35	40	50
Kal. 4 (positiv)		150	150	200

1 x 60 mL	Serumdiluent	PBS/BSA Puffer Natriumazid (NaN_3 < 0,1 %) als Konservierungsmittel
1 x 12 mL	Enzymkonjugat	Meerrettich-Peroxidase markiertes anti-human-IgG /-IgM /-IgA (Ziege), gebrauchsfertig
1 x 12 mL	TMB-Substrat	3,3',5,5' Tetramethylbenzidin, gebrauchsfertig
1 x 12 mL	Stopplösung	0,5 N H_2SO_4 (Schwefelsäure), gebrauchsfertig
1 x 60 mL	Waschpuffer 10 x Konz.	PBS/Tween Puffer, vor Gebrauch 1:10 mit dest. Wasser verdünnen, vor Gebrauch kurz erwärmen, um mögliche Kristalle zu lösen
2 x	Abdeckfolie	Zur Abdeckung der Mikrotiterplatte (MTP) während der Inkubation
1 x	Plastikbeutel	Zur Lagerung nicht benötigter MTP-Streifen

4. Zusätzlich benötigte Materialien

- 5 µL-, 100 µL- und 500 µL-Pipetten oder Multipetten
- Photometer für Mikrotiterplatten mit 450 nm Filter (Referenzfilter 600 – 690 nm)
- Waschgerät für Mikrotiterplatten (bei manuellem Waschen: Waschflasche)
- Röhrchen für Serumverdünnungen
- Messzylinder
- Destilliertes Wasser oder Wasser höherer Qualität

5. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Den Test nur zur *in-vitro* Diagnostik verwenden! Reagenzien nicht schlucken oder einatmen. Die Sicherheitsbestimmungen des Labors sind zu beachten. Im Labor darf nicht gegessen, getrunken oder geraucht werden.
- Alle Seren und Plasmen sowie Puffer des Kits, die humanes Probenmaterial enthalten, wurden mit anerkannten Methoden auf HBsAg, HIV und HCV getestet und für negativ befunden. Da das Vorhandensein solcher Erreger trotzdem nicht völlig ausgeschlossen werden kann, sollten die Reagenzien wie potenziell infektiöses Material behandelt werden.
- Serum- und Reagenzien-Kontaminationen sollten mit Desinfektionsmitteln gesäubert und der Abfall entsprechend entsorgt werden.
- Alle Reagenzien müssen vor Testbeginn auf Raumtemperatur (18 - 24 °C) gebracht werden.
- Vor der Verwendung sind die Reagenzien gut zu mischen. Heftiges Schütteln und Schaumbildung sind zu vermeiden.
- Beim Pipettieren ist auf gleiche Zeitintervalle zu achten, um für alle Testansätze gleiche Bedingungen zu gewährleisten.
- Beim Öffnen der Fläschchen ist eine Kontamination des Stopfens zu vermeiden. Um das Risiko möglicher Oxidationen zu minimieren, sind die Fläschchen nach Gebrauch sofort wieder zu verschließen.
- Um Verschleppungen und Kreuzkontaminationen zu vermeiden, sind Einmal-Spitzen zu verwenden.
- Reagenzien verschiedener Kit-Chargen sollten nicht verwendet werden.
- Alle Reagenzien sind vor Ablauf des Verfallsdatums zu verwenden.
- Gemäß den GLP (Good Laboratory Practice) oder entsprechenden Richtlinien sind alle Laborgeräte regelmäßig auf Funktion und Präzision zu prüfen, dies gilt z. B. für die Pipetten, Waschgeräte und ELISA-Reader.
- Der Kontakt mit der Schwefelsäure enthaltenden Stopplösung und TMB-Substrat ist zu vermeiden. Bei Hautkontakt unverzüglich und gründlich mit Wasser abwaschen. Alle Geräte sofort nach Gebrauch sorgfältig reinigen.

6. Lagerung und Stabilität

Alle Reagenzien bei 4 - 8 °C lagern.

Das Verfallsdatum jedes Kitbestandteils ist auf dem entsprechenden Etikett vermerkt. Die Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht weiter verwenden.

Verdünnter Waschpuffer kann bei 4 - 8 °C gelagert werden. Unter diesen Bedingungen kann er bis zu 4 Wochen verwendet werden.

7. Probengewinnung und -handhabung

Es kann sowohl Serum als auch Plasma (EDTA, Heparin) zur Bestimmung verwendet werden. Die Proben können 2 Tage bei 2 - 8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Aufbewahrung Proben sofort nach Entnahme in Aliquots aufteilen und bei -20 °C einfrieren. Proben, deren Konzentration über dem höchsten Kalibrator liegt, müssen mit Serumdiluent weiter verdünnt und erneut analysiert werden.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden!

Aufgetaute Proben sollten vor der Verwendung im Test gemischt (Vortex) werden.

Lipemische, ikterische oder hämolysierte Proben können falsche Ergebnisse ergeben.

Vor der Analyse müssen **Patientenproben** mit **Serumdiluent 1:101** (z. B. 5 µL Serum + 500 µL Serumdiluent) verdünnt werden.

Zur Vermeidung von Störungen durch Rheumafaktoren können die Patientenproben mit MASTSORB (Kat.-Nr.: 651003) präabsorbiert werden. Kalibratoren dürfen **n i c h t** absorbiert werden.

8. Testdurchführung

8.1. Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien und Proben mischen und auf Raumtemperatur (RT, 18 - 24 °C) bringen.

Waschpuffer: Beim Vorliegen von Salzkristallen das Konzentrat auf 37 °C erwärmen und nach Lösung der Kristalle mischen.

Das **Waschpuffer-Konzentrat** mit **destilliertem Wasser 1:10** verdünnen (z. B. 60 mL Konzentrat + 540 mL dest. Wasser), mischen.

- Die Gebrauchsanweisung ist zu befolgen. Jegliche Abänderung oder Modifikation erfolgt in Verantwortung des Anwenders.
- Alle Reagenzien müssen vor Testbeginn auf Raumtemperatur gebracht werden. Die Reagenzien sollten nur so lange wie nötig bei Raumtemperatur gelagert werden.
- Für die quantitative Auswertung ist mit jedem Testansatz eine Eichkurve zu erstellen.
- Nicht benötigte MTP-Streifen sollten in der Plastikhülle bei 4 - 8 °C trocken gelagert werden.

8.2. Testablauf

Hinweis: Es können andere als die empfohlenen Inkubationsbedingungen gewählt werden. Bei Abweichung vom vorliegenden Protokoll (z. B. Inkubationstemperatur 37 °C statt RT) ist der Anwender für die Validierung des Tests verantwortlich.

1. Je **100 µL** der **vorverdünnten** (1:101) **Patientenproben** und **gebrauchsfertigen Kalibratoren** in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren.
2. Streifen mit der beiliegenden Folie verschließen und bei **RT** für **60 Minuten** inkubieren.
3. Platteninhalt verwerfen und Vertiefungen mit **3 x 300 µL** gebrauchsfertigem **Waschpuffer** waschen. Rückstände von Waschpuffer sind durch Ausklopfen der Platten auf Vliespapier zu entfernen.
4. **100 µL Enzymkonjugat** in alle Vertiefungen pipettieren.
5. Streifen mit der beiliegenden Folie verschließen und bei **RT** für **30 Minuten** inkubieren.
6. Waschen wie unter Punkt 3. beschrieben.
7. **100 µL TMB-Substrat** pipettieren.
8. Streifen mit der beiliegenden Folie verschließen und bei **RT** für **20 Minuten im Dunkeln** inkubieren.
9. Reaktion durch Zugabe von **100 µL Stopplösung** beenden.
10. Inhalt der Vertiefungen kurz mischen und anschließend bei **450 nm** messen. Als Blank wird gegen Luft gemessen. Es wird empfohlen als Referenzwellenlänge 600 - 690 nm zu verwenden. Die Konzentrationen können graphisch an Hand der Eichkurve oder mittels Computersimulation berechnet werden.

    Die entwickelte Farblösung sollte innerhalb von 60 Minuten nach Zugabe der Stopplösung gemessen werden.

9. Auswertung und Interpretation

Beispiel

	OD 450 nm	korrigierte OD Werte	Mittelwert OD
Blank	0,012		
Kalibrator 1 (negativ)	0,017/0,016	0,005/0,004	0,005
Kalibrator 2 (cut-off)	0,540/0,557	0,528/0,545	0,537
Kalibrator 3 (schwach positiv)	1,022/1,060	1,010/1,048	1,029
Kalibrator 4 (positiv)	2,184/2,158	2,172/2,146	2,159

Die obige Tabelle dient als Beispiel. Die Daten beschreiben keine Werte, die in anderen Laboratorien erhalten wurden. Die Daten dürfen **nicht** zur Erstellung einer Eichkurve verwendet werden.

9.1. Qualitative Auswertung

Die berechnete Absorption der Probe wird mit der des Cut-off Kalibrators verglichen. OD-Werte über dem Cut-off sind als positiv, Werte unterhalb der Cut-off OD als negativ zu bewerten.

Werte im Bereich der Cut-off OD (± 20 %) sind als Graubereich zu betrachten. Es wird empfohlen, die Bestimmung zu wiederholen oder 2 - 4 Wochen später eine neue Patientenprobe zu analysieren. In diesem Fall sollten beide Proben innerhalb eines Testlaufs untersucht werden.

Die optische Dichte des positiven Kalibrators muss mindestens doppelt so hoch sein wie die des Cut-off Kalibrators.

9.2 Quantitative Auswertung

Die Konzentrationen der MASTAZYME HSV-2 IgG / IgM / IgA Kalibratoren sind in Einheiten (U/mL) angegeben. Die exakten Konzentrationen sind auf den Etiketten der Kalibratoren angegeben. Die Extinktion wird entweder graphisch oder mittels Computersimulation gegen die Konzentration der Kalibratoren aufgetragen und die Konzentration der Patientenprobe direkt abgelesen oder berechnet.

Die quantitative Bestimmung der Antikörper gegen HSV-2 ermöglicht eine einfache zuverlässige Überwachung der entsprechenden Antikörpertiter zur Therapiekontrolle.

10. Testcharakteristika

Die Testcharakteristika der MASTAZYME HSV-2 IgG / IgM / IgA ELISAs wurden entsprechend den Vorgaben der IVD-Direktive der EU erstellt und bewegen sich im erwarteten Bereich. Auf Wunsch können diese Daten dem Anwender zur Verfügung gestellt werden.

11. Literatur

1. Balows, Hauslin, Ohasi, Turono: In: "Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Principles and Practice". Springer Verlag Berlin, Heidelberg, London, Paris, Tokyo: **212** (1988).
2. Corey L, Spear PG. Infections with Herpes simplex viruses (1 + 2). N. Engl. J. Med., **314**: 686 (1986).
3. Johnston SL, Wellens K. Comparative evaluation of four commercially available monoclonal antibodies for culture confirmation of Herpes simplex infection. J. Clin. Microbiol., **30**: 1874 (1992).
4. Lafferty WE, Coombs RB, Beneditti J et al. Recurrences after oral and genital Herpes simplex virus. Influence of site of infection and viral type. N. Engl. J. Med., **316**: 1444 (1987).
5. Rabie-Finger I, Valentine-Thon E, Steinmann J, Nehrkorn A. Serological responses to Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) analysed with Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Western Blot (WB). Acta virol., **35**: 113 (1991).
6. Rose RR, Friedmann H, Fahey JL. In: "Manual of Clinical Laboratory Immunology" (third edition); American Society for Microbiology, Washington, D.C.: 497 (1987).
7. Sunstrum J. Herpes simplex infections: A review. J. Clin. Immunoass., **12**: 175 (1989).
8. Zheng ZM, Mayo DR, Hsiung GD. Comparison of biological, biochemical, immunological techniques for typing Herpes simplex virus isolates. J. Clin. Microbiol., **17**: 396 (1983).
9. Enders G. Herpes simplex. In: Infektionen und Impfungen in der Schwangerschaft, S. 54, Urban und Schwarzenberg, München (1990).
10. Wutzler P in: T. Postmann Diagn. Bibliothek, **Vol. 18** (1993), Blackwell Wissenschaftsverlag.
11. Selb B. Medizinische Virusdiagnostik (1992), Umschau Verlag, Frankfurt.
12. Thomas L. Labor und Diagnostik, 4. Auflage (1992), Med. Verlagsgesellschaft, Marburg.

	Contents	Page
1.	Intended Use	10
2.	Introduction	10
3.	Principle of the Test	10
4.	Kit Contents	11
5.	Materials Required but not Provided	11
6.	Warning and Precautions	12
7.	Storage and Stability	12
8.	Specimen Collection and Handling	12
9.	Assay Procedure	13
10.	Results and Interpretation	14
11.	Assay Performance	14
12.	References	15

1. Intended Use

Mastazyme Herpes simplex 2 (HSV-2) Antibody ELISA has been designed for the detection and the quantification of specific IgG / IgM / IgA antibodies respectively against Herpes simplex 2 in serum and plasma. Further applications in other body fluids are possible and can be provided on request.

This assay is intended for *in-vitro* diagnostic use only.

All laboratory test results should be interpreted in conjunction with other clinical data. The clinical judgement and further tests have additionally to be taken into account.

2. Introduction

The HSV-2 is a ubiquitous pathogen in humans that usually causes either asymptomatic infection or mild skin and mucosal diseases. Antibodies to HSV-2 occur in about 20 % of all adults. Normally HSV-2 is transmitted by oral secretions or open wounds. In lower social classes and in sexually promiscuous people the prevalence is higher (about 60 %).

After the primary infection some viruses establish a latent state in their host cells (mostly ganglia cells). The virus DNA is integrated into the genome of the host cell where it remains until the infected person dies. After stimulation of the host cell recurrent infection occurs this is called an exacerbation when clinical symptoms appear. The recurrence may be caused by different kinds of traumas as fever or physiological changes and diseases.

HSV-2 causes different clinical symptoms. Of major importance is the Herpes genitalis syndrome which occurs principally in adults. The preceding primary infection will be transmitted via sexual contact. Typical loci of appearance are the mucosas of the human genital tract. Additionally HSV-2 is among viruses suspected of inducing cervix carcinoma in women. In some patients contiguous skin regions are involved particularly on the buttocks or perianal area. The Herpes genitalis exacerbations are normally endogenic relapses which lead to the same blistered symptoms like Herpes labialis. In some cases a HSV-2 caused meningitis occurs the course of which is much milder than a HSV-1 caused encephalitis and which symptoms are always reversible. This meningitis appears especially in connection with a HSV-2 primary infection. The most severe complication of genital HSV infection is the neonatal disease which is caused by an infection during or shortly after the delivery. The risk of neonatal infections seems to be higher during symptomatic primary infection of the mother. The drug Acyclovir is the treatment of choice for most serious HSV infections.

The common manifestations of HSV infections are so typical that the infection may be easily diagnosed on clinical recognition alone. The "gold standard" for diagnosis of HSV infection remains isolation of the virus in tissue culture. For typing HSV-1/HSV-2 Western blots or indirect immunofluorescence may be performed.

Diagnosis of the primary infection by HSV-1/HSV-2 can be confirmed by a significant rise of the IgG titer within 6 to 10 days. A finished infection can be monitored by the IgG ELISA. In case of a suspicion of HSV encephalopathy it is recommended to perform a parallel determination of both HSV-specific antibodies (IgG and IgM) in serum and liquor.

3. Principle of the Test

The principle of the test reaction can be described in four stages.

3.1 Serum incubation

Specific antibodies bind to the antigens on the solid phase to form a stable immune complex. After a 60 minutes incubation at room temperature the wells are washed with prediluted wash buffer to remove all non-reactive serum components.

3.2 Conjugate incubation

The anti-human-IgG /-IgM /-IgA horseradish peroxidase conjugate is added to all wells. The conjugate binds to the respective IgG / IgM / IgA antibodies on the solid phase antigen to form a stable sandwich. After a 30 minutes incubation at room temperature the excess conjugate is removed by washing all wells with washing buffer.

3.3 Substrate reaction and stopping

The TMB substrate is dispensed into each well and the peroxidase enzyme/substrate reaction forms a stable blue chromogen. The reaction and subsequently the colour development is stopped after 20 minutes incubation at room temperature by adding 0.5 N H_2SO_4 to the wells. The change in pH also causes the chromogen to change colour from blue to yellow.

3.4 Reading and interpretation

The intensity of the colour is read in a microtiter plate reader at 450 nm (recommended reference wavelength for bichromatic measurement: 600 - 690 nm). The intensity of the colour (OD) is directly proportional to the concentration of the specific antibody in the patient sample.

4. Kit Contents

The kits contains sufficient reagents for 12 x 8 = 96 determinations. The strips and solutions have to be stored at 4 - 8 °C. The expiry date is mentioned on the labels.

12 strips	Microtiter strips	single strips each with 8 break-apart wells coated with the antigen of Herpes simplex 2 virus
1 x	Frame holder	
4 x 2 mL	Calibrators 1 - 4	human serum containing antibodies against HSV-2 (concentrations listed below) diluted in PBS and stabilised with 0.01 % methylisothiazolone and 0.01 % bromonitrodioxane as preservatives, ready to use.

		IgG	IgM	IgA
Cal. 1 (negative)	Concentration (U/mL)	1	1	1
Cal. 2 (cut-off)		10	10	10
Cal. 3 (weak positive)		35	40	50
Cal. 4 (positive)		150	150	200

1 x 60 mL	Serum diluent	PBS/BSA buffer solution, contains < 0.1 % sodium azide as preservative, ready to use
1 x 12 mL	Enzyme conjugate solution	HRP-labelled goat ant-human-IgG /-IgM /-IgA, ready to use
1 x 12 mL	TMB substrate	3,3', 5, 5' Tetramethylbenzidine, ready to use
1 x 12 mL	Stop solution	0.5 N sulfuric acid, ready to use
1 x 60 mL	Washing buffer	PBS/Tween buffer solution, 10x concentrated, to be diluted 1:10 prior to use; the concentrate should be warmed up to 37 °C for 15 min to avoid any crystals
2 x.	Plate sealers	to cover microtiter strips during incubaton
1 x	Plastic bag	re-sealable for dry storage of non-used strips

5. Materials Required but not Provided

- 5 µL-, 100 µL- and 500 µL micro- and multichannel pipets
- Microtiter plate reader with a 450 nm filter (reference filter 600 – 690 nm)
- Microtiter Plate Washer (in case of manual washing: wash bottle)
- Reagent tubes for the serum dilution
- Measuring cylinder
- Distilled water or water of higher quality

6. Warning and Precautions

- For *in-vitro* diagnostic use only! Do not ingest or swallow! Laboratory safety precautions should be followed. Do not eat, drink or smoke in the laboratory.
- All sera and plasma or buffers based upon have been tested to HBsAg, HIV and HCV respectively with generally accepted methods and were found negative. Nevertheless precautions like the use of latex gloves have to be taken.
- Serum and reagent spills have to be wiped off with a disinfecting solution (e.g. sodium hypochlorite, 5 %) and have to be disposed of properly.
- All reagents have to be brought to room temperature (18 to 24 °C) before performing the test.
- Before pipetting all reagents should be mixed thoroughly by gentle tilting or swinging. Vigorous shaking with formation of foam should be avoided.
- It is important to pipet with constant intervals so that all the wells of the microtiter plate have the same conditions.
- When removing reagents out of the bottles care has to be taken that the stoppers are not contaminated. Further a possible mix-up has to be avoided. The content of the bottles is usually sensitive to oxidation so that they should be opened only for a short time.
- In order to avoid a carry-over or a cross-contamination separate disposable pipet tips have to be used.
- No reagents from different kit lots should be used and they should not be mixed with one another.
- All reagents have to be used within shelf life.
- In accordance with a Good Laboratory Practice (GLP) or following ISO 9001 all laboratory devices employed should be regularly checked regarding the accuracy and precision. This refers e.g. to microliter pipets and washing or reading (ELISA Reader) instrumentation.
- The contact of certain reagents especially the stopping solution and the substrate with skin, eye and mucosa has to be avoided because possible irritations and acid burns could arise and there exists a danger of intoxication.

7. Storage and Stability

Store all reagents at 4 - 8 °C.

The expiry date of each reagent is printed on the individual labels. Do not use any reagents after the expiry date has been exceeded.

The diluted washing buffer is stable for up to 4 weeks when stored at 4 - 8 °C.

8. Specimen Collection and Handling

Both serum or plasma (EDTA, heparin) can be used for the determination. Serum is separated from the blood which is aseptically drawn by venipuncture after clotting and centrifugation. The serum or plasma samples can be stored at 4 - 8 °C for up to 48 hours. They should be kept at -20 °C for a longer storage. The samples should not be frozen and thawed repeatedly. Lipemic, hemolytic or bacterially contaminated samples can cause false positive or false negative results.

Patient sera must be prediluted **1:101** in **serum diluent** (e.g. 5 µL serum + 500 µL serum diluent) prior to testing.

Samples containing concentrations higher than the highest calibrator have to be diluted further with serum diluent.

In case of interference with rheumatic factors serum preabsorption with Rf absorbant (MASTSORB Order Code: 651003) is recommended. Do **not** absorb the calibrators.

9. Assay Procedure

9.1. Preparation of Reagents

Allow all kit components and specimens to reach room temperature (RT, 18 – 24 °C) prior to use and mix well.

Washing buffer: Dissolve any crystals which may be in the bottle by warming to 37 °C and then mix well.

Dilute the concentrated **washing buffer 1:10 with distilled water** (e.g. 60 mL buffer concentrate + 540 mL distilled water). Mix thoroughly.

- Strictly follow the instructions for reliable test performance. Any changes or modifications are within the responsibility of the user.
- All reagents and samples must be brought to room temperature before use, but should not be left at this temperature for longer than necessary.
- A standard curve should be established with each assay.
- Put the unused microtiter strips back in the plastic bag and store them dry at 4 - 8 °C.

9.2. Assay Steps

Prepare a sufficient amount of microtiter wells for calibrators, controls and samples.

Note: Other incubation conditions might be possible. In case of modifications of the recommended test procedure (e.g. incubation temperature 37 °C instead of RT) the user has to validate assay performance.

1. Pipette **100 µL** each of the **diluted** (1:101) **samples** and the **ready to use calibrators** into the appropriate wells.
2. Cover plate with the enclosed plate sealing foil and **incubate** at room temperature for **60 minutes**.
3. Discard the contents of the microwells and wash **3 times** with **300 µL** of **diluted washing buffer**. Afterwards remove residues of the washing solution by gentle tapping of the microtiter plate on a paper towel.
4. Pipette **100 µL** of **enzyme conjugate** solution into each well.
5. Cover plate with plate sealing foil and **incubate** for **30 minutes** at room temperature.
6. Discard the contents of the microwells and wash **3 times** with **300 µL** of **diluted washing buffer**. Afterwards remove residues of the washing solution by gentle tapping of the microtiter plate on a paper towel.
7. Dispense **100 µL** of **TMB substrate** into each well.
8. Cover plate with the plate sealing foil and **incubate** for **20 minutes** in the dark (e.g. drawer) at room temperature.
9. Add **100 µL** of **stopping solution** to each well.
10. After thorough mixing and wiping the bottom of the plate, **read the optical density** at **450 nm** and calculate the results. Blank against air. A bichromatic measurement using a reference wavelength of 600 - 690 nm is recommended.

    The developed colour is stable for at least 60 minutes. Read optical densities during this time.

10. Calculation

Example

	OD 450 nm	corrected OD	Mean OD Value
Blank	0.012		
Calibrator 1 (negative)	0.017/0.016	0.005/0.004	0.005
Calibrator 2 (cut-off)	0.540/0.557	0.528/0.545	0.537
Calibrator 3 (weak positive)	1.022/1.060	1.010/1.048	1.029
Calibrator 4 (positive)	2.184/2.158	2.172/2.146	2.159

The table above should be considered as an example which was achieved under arbitrary temperature and environmental conditions. These data do NOT describe **reference values** which have to be found in other laboratories in the same way!

10.1. Qualitative Calculation

The calculated OD values for patient sera as mentioned above are compared with the value for the cut-off calibrator. If the value of the sample is higher, then it should be read as positive.

A value below the cut-off calibrator should be read as negative. It seems reasonable to define a range of ± 20 % around the value of the cut-off as a grey zone. It is recommended to repeat results laying within the grey zone using the same serum or a new sample of the same patient taken after 2 - 4 weeks. Both samples should be measured in parallel in the same run.

The positive calibrator must show an absorption value at least double the value received by the cut-off calibrator.

10.2 Quantitative Calculation

The ready to use calibrators of the HSV-2 antibody kit are defined and values expressed are in arbitrary units (U/mL). This gives access to an exact and reproducible quantification and in consequence patient antibody titer monitoring is possible. Concentration values for calibrators are printed on the labels of the vials.

A standard curve is plotted by entering the mean absorbance value of the calibrators on the Y-axis and the corresponding concentration on the X-axis using graph paper. The concentration of the patient samples can then be read directly from the graph.

The calculation of the result can be performed using a computer and a suitable software program.

11. Assay Performance

The assay characteristics of the MASTAZYME HSV-2 IgG / IgM / IgA ELISAs have been established and assessed according the European IVD directive. Detailed validation data can be provided on special request.

12. References

1. Balows, Hauslin, Ohasi, Turono: In: "Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Principles and Practice". Springer Verlag Berlin, Heidelberg, London, Paris, Tokyo: **212** (1988).
2. Corey L, Spear PG. Infections with Herpes simplex viruses (1 + 2). N. Engl. J. Med., **314**: 686 (1986).
3. Johnston SL, Wellens K. Comparative evaluation of four commercially available monoclonal antibodies for culture confirmation of Herpes simplex infection. J. Clin. Microbiol., **30**: 1874 (1992).
4. Lafferty WE, Coombs RB, Benedetti J et al. Recurrences after oral and genital Herpes simplex virus. Influence of site of infection and viral type. N. Engl. J. Med., **316**: 1444 (1987).
5. Rabie-Finger I, Valentine-Thon E, Steinmann J, Nehrkorn A. Serological responses to Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) analysed with Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Western Blot (WB). Acta virol., **35**: 113 (1991).
6. Rose RR, Friedmann H, Fahey JL. In: "Manual of Clinical Laboratory Immunology" (third edition); American Society for Microbiology, Washington, D.C.: 497 (1987).
7. Sunstrum J. Herpes simplex infections: A review. J. Clin. Immunoass., **12**: 175 (1989).
8. Zheng ZM, Mayo DR, Hsiung GD. Comparison of biological, biochemical, immunological techniques for typing Herpes simplex virus isolates. J. Clin. Microbiol., **17**: 396 (1983).
9. Enders G. Herpes simplex. In: Infektionen und Impfungen in der Schwangerschaft, S. 54, Urban und Schwarzenberg, München (1990).
10. Wutzler P in: T. Postmann Diagn. Bibliothek, **Vol. 18** (1993), Blackwell Wissenschaftsverlag.
11. Selb B. Medizinische Virusdiagnostik (1992), Umschau Verlag, Frankfurt.
12. Thomas L. Labor und Diagnostik, 4. Auflage (1992), Med. Verlagsgesellschaft, Marburg.

	Sommaire	Page
1.	Domaine d’utilisation	17
2.	Introduction	17
3.	Principe du test	17
4.	Composition du coffret	18
5.	Matériel nécessaire mais non fourni	19
6.	Précautions d’utilisation	19
7.	Conservation et stabilité	20
8.	Prélèvement et transport des échantillons	20
9.	Procédure ELISA	21
10.	Résultats et interprétation	22
11.	Performances du test	22
12.	Bibliographie	23

1. Domaine d'utilisation

MASTAZYME HSV-2 (Virus Herpes simplex type 2) a été conçu pour la détection et la quantification des anticorps IgG / IgM / IgA dirigés contre le virus Herpes simplex type 2 dans le sérum et le plasma. Des applications supplémentaires sur d'autres prélèvements biologiques sont possibles et peuvent être fournies sur demande.

Diagnostic *in vitro* uniquement.

Tous les résultats d'analyses doivent être interprétés en conjonction avec les données cliniques. Le tableau clinique et les tests supplémentaires doivent également être pris en compte.

2. Introduction

Le virus Herpès simplex type 2 est un pathogène ubiquitaire de l'homme qui provoque habituellement soit une infection asymptomatique, soit des maladies légères de la peau et des muqueuses. Les anticorps anti- HSV 2 se trouvent chez environ 20 % des adultes. La prévalence est supérieure (environ 60 %) dans les classes sociales économiquement défavorisées et chez les personnes ayant une activité sexuelle importante.

Après l'infection primaire, quelques virus sont en phase latente dans leurs cellules hôtes (en général dans les cellules ganglionnaires). L'ADN du virus est intégré dans le génome de la cellule hôte, où il reste jusqu'à la mort de la personne infectée. Après stimulation de la cellule hôte, une infection récurrente prend place, qui est appelée exacerbation quand les symptômes cliniques apparaissent. La récurrence peut être causée par différentes sortes de traumatismes, comme la fièvre ou des changements physiologiques et des maladies. Les personnes immunodéprimées peuvent montrer un tableau clinique sévère.

Le VHS type 2 provoque également différents symptômes cliniques. Le syndrome génital de l'herpès est d'une importance majeure et apparaît principalement chez les adultes. L'infection primaire est transmise par contact sexuel. Le lieu typique d'apparition est la muqueuse du tractus génital humain. De plus, le VHS type 2 appartient aux virus suspectés d'induire chez les femmes le carcinome cervical. Chez quelques patients, les régions contiguës de la peau sont impliquées, particulièrement sur les fesses ou dans l'aire péri-anale. Les exacerbations génitales de l'Herpès sont souvent des récidives endogènes, qui mènent aux mêmes symptômes boursouflés que l'Herpès labial. Dans certains cas, le VHS type2 provoque une méningite, dont la gravité est beaucoup moins importante que celle de l'encéphalite provoquée par VHS type 1 et dont les symptômes sont toujours réversibles. Cette méningite apparaît principalement en relation avec une infection primaire VHS type 2. La complication la plus sévère d'une infection génitale à VHS est la maladie néonatale, provoquée par une infection pendant ou juste après l'accouchement. Le risque d'infections néonatales semble être plus élevé pendant l'infection primaire symptomatique de la mère. Hormis les muqueuses et les yeux, le foie, les reins et le système nerveux central peuvent également être touchés. L'acyclovir est le traitement choisi pour les infections sévères à VHS.

Les manifestations communes des infections à VHS sont tellement typiques que l'infection peut être facilement diagnostiquée par simple reconnaissance clinique. La technique de référence pour le diagnostic des infections à VHS reste l'isolement du virus en culture cellulaire.

Le diagnostic d'une infection primaire par le VHS type 1 &2 peut être confirmé par une augmentation significative des taux d'IgG dans les 6 à 10 jours. Une infection terminée peut être suivie par le test IgG ELISA. En cas de suspicion d'encéphalopathie à VHS, il est recommandé de réaliser un dosage en parallèle des deux anticorps spécifiques VHS (IgG et IgM) dans le sérum et le liquide cérébrospinal.

3. Principe du test

Le principe du test peut être résumé en quatre étapes.

3.1 Incubation des sérums

Les anticorps spécifiques se lient aux antigènes adsorbés sur la phase solide pour former des complexes immuns stables. Après une incubation de 60 minutes à température ambiante, les puits sont lavés avec la solution de lavage prédiluée afin d'éliminer les composants non liés du sérum.

3.2 Incubation du conjugué

Le conjugué anti IgG /-IgM /-IgA humaines marqué à la peroxydase du Raifort est ajouté dans tous les puits. Il se lie aux anticorps IgG / IgM / IgA des complexes immuns adsorbés sur la phase solide. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, le conjugué en excès est éliminé par lavage de tous les puits avec la solution de lavage

3.3 Réaction du substrat et de la solution stop

Le substrat TMB est déposé dans tous les puits et le développemnet de la réaction donne une coloration stable bleu. Le développement de la réaction est stoppée après 20 minutes d'incubation à température ambiante par ajout d'acide sulfurique (H_2SO_4) 0.5 N dans chaque puits. La variation de pH provoque un changement de couleur du bleu au jaune.

3.4 Lecture et interprétation

L'intensité de coloration est lue à l'aide d'un lecteur de microplaques à 450 nm (filtre de référence recommandé pour la lecture bichromatique : 600 - 690 nm). L'intensité de coloration (DO) est directement proportionnelle à la concentration d'anticorps spécifiques présents dans le sérum du patient.

4. Composition du coffret

Le coffret contient les réactifs nécessaires et suffisants pour 12 x 8 = 96 déterminations. Les barrettes et les solutions doivent être stockées à 4 - 8 °C. La date de péremption est inscrite sur les étiquettes.

12 barrettes	Barrettes de microtitration	barrettes sécables de 8 puits coatées avec l'antigène du virus Herpes simplex 2.
1 x	Cadre de microplaque	
4 x 2 mL	Calibrateurs 1 - 4	Sérums humains contenant des anticorps anti-VHS type 2 (concentrations ci-dessous) dilués dans du PBS et stabilisés avec 0.01 % de méthylisothiazolone et 0.01 % de bromonitrodioxane comme conservateurs, prêts à l'emploi.

		IgG	IgM	IgA
Cal. 1 (négatif)	Concentration (U/mL)	1	1	1
Cal. 2 (seuil)		10	10	10
Cal. 3 (positif faible)		35	40	50
Cal. 4 (positif)		150	150	200

1 x 60 mL	Diluant des sérums	Solution tampon PBS/BSA, contient < 0.1 % d'azoture de sodium comme conservateur, prêt à l'emploi.
1 x 12 mL	Conjugué	Conjugué HRP de chèvre anti-IgG /-IgM /-IgA humaines, prêt à l'emploi.
1 x 12 mL	Substrat TMB	3,3',5,5' Tétraméthylbenzidine, prêt à l'emploi.
1 x 12 mL	Solution Stop	Acide sulfurique 0.5 N, prêt à l'emploi.
1 x 60 mL	Solution de lavage	Solution tampon PBS/Tween concentrée 10 X à diluer au 1 : 10 avant utilisation; la solution concentrée peut être chauffée à 37 °C pour éviter la formation de cristaux.
2 x	Films adhésifs	pour couvrir les barrettes de la microplaque pendant les incubations.
1 x	Sac plastique	refermable pour éviter l'humidité sur les barrettes non utilisées.

5. Matériel nécessaire mais non fourni

- Micropipettes et pipettes multicanaux de 5 µL, 100 µL et 500 µL
- Lecteur de microplaques avec filtre à 450 nm (filtre de référence 600 - 690 nm)
- Laveur automatique de microplaques (en cas de lavage manuel : pissette)
- Tubes pour la dilution des sérums
- Cylindre de mesure
- Eau distillée ou ultra pure

6. Précautions d'utilisation

- Usage *in vitro* uniquement! Ne pas ingérer ou avaler ! les mesures de sécurité du laboratoire doivent être suivies. Ne pas manger, boire ou fumer dans le laboratoire.
- Tous les sérums et réactifs inclus dans le coffret ont été trouvés négatifs pour l'antigène Hbs, le VIH et le VHC. Cependant, des précautions telles que le port de gants doivent être prises.
- Si des sérums ou des réactifs sont renversés, nettoyer la surface avec une solution désinfectante (ex : eau de Javel à 5 %) puis jeter dans des récipients adaptés.
- Tous les réactifs doivent être ramenés à température ambiante (18 – 24 °C) avant de commencer le test.
- Avant de pipeter, tous les réactifs doivent être mélangés doucement en les inclinant ou en les retournant doucement. Eviter la formation de mousse par des mélanges trop vigoureux.
- Il est important de distribuer les réactifs avec des intervalles de temps constants pour que tous les puits de la microplaques soient dans les mêmes conditions.
- Veillez à ne pas contaminer les.bouchons des flacons de réactifs Eviter les risques de mélange des réactifs. Le contenu des flacons est souvent sensible à l'oxydation, ils doivent donc rester ouvert le moins longtemps possible.
- Changer d'embouts de pipette entre chaque réactif ou sérum afin d'éviter les contaminations.
- Ne pas interchanger les réactifs de différents lots.
- Ne pas utiliser le coffret au delà de la date de péremption.
- Selon les Bonnes Pratiques de Laboratoires ou la norme ISO 9001 tous les matériels de laboratoire utilisés doivent être vérifiés régulièrement pour l'exactitude et la précision. Ceci comprend, les micropipettes et l'instrumentation ELISA telle que le lecteur et le laveur.
- Eviter le contact de la solution stop et du substrat avec la peau, les yeux et les muqueuses car ils peuvent provoquer des irritations ou des brûlures acides. De plus, il existe un risque d'intoxication.

7. Conservation et stabilité

Conserver tous les réactifs à 4 – 8 °C.

La date de péremption de chaque réactif est imprimée sur son étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au delà de leur date de péremption.

La solution de lavage diluée est stable 4 semaines à 4 – 8 °C.

8. Prélèvement et transport des échantillons

Le sérum ou le plasma (EDTA, héparine) peuvent être utilisés pour le test. Prélever le sang aseptiquement puis séparer le sérum par centrifugation après coagulation. Les échantillons de sérum ou de plasma peuvent être conservés pendant 48 heures à 4 – 8 °C. Ils doivent être conservés à -20 °C pour des durées plus longues. Les échantillons ne doivent pas être congelés et décongelés de façon répétée. Les échantillons hyperlipidiques, hémolysés ou contaminés peuvent donner des résultats faussement négatifs ou positifs.

Les échantillons de sérum doivent être prédilués au **1:101** dans le diluant des sérums (ex : 5 µL de sérum + 500 µL de diluant des sérums) avant le test.

Les échantillons ayant des concentrations supérieures au plus fort calibrateur doivent être redilués dans le diluant des sérums.

En cas d'interférences avec le facteur rhumatoide, il est conseillé d'adsorber les échantillons avec l'adsorbant (MASTSORB Code: 651003). **Ne pas adsorber les calibrateurs**.

9. Procédure ELISA

9.1. Préparation des réactifs

Ramener tous les réactifs et les échantillons à température ambiante (18-24 °C) avant utilisation et bien les mélanger.

Solution de lavage : Dissoudre les éventuels cristaux en chauffant à 37 °C et bien mélanger.

Diluer la solution de lavage concentrée au **1:10 avec de l'eau distillée** (ex : 60 mL de solution de lavage concentrée + 540 mL d'eau distillée). Mélanger.minutieusement

- Suivre strictement les instructions pour obtenir de bons résultats. Tous changements ou modifications sont sous la responsabilité de l'utilisateur.
- Tous les réactifs et les échantillons doivent être ramenés à température ambiante avant utilisation, mais ne doivent pas rester à cette température plus longtemps que nécessaire.
- Une courbe étalon doit être réalisée pour chaque test.
- Conserver les barrettes non utilisées dans leur sac plastique à 4 – 8 °C.

9.2. Test ELISA

Préparer la quantité suffisante de puits pour les calibrateurs, les contrôles et les échantillons.

Remarque : D'autres conditions d'incubation peuvent être utilisées. En cas de modifications dans la procédure du test (ex : incubation à 37 °C au lieu de la température ambiante) l'utilisateur doit valider les performances du test.

1. Déposer **100 µL** de **chaque échantillon dilué** (1 : 101) et de **chaque calibrateur prêt à l'emploi** dans les puits appropriés.
2. Recouvrir la microplaque avec le film adhésif fourni et incuber à température ambiante pendant **60 minutes**.
3. Eliminer le contenu des puits et laver **3 fois** avec **300 µL de solution de lavage diluée**. Ensuite, éliminer les résidus de solution de lavage au fond des puits en tapant doucement la microplaque sur du papier absorbant.
4. Déposer **100 µL** de **conjugué** dans chaque puits.
5. Recouvrir la microplaque avec le film adhésif fourni et incuber à température ambiante pendant **30 minutes**.
6. Eliminer le contenu des puits et laver **3 fois** avec **300 µL de solution de lavage diluée**. Esuite, éliminer les résidus de solution de lavage au fond des puits en tapant doucement la microplaque sur du papier absorbant.
7. Distribuer **100 µL** de **substrat** dans tous les puits.
8. Recouvrir la microplaque avec le film adhésif fourni et **incuber** pendant **20 minutes** dans le noir (ex: dans un tiroir) à température ambiante.
9. Ajouter **100 µL** de solution d'arrêt dans chaque puits.
10. Mélanger doucement, essuyer le dessous de la microplaque et **lire la densité optique** à **450 nm** .Calculer les résultats. Blanc contre l'air. Une lecture bichromatique utilisant un filtre de référence à 600 – 690 nm est recommandée.

    La couleur est stable pendant au moins 60 minutes. Lire les densités optiques dans cet intervalle de temps.

10. Résultats et interprétation

Exemple

	DO 450 nm	DO nettes	DO moyennes
Blanc	0,012		
Calibrateur 1 (négatif)	0,017/0,016	0,005/0,004	0,005
Calibrateur 2 (seuil)	0,540/0,557	0,528/0,545	0,537
Calibrateur 3 (positif faible)	1,022/1,060	1,010/1,048	1,029
Calibrateur 4 (positif)	2,184/2,158	2,172/2,146	2,159

Le tableau ci-dessus doit être considéré comme un exemple obtenu dans des conditions arbitraires de température et d'environnement. Il ne s'agit pas des valeurs de référence à retrouver par d'autres laboratoires dans les mêmes conditions!

10.1. Résultats qualitatifs

Les valeurs de DO nettes calculées pour les sérums des patients sont comparées avec la valeur du calibrateur seuil. Si la valeur de l'échantillon est supérieure à la valeur du seuil, le résultat est positif.

Si la valeur de l'échantillon est inférieure à celle du seuil, le résultat est négatif. Il semble raisonnable de définir une zone de $\pm$ 20 % autour de la valeur du seuil comme zone grise.Il est recommandé de répéter les tests pour les échantillons dont la valeur se situe dans cette zone grise en utilisant le même sérum ou avec un nouvel échantillon prélevé 2 à 4 semaines aprés. Les deux échantillons peuvent être testés en parallèle dans la même série.

La valeur du calibrateur positif doit être au moins du double de celle du seuil.

10.2 Résultats quantitatifs

Les calibrateurs prêts à l'emploi du coffret MASTAZYME VHS type2 ont des valeurs exprimées en unités arbitraires (U/mL). Ceci donne accès à une quantification exacte et reproductible permettant de suivre l'évolution du titre en anticorps. Les concentrations des calibrateurs sont imprimées sur les étiquettes des flacons.

Tracer la courbe étalon en portant les concentrations des calibrateurs sur l'axe des abscisses et la valeur moyenne d'absorbance correspondante sur l'axe des ordonnées. La concentration en anticorps du sérum du patient peut être lue directement sur la courbe.

Le calcul des résultats peut être fait en utilisant un ordinateur et le logiciel correspondant.

11. Performances du test

Les caractéristiques du test MASTAZYME Herpes simplex 2 IgG / IgM / IgA ELISA ont été établies et et évaluées en accord avec la directive Européenne de Diagnostic In Vitro. Les données de la validation peuvent être obtenue sur demande spéciale.

12. Bibliographie

1. Balows, Hauslin, Ohasi, Turono: In: "Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Principles and Practice". Springer Verlag Berlin, Heidelberg, London, Paris, Tokyo: **212** (1988).
2. Corey L, Spear PG. Infections with Herpes simplex viruses (1 + 2). N. Engl. J. Med., **314**: 686 (1986).
3. Johnston SL, Wellens K. Comparative evaluation of four commercially available monoclonal antibodies for culture confirmation of Herpes simplex infection. J. Clin. Microbiol., **30**: 1874 (1992).
4. Lafferty WE, Coombs RB, Benedetti J et al. Recurrences after oral and genital Herpes simplex virus. Influence of site of infection and viral type. N. Engl. J. Med., **316**: 1444 (1987).
5. Rabie-Finger I, Valentine-Thon E, Steinmann J, Nehrkorn A. Serological responses to Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) analysed with Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Western Blot (WB). Acta virol., **35**: 113 (1991).
6. Rose RR, Friedmann H, Fahey JL. In: "Manual of Clinical Laboratory Immunology" (third edition); American Society for Microbiology, Washington, D.C.: **497** (1987).
7. Sunstrum J. Herpes simplex infections: A review. J. Clin. Immunoass., **12**: 175 (1989).
8. Zheng ZM, Mayo DR, Hsiung GD. Comparison of biological, biochemical, immunological techniques for typing Herpes simplex virus isolates. J. Clin. Microbiol., **17**: 396 (1983).
9. Enders G. Herpes simplex. In: Infektionen und Impfungen in der Schwangerschaft, S. 54, Urban und Schwarzenberg, München (1990).
10. Wutzler P in: T. Postmann Diagn. Bibliothek, Vol. **18** (1993), Blackwell Wissenschaftsverlag.
11. Selb B. Medizinische Virusdiagnostik (1992), Umschau Verlag, Frankfurt.
12. Thomas L. Labor und Diagnostik, 4. Auflage (1992), Med. Verlagsgesellschaft, Marburg

Hersteller / Manufactured by / Fabriqué par:

(Vertrieb Zentral- und Osteuropa)

MAST DIAGNOSTICA

Laboratoriums-Präparate GmbH
Feldstraße 20, D-23858 Reinfeld
Fon: +49 (0) 4533 2007-0
Fax: +49 (0) 4533 2007-68
E-Mail: mast@mast-diagnostica.de
http://www.mast-diagnostica.de

Distribué par:

MAST GROUP Ltd.
Mast House, Derby Road, Bootle
UK-Mersey Side L20 1EA
Great Britain
Phone: +44 151 9337277
Fax: +44 151 9441332
E-mail: sales@mastgrp.com

http://www.mastgrp.com

Distribué par:

MAST DIAGNOSTIC
115 Rue Jules Barni
80000 Amiens
France
Tél: +33 3 22808067
Fax: +33 3 22809922
E-mail: service-commercial@mast-diagnostic.fr
http://www.mastgrp.com