

HHV-6 IgG IFA, Kat. Nr: V3HHV6, HHV-425-03 07/09, DE



**DEUTSCH**

Kat. Nr: V3HHV6  
Format: 4x10 well slides  
HHV-425-03



## **Humanes Herpesvirus-6 IgG-Immunfluoreszenztest**

Immunfluoreszenztest zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen das humane Herpes  
Virus-6



## **INHALT**

**Verwendungszweck**

**Einleitung**

**Testprinzip**

**Vorsichtsmaßnahmen**

**Sicherheit**

**Allgemeines zur Testdurchführung**

**Bestandteile des Kits**

**Mitgelieferte Materialien**

**Zusätzlich benötigte Materialien**

**Lagerung und Stabilität**

**Probenentnahme und Lagerung**

**Vorbereitung der Reagenzien und Proben**

**Testdurchführung**

**Interpretation der Ergebnisse**

**Bewertung**

**Qualitätskontrollkriterien**

**Referenzwerte**

**Einschränkungen des Tests**

**Leistungsdaten des Tests**

**Zusammenfassung des HHV-6 IgG-IFT**

**Literatur**

**Erläuterung der Symbole**

**Weitere Produkte von Biotrin**

## Verwendungszweck

Der Humane Herpesvirus-6 IgG-IFT von Biotrin ist ein *in vitro*-Immunfluoreszenztest (IFT), der zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen das humane Herpesvirus-6 (HHV-6) im Serum vorgesehen ist.

## Einleitung

Das humane Herpesvirus-6 (HHV-6), das erstmals 1986 beschrieben wurde, wurde aus Patienten mit lymphoproliferativen Erkrankungen isoliert<sup>1</sup>. Nachträglich stellte sich heraus, dass es sich bei HHV-6 um den Erreger des Dreitagefiebers (Roseola infantum)<sup>2</sup>, einer Kinderkrankheit, handelt und dieses Virus mit einer Reihe weiterer Krankheitsbilder bei Kindern, u.a. akuter virusbedingter Lebernekrose<sup>3</sup>, Enzephalitis<sup>4</sup>, histiozytischer nekrotisierender Lymphadenitis<sup>5</sup> und zum Tode führender disseminierter Infektion<sup>6</sup> assoziiert ist.

Bei Erwachsenen ist eine Primärinfektion mit HHV-6 selten; dokumentierte Fälle zeigen eine Beteiligung von HHV-6 bei Hepatitis<sup>7</sup>, Mononukleose-ähnlichen Erkrankungen<sup>8</sup>, atypischer polyklonaler Lymphoproliferation<sup>9</sup>, 'post-viralem chronischem Erschöpfungssyndrom'<sup>10</sup>, Multipler Sklerose<sup>11</sup>, Oralkarzinom<sup>12</sup>, Zervikalkarzinom<sup>13</sup> und Knochenmarksabstoßung bei Patienten mit Knochenmarkstransplantation<sup>14</sup>.

In gezielten virologischen und serologischen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass HHV-6 in der humanen Population weit verbreitet ist und eine Infektion typischerweise in früher Kindheit erfolgt; bei Erwachsenen tritt eine Primärinfektion entsprechend selten auf. Berichten zufolge haben mehr als 80% der Patienten, die älter als 2 Jahre sind, Antikörper gegen HHV-6<sup>15</sup>. Nach einer Infektion sinkt der Antikörpertiter allerdings auf ein niedriges Niveau; hohe Serumkonzentrationen an spezifischen IgG-Antikörpern weisen also auf eine "frische" HHV-6-Infektion hin.

## Testprinzip

Der Biotrin HHV-6 IFT nutzt die Methode der indirekten Immunfluoreszenz zum Antikörpernachweis und zur Titerbestimmung. Patientenserumproben werden mit HHV-6-Antigenen, die auf einem Glasobjektträger immobilisiert und stabilisiert sind, inkubiert. Enthält die Patientenprobe IgG-Antikörper gegen HHV-6, bilden diese mit dem immobilisierten Antigen stabile Komplexe aus. An gebundene Antikörper bindet dann in einem zweiten Schritt mit Fluorescein-markierter und gegen humanes IgG gerichteter Ziegenantikörper; dieser Komplex ist unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar: Bei einer positiven Reaktion zeigt sich eine leuchtend grüne Fluoreszenz.

## Vorsichtsmaßnahmen

### Sicherheit

- Nur zum *in-vitro* Gebrauch.
- Dieser Test darf nur von qualifiziertem Laborpersonal durchgeführt werden.
- Der Testkit enthält Material humanen Ursprungs, das als POTENZIELL BIOLOGISCH GEFÄHRLICHES MATERIAL anzusehen ist. Die Kontrollen wurden zwar auf HBsAg und Antikörper gegen HIV 1/2 und HCV getestet und negativ befundet, da jedoch mit keinem Testverfahren die Anwesenheit von Infektionserregern mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden kann, müssen alle Kontrollen als potenziell infektiös gehandhabt werden.
- Einige Reagenzien enthalten Thiomersal, das beim Verschlucken Vergiftungen hervorrufen kann.

HHV-6 IgG IFA, Kat. Nr: V3HHV6, HHV-425-03 07/09, DE

- Evans-Blau gilt als potenziell karzinogen. Jegliche Berührung vermeiden, bei Hautkontakt großzügig mit Wasser spülen.
- Einige Reagenzien enthalten Natriumazid, das mit Blei- und Kupferrohrleitungen explosive Salze bilden kann. Bei der Beseitigung flüssiger Azidabfälle sollte deshalb mit viel Wasser nachgespült werden.
- Alle klinischen Proben, infiziertes oder potenziell infiziertes Material sollten nach den Regeln der "Guten Laborpraxis" (GLP) beseitigt werden. Sie sind alle als potenziell infektiös zu handhaben und zu entsorgen.
- Reste an Chemikalien oder an Präparations- bzw. Kitbestandteilen werden grundsätzlich als gefährlicher Abfall angesehen. Alle derartigen Materialien sollten in Übereinstimmung mit den geltenden Sicherheitsbestimmungen entsorgt werden.
- Während der Handhabung der Proben und der Durchführung des Tests müssen Schutzkleidung, Einweg-Latexhandschuhe und Schutzbrille getragen werden. Nach der Testdurchführung gründlich die Hände waschen.
- Niemals mit dem Mund pipettieren. Essen und Trinken ist in Laborräumen nicht gestattet.

### **Allgemeines zur Testdurchführung**

- Den Kit oder einzelne Reagenzien nicht nach Ablauf des angegebenen Verfallsdatums verwenden.
- Die aktiven Komponenten einer Charge dieses Kits sind als Einheit optimiert. Keine Komponenten mit Komponenten anderer Chargen oder anderer Quellen mischen.
- Keine kontaminierten Proben oder Reagenzien in den Test einsetzen.
- Abweichungen vom mitgelieferten Protokoll zur Testdurchführung können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Wird der Test nicht entsprechend den vorgegebenen Zeit- und Temperaturbedingungen durchgeführt, können die Ergebnisse ungültig sein. Alle Tests, die nicht den Vorgaben entsprechen, müssen wiederholt werden.
- Zur Rekonstitution des Waschpufferkonzentrats wird destilliertes oder deionisiertes Wasser hoher Qualität benötigt. Wasser minderer Qualität oder kontaminiertes Wasser kann zu erhöhten Hintergrundwerten führen. Das Waschpufferkonzentrat muss vor der Rekonstitution gut durchmischt werden.
- Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (+20 bis +25°C) gebracht und gut gemischt werden.
- Die Objektträger bis zum tatsächlichen Gebrauch im Schutzbeutel belassen. Lassen Sie den Beutel vor der Entnahme der Objektträger erst auf Raumtemperatur kommen, um den Inhalt vor Kondensation zu schützen.
- Reagenzien dürfen nicht für einen längeren Zeitraum direktem Sonnenlicht ausgesetzt oder bei Temperaturen über +2 bis +8°C aufbewahrt werden.
- Werden mehrere Proben auf demselben Objektträger angefärbt, müssen Kreuzkontaminationen vermieden werden. Dies lässt sich erreichen, indem die einzelnen Auftragsstellen mit einem Wachsstift voneinander abgetrennt werden. Wird zuviel Einbettungsmedium aufgetragen, kann dies zu undeutlichen Fluoreszenzbildern führen.
- Immer saubere Glas- oder Einmalgeräte für die Reagenzienvorbereitung benutzen.
- Jegliche Kontamination muss mit äußerster Vorsicht vermieden und für jede Probe und Komponente eine frische Pipettenspitze verwendet werden.
- Die Auftragsstelle darf weder mit einer Pipettenspitze noch einer Tropfflasche zerkratzt werden.
- Vor der Testdurchführung sollte ein genauer Pipettierplan mit Schema erstellt werden.

**Bestandteile des Kits****Mitgelieferte Materialien**

1. Objektträger, beschichtet mit HHV-6-Antigen:

<b>SLIDE</b>
--------------

4 Objektträger mit je 10 Auftragsstellen (Wells), in denen mit HHV-6 infizierte humane Lymphozyten immobilisiert sind. Die Objektträger sind nach Entnahme aus dem Schutzbeutel gebrauchsfertig.

2. Positivkontrolle \*\*:

<b>CONTROL</b>	<b>+</b>	<b>IgG</b>
----------------	----------	------------

1 x 0,5ml Humanserum mit HHV-6 IgG-Antikörpern. Enthält 0,1% Natriumazid.  
(Gebrauchsfertig) (Blaue Verschlusskappe).

3. Negativkontrolle \*\*:

<b>CONTROL</b>	<b>-</b>	<b>IgG</b>
----------------	----------	------------

1 x 0,5ml Humanserum, das frei von IgG-Antikörper gegen HHV-6 ist. Enthält 0,1% Natriumazid.(Gebrauchsfertig) (Rote Verschlusskappe).

4. Fluorescein-Konjugat: \*\*

<b>CONJ</b>	<b>ENZ</b>	<b>1X</b>
-------------	------------	-----------

1 x 1,5ml Fluorescein-konjugierter Ziege-anti-Mensch-IgG-Antikörper (inaktiviert, schwere und leichte Kette); Gegenfärbung mit Evans-Blau und Rhodamin. Enthält 0,1% Natriumazid.(Gebrauchsfertig) (Gelbe Verschlusskappe).

5. Einbettungsmedium:

<b>MM</b>
-----------

1 x 2ml Tris-gepufferter Glycerinpuffer. Enthält Thiomersal (0,01%).  
(Gebrauchsfertig) (Orange Verschlusskappe).

6. Waschpuffer-Konzentrat (PBS):

<b>BUF</b>	<b>WASH</b>	<b>CONC</b>
------------	-------------	-------------

1 Beutel. Jeder in Aluminiumfolie versiegelte Beutel enthält 10 PBS-Tabletten. Mit jeder Tablette können 100ml 1x Waschpuffer angesetzt werden

7. Saugpapier für Objektträger:

<b>BLT</b>
------------

Im Saugpapier zum Trocknen der Objektträger sind die Löcher für die Wells vorgestanz.

8. Arbeitsanleitung:



**\*\* Potentiell biogefährliches Material**

### **Zusätzlich benötigte Materialien**

- Technische Ausstattung zur Serumgewinnung
- Gestell für die Objektträger und Färbeschale zum Waschen der Objektträger
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser hoher Qualität
- Saubere maßanalytische Laborartikel
- Probenröhrchen oder Vergleichbares zur Probenvorbereitung
- Messzylinder
- Pipetten, Mikropipetten und Einmalspitzen zum exakten Pipettieren folgender Volumina: 5µl bis 50µl und 50µl bis 200µl
- Stoppuhr
- Brutschrank, +35 bis +39°C
- Papiertücher oder saugfähiges Papier
- Probenröhrchen für die Verdünnungsansätze und Zentrifugenröhrchen (0,5ml)
- Tischzentrifuge (Minifuge)
- Feuchte Kammer für die Inkubation der Objektträger
- Waschflaschen und Waschtrog
- Deckgläschen: 22 X 50mm, Glasdicke Nr. 1
- Fluoreszenzmikroskop mit einer FITC-geeigneten Filterkombination (Anregungswellenlänge 495nm, Emissionswellenlänge 515nm); empfohlen wird außerdem eine Halogen-Lichtquelle.
- Wachsstift.

### **Lagerung und Stabilität**

- Der Kit ist bei Lagerung zwischen +2 bis +8°C bis zu dem auf dem äußeren Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Hinweis: Das Saugpapier kann bei +2 bis +25°C gelagert werden.
- Alle für die Testdurchführung nicht verbrauchten Komponenten sollten direkt nach Entnahme der nötigen Mengen wieder bei +2 bis +8°C gelagert werden.
- Der rekonstituierte Waschpuffer ist bei Lagerung bei +2 bis +8°C bis zu 4 Wochen haltbar.

### **Probenentnahme und Lagerung**

- Die Serumproben sollten mit aseptischen Labormethoden gewonnen werden. Diese Proben können bei +2 bis +8°C bis zu 1 Woche bzw. für einen längeren Zeitraum bei -20°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.
- Serumprobenpaare, mit denen eine Serokonversion oder ein signifikanter Titeranstieg nachgewiesen werden soll, sollten im Abstand von 7-14 Tagen entnommen und bei -20°C gelagert werden. Diese Proben sollten dann parallel getestet werden.

## **Vorbereitung der Reagenzien und Proben**

### ***Vorbereitung der Reagenzien***

Zur Herstellung des PBS-Puffers 1 Tablette in 100 ml frisch zubereitetes destilliertes oder deionisiertes Wasser geben. Diese Lösung kann in einem sauberen und verschlossenen Behälter bis zu 4 Wochen bei +2 bis +8°C gelagert werden.  
Alle übrigen Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert.

### ***Vorbereitung der Proben***

Qualitativer Test: Proben 1:20 in PBS verdünnen. Zur Verdünnung sollte grundsätzlich ein Mindestvolumen von 0,10 ml verwendet werden.

Quantitativer Test: Der "Proben-titer" kann durch eine zweifache serielle Verdünnung der Probe in Waschpuffer ermittelt werden, indem man ausgehend von der 1:20-Verdünnung für die weiteren Verdünnungen gleiche Volumina an verdünnter Probe und Waschpuffer verwendet, bis eine "+1" Zuordnung der Fluoreszenz erreicht ist (siehe "Interpretation der Ergebnisse").

## **Testdurchführung**

Alle Komponenten sollten vor Durchführung des Tests Raumtemperatur (+20 bis +25°C) erreicht haben.

### **1. Vorbereitung der Objektträger**

Benötigte Anzahl an Objektträgern aus ihrem Beutel entnehmen und zur Vermeidung von Kontaminationen mit einem Wachsstift Trennlinien zwischen den einzelnen Wells (Auftragsfeldern) ziehen. Pro nummerierter Auftragsstelle entweder jeweils 1 Tropfen (ca. 20µl) der einzelnen verdünnten Probe oder 1 Tropfen (ca. 20µl) gebrauchsfertige Positivkontrolle bzw. Negativkontrolle oder Waschpuffer auftragen.

Hinweis: Das Auftragsvolumen sollte hinreichend groß sein, um das Well komplett abzudecken, darf jedoch nicht so groß sein, dass sich die Inhalte der verschiedenen Wells miteinander vermischen können.

### **2. Inkubation der Proben**

Die Objektträger in einer feuchten Kammer 30 Minuten bei +35 bis +39 °C inkubieren.

### **3. Waschen der Objektträger**

Die Objektträger vorsichtig mit Waschpuffer vom Rand her mit einer Waschflasche abspülen. Den Pufferstrahl nicht direkt auf die Auftragsstellen richten. Objektträger in einem Waschtrog mit Waschpuffer 10 Minuten bei Raumtemperatur (+20 bis +25°C) unter leichtem Schütteln waschen, Puffer nach 5 Minuten wechseln. Objektträger rund um die Auftragsstellen mit dem mitgelieferten Saugpapier trocknen.

### **4. Inkubation mit dem Konjugat**

In jedes Well 1 Tropfen (ca. 20µl) des gebrauchsfertigen Konjugats geben. Objektträger in einer feuchten Kammer 30 Minuten bei +35 bis +39°C inkubieren.

### **5. Waschen der Objektträger**

Schritt 3 wiederholen.

#### 6. **Auftragen des Einbettungsmediums**

In die Mitte jeden Wells 1 kleinen Tropfen Einbettungsmedium geben und vorsichtig ein Deckgläschen auflegen.

#### 7. **Auswertung der Objektträger**

Reaktivität unter dem Fluoreszenzmikroskop bei einer Vergrößerung von 200-500X beobachten. Für optimale Ergebnisse Objektträger direkt nach Abschluss des Tests auswerten. (Zur Erzielung reproduzierbarer Ergebnisse Objektträger zur Minimierung einer Dehydrierung des Einbettungsmediums versiegeln oder feucht halten, bei +2 bis +8°C dunkel aufbewahren und innerhalb von drei Tagen auswerten.)

#### 8. **Bewertung der Farbintensität**

Bei positivem Ergebnis kann sich die Intensität der Fluoreszenz in einem Bereich von kräftig bis schwach leuchtend bewegen. Abstufung der Reaktion gemäß folgender Intensitätsskala: +4 (kräftig leuchtend), +3 (leuchtend), +2 (mäßig), +1 (schwach).

### **Interpretation der Ergebnisse**

#### ***Negative Reaktion:***

Eine Probe gilt als negativ, enthält also keine IgG-Antikörper gegen HHV-6, wenn sich keine Fluoreszenzfärbung der infizierten Zellen zeigt.

#### ***Positive Reaktion:***

Eine Probe gilt nur dann als HHV-6-positiv, wenn sich in den infizierten Zellen bei einer Verdünnung von  $\geq 1:20$  eine leuchtend grüne Fluoreszenz zeigt. Eine positive Reaktion weist auf eine frühere HHV-6-Infektion hin. Eine Serokonversion oder ein Anstieg des IgG-Antikörpertiters um den Faktor 4 oder mehr in gepaarten Serumproben weist auf eine frische HHV-6-Infektion hin.

+4 = Kräftig leuchtende, grüne Fluoreszenz, die einen sehr hohen HHV-6 IgG-Antikörpertiter anzeigt.

+3 = Leuchtend grüne Fluoreszenz, die einen hohen HHV-6 IgG-Antikörpertiter anzeigt.

+2 = Grüne Fluoreszenz, die auf einen mäßigen HHV-6 IgG-Antikörpertiter anzeigt.

+1 = Schwache grüne Fluoreszenz, die auf einen schwachen HHV-6 IgG-Antikörpertiter hinweist. Sie zeigt die Endpunktverdünnung bzw. den "Titer" der Probe an.

- Die Titration der HHV-6-positiven IgG-Seren liefert quantitative Daten. In einer Titrationsserie wird die höchste Serumverdünnung, die eine "+1"-Reaktivität zeigt, als Endpunkt definiert.

- Zur internen Kontrolle enthält jedes Well auf dem Objektträger neben den HHV-6-infizierten Zellen auch nicht-infizierte Zellen; diese Bestückung ist Voraussetzung für eine ordnungsgemäße Auswertung. Die nicht-infizierten Zellen werden zur Erzeugung eines kontrastreichen Hintergrunds rot gegengefärbt. Sie dienen zur Kontrolle von antinukleären und/oder antizytoplasmatischen Antikörperreaktionen, die bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen auftreten können.

## Bewertung

Keine erkennbare Fluoreszenz der infizierten Zellen in der untersuchten Verdünnung.	Probe ist negativ; sie enthält keine IgG-Antikörper gegen HHV-6.
Zufällig verteilte grüne Zellen, die keine erkennbare Fluoreszenz von infizierten Zellen zeigen.	Probe ist negativ; sie enthält keine IgG-Antikörper gegen HHV-6.
Spezifische positive Fluoreszenz der infizierten Zellen bei der Ausgangs- oder höherer Verdünnung.	Probe ist positiv; Anwesenheit von IgG-Antikörpern gegen HHV-6 weisen auf eine frühere HHV-6-Infektion hin. Serokonversion oder ein vierfacher bzw. Größerer Anstieg im IgG-Antikörpertiter von Serum-Probenpaaren zeigen eine frische Infektion mit HHV-6 an.
Fluoreszenz der infizierten als auch nicht-infizierten Zellen.	Probe zeigt eine unspezifische Reaktion.

## Qualitätskontrollkriterien

Bei jedem Test müssen Positivkontrolle und Negativkontrolle mitgeführt werden. Die Ergebnisse eines Tests werden nur dann als gültig betrachtet, wenn folgende Kriterien erfüllt sind:

- 1) Die in diesem Kit enthaltene HHV-6 IgG-Positivkontrolle zeigt eine Fluoreszenzintensität von  $\geq +2$ .
- 2) Die in diesem Kit enthaltene HHV-6 IgG-Negativkontrolle zeigt keine sichtbare Fluoreszenz.

Werden diese oben genannten Kriterien nicht erfüllt, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

## Referenzwerte

Die HHV-6 Antikörper-Prävalenz liegt bei Patienten, die älter als 2 Jahre sind, über 80%. Die Durchseuchungsrate ist zwar hoch, der HHV-6-Antikörpertiter sinkt allerdings nach der Infektion auf ein niedriges Niveau. Eine hohe Konzentration an IgG-Antikörpern weist demnach auf eine frische Infektion hin, was durch einen signifikanten IgG-Antikörper-Anstieg in gepaarten Proben untermauert werden kann.

## Einschränkungen des Tests

1. Serologische Tests wie der IFT dienen beim Nachweis von viralen Infektionen als Hilfe, sollten aber nicht als alleiniges Diagnosekriterium eingesetzt werden. Die Testergebnisse sollten immer mit dem klinischen und epidemiologischen Profil sowie anderen klinischen Laborergebnissen der Patienten verglichen werden.
2. Ein einzelnes positives Ergebnis auf IgG-Antikörper gegen HHV-6 ist nur insofern signifikant, dass es auf einen früheren Kontakt bzw. eine frühere Infektion mit dem Virus hinweist und dementsprechend von epidemiologischem Interesse ist. Es kann aber nicht zum Nachweis einer akuten oder frischen Infektion herangezogen werden. Zur Bestimmung einer akuten oder frischen Infektion sollten Serumprobenpaare, die im Abstand von 7-14 Tagen gewonnen wurden, parallel getestet werden. Ein vierfacher oder

HHV-6 IgG IFA, Kat. Nr: V3HHV6, HHV-425-03 07/09, DE  
 größerer Titeranstieg zwischen der ersten und der zweiten Probe weisen auf eine akute oder frische Infektion hin.

**Leistungsdaten des Tests**

**Sensitivität und Spezifität**

**Diagnostische Sensitivität**

Aus einem Pool nachweislich HHV-6 IgG-positiver Proben wurden 93 Proben mit dem Biotrin HHV-6 IgG IFT getestet. Alle 93 getesteten Proben wurden positiv befundet, d.h. die Sensitivität des Biotrin-Tests betrug 100%. Dass der Probenpool aus ausschließlich positiven Proben bestand, wurde an einem externen Evaluierungszentrum mit einem anderen IFT zum Nachweis von HHV-6 IgG-nachgewiesen.

% Sensitivität = eindeutig positive Proben/ (positive + falsch negative+ fragwürdig)x100%  
 % Sensitivität = 93/(93+0) x 100  
 % Sensitivität = 100%

**Diagnostische Spezifität**

Die Spezifität des Biotrin HHV-6 IgG-IFTs wurde anhand von 67 Serumproben gesunder Blutspender ermittelt. Diese Proben wurden mit dem HHV-6 IgG-IFT von Biotrin, einer weiteren extern verwendeten HHV-6 IgG-IFT-Technik sowie einem kommerziell erhältlichen Test nach der "Zwei von drei-Regel" analysiert. Von den 67 getesteten Proben wurden 63 negativ und 4 positiv befundet. Nach folgender Gleichung wurde eine Spezifität von 94% ermittelt:

% Spezifität = eindeutig negative Proben(negative + falsch positive + fragwürdig) x 100  
 % Spezifität = 63/(63+4)x100  
 % Spezifität = 94%

**Kreuzreaktivität**

Zur Ermittlung der Spezifität des Biotrin HHV-6 IgG-IFTs wurden 20 Serumproben, die von Patienten mit unterschiedlichen Krankheiten stammten, gescreent. Die folgende Tabelle fasst die Ergebnisse zusammen:

**Tabelle 1**

Virus	Biotrin HHV- 6 IgG-IFT
Epstein-Barr Virus-IgG	0/9
Cytomegalovirus-IgG	0/9
Herpes Simplex Virus-IgG	0/2

**Interferenzen (Analytische Spezifität)**

Im Rahmen der Interferenzstudien wurden die Proben u.a. auf Hämolyse, Lipide, Bilirubin und Rheumafaktoren getestet. Es wurden keine Störungen des Tests beobachtet. Bei allen gefärbten Objektträgern zeigte sich eine ziegelrote Gegenfärbung.

### Reproduzierbarkeit

Untersucht wurden die Reproduzierbarkeit innerhalb eines Testlaufs (Intra-Assay), zwischen verschiedenen Testläufen (Inter-Assay) und zwischen verschiedenen Anwendern (Inter-Operator).

Die folgenden Ergebnisse wurden mit 6 verschiedenen Serumproben erzielt, die an 3 verschiedenen Tagen mit drei verschiedenen Chargen des HHV-6 IgG-IFT-Kits von 3 verschiedenen Personen getestet wurden. Der Test wurde an einem externen Evaluierungszentrum folgendermaßen durchgeführt: Jede Proben wurde zuerst in der Schwellenwert-Verdünnung von 1/20 verdünnt. Positive Proben wurden dann jeweils mit dem Faktor 2 weiterverdünnt, d.h. 1/20, 1/40, 1/80 etc.

**Jedes unten angegeben Ergebnis entspricht der höchsten Verdünnung, die noch eine deutliche Fluoreszenz , d.h. einen Wert von +1, zeigte.**

**Tabelle 2**

Probe	Anwender 1			Anwender 2			Anwender 3		
	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 1	Tag 2	Tag 3
<b>Charge 1</b>									
1	160	160	80	160	80	80	160	160	80
2	160	160	160	80	80	80	160	160	80
3	160	160	40	160	80	160	160	80	80
4	160	40	160	160	80	160	160	160	80
5	160	80	160	80	80	80	160	160	160
6	40	40	40	40	40	40	40	40	20
<b>Charge 2</b>									
1	80	80	80	80	160	80	80	80	40
2	160	160	160	80	80	80	80	80	40
3	160	160	80	40	80	40	40	80	40
4	160	160	160	40	80	40	40	80	40
5	80	80	80	40	40	40	40	40	40
6	40	40	80	40	80	20	20	40	40
<b>Charge 3</b>									
1	160	160	80	160	160	160	160	160	80
2	160	160	160	160	40	160	160	160	80
3	40	160	40	160	80	160	80	80	160
4	160	160	160	160	80	160	160	80	80
5	80	80	80	40	40	160	80	160	80
6	80	40	80	40	80	40	40	40	20

Ergebnisse, die in nicht mehr als zwei Verdünnungen voneinander abweichen, werden als Ergebnisse gleicher Signifikanz gewertet. Dies wurde auf Grundlage der beiden folgenden Kriterien bestimmt:

- Es wird allgemein anerkannt, dass ein Verdünnungsschritt Unterschied zwischen mit zwei verschiedenen IFT-Verfahren erzielten Titern der gleichen Probe zulässig ist.
- Ein Unterschied von mehr als zwei Verdünnungsschritten zwischen zwei aufeinanderfolgenden Proben des gleichen Patienten gilt als signifikant.

### Zusammenfassung des HHV-6 IgG IFT

**Wichtiger Hinweis: Bitte vor Beginn des Tests die gesamte Produktbeschreibung einschließlich der Anleitung zur Testdurchführung durchlesen!  
Diese Zusammenfassung dient ausschließlich dem Überblick.**

Qualitative Bestimmung: Patientenprobe 1:20 in Waschpuffer verdünnen  
Quantitative Titrierung: Die 1:20 verdünnte Probe seriell 1+1 mit Waschpuffer weiterverdünnen



~20µl Positivkontrolle in Well Nr. 1 des Objektträgers pipettieren  
~20µl Negativkontrolle in Well Nr. 2 des Objektträgers pipettieren  
~20µl verdünnte Probe in alle übrigen Wells pipettieren (eine Probe pro Well)



Objektträger 30 Minuten bei +35 bis +39°C inkubieren



Objektträger mit Waschpuffer waschen



~20µl Konjugat in jedes Well hinzufügen



Objektträger 30 Minuten bei +35 bis +39°C inkubieren



Objektträger mit Waschpuffer waschen



10µl Einbettungsmedium in jedes Well geben und Deckglas auflegen



Objektträger unter einem Fluoreszenzmikroskop auswerten

## Literatur

1. Salahuddin, S.Z., Albashi, D.V., Markham, P.D., Joseph, S.F., Sturzenegger, S., Kaplan, M., Halligan, G., Biberfeld, P., Wong-Stall, F., Kramarsky, B. and Gallo, R.C. (1986) Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 234: 596-601.
2. Yamanishi, K., Okuno, T., Shiraki, K., Takahashi, M., Kondo, T., Asano, Y. and Kurata, T. (1988) Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1:1065-1067.
3. Asano, Y., Yoshikawa, T., Suga, S., Yazaki, T., Knodo, K. and Yamanishi, K. (1990) Fatal fulminant hepatitis in an infant with human herpesvirus-6 infection. *Lancet* 335: 862-863.
4. Asano, Y., Yoshikawa, T., Kajita, Y., Ogura, R., Suga, S., Yazaki, T., Nakashima, T., Yamada, A. and Kurata, T. (1992) Fatal encephalitis/encephalopathy in primary human herpesvirus-6 infection. *Arch, Dis Child.* 67:1484-1485.
5. Eizuru, Y., Minematsu, T., Minamishima, Y., Kikuchi, M., Yamanishi, K., Takahashi, M. and Kurata, T. (1989) Human herpesvirus-6 in lymph nodes. *Lancet* 1:40.
6. Prezioso, P.J., Cangiarella, J., Lee, M., Nuova, G.J., Borkowsky, W., Orlow, S.J. and Greca, M.A. (1992) Fatal disseminated infection with human herpesvirus-6. *J. Pediatrics* 120:921-923.
7. Dubedat, S. and Kappagoda, N. (1989) Hepatitis due to human herpesvirus-6. *Lancet* 2:1463-1464.
8. Steeper, T. A., Horwitz, C.A., Ablashi, D.V., Salahuddin, S.Z., Saxinger, C., Saltzman, R and Schwartz, B. (1990) The spectrum of clinical and laboratory findings from Human Herpesvirus-6 (HHV-6) in patients with mononucleosis-like illnesses not resulting from Epstein-Barr virus or cytomegalovirus. *Am. J. Clin. Pathol.* 93: 776-783.
9. Kruegar, G. R. F, Koch, B., Ramon, A., Ablashi, D.V., Salahuddin, S.Z., Josephs, S.F., Streicher, H.Z., Gallo, R.C. and Habermann, U. (1988) Antibody prevalence to HBLV (human herpesvirus -6, HHV-6) and suggestive pathogenicity in the general population and in patients with immune deficiency syndromes. *J. Virol. Methods* 21:125-131.
10. Buchwald, D., Cheney, P.R., Peterson, D.L., Henry, B., Wormsley, S.D., Geiger, A., Albashi, D.V., Salahuddin, S.Z., Saxinger, C., Biddle, R., Kikinis, B., Jolesz, F.A., Folks, T., Balachandran, N., Peter, J.B., Gallo, R.C. and Komaroff, A.L. (1992) A chronic illness characterized by fatigue, neurologic and immunologic disorders, and active human herpesvirus type 6 infection. *Ann. Intern. Med.* 116:103-113.
11. Soldan, S.S., Berti, R., Salem, N., Secchiero, P., Flamand, L., Calabresi, P.A., Brennan, M.B., Maloni, H.W., McFarland, H.F., Lin, H.-C., Patnaik, M. and Jacobson, S. (1997) Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: Increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nature Medicine* 3:1394-1397.
12. Yadav, M., Chandrashekan, A. Vasudevan, D.M. and Ablashi, D.V. (1994) Frequent Detection of Human Herpesvirus 6 in Oral Carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 86:1792-1794.
13. Chen, M., Popescu, N., Woodworth, C., Berneman, Z., Corbellino, M., Lusso, P., Albashi, D.V. and DiPaolo, J.A. (1994) Human Herpesvirus-6 infects cervical epithelial cells and transactivates human papilloma virus gene expression. *J. Virol.* 68:1173-1178.
14. Drobyski, W.R., Dunne, W.M., Burd, E.M, Knox, K.K., Ash, R.C. Horowitz, M.M., Flomberg, N. and Carrigan, D.R. (1993) Human Herpesvirus-6 (HHV-6) infection in allogeneic bone marrow transplant recipients: Evidence of a marrow-suppressive role for HHV-6 in vivo. *J. Inf. Dis.* 167:735-739.
15. Briggs, M., Fox, J. and Tedder, R.S. (1988) Age prevalence of antibody to human herpesvirus-6. *Lancet* i:1058-1059.

## Erläuterung der Symbole

*In-vitro*-Diagnostikum

IVD

Charge

LOT

Katalog-Nr.

REF

Temperaturbegrenzung



Verwendbar bis



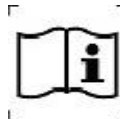
Hersteller



Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Bei Kontakt mit Säuren werden sehr giftige Gase freigesetzt.



Arbeitsanleitung



### Weitere Produkte von Biotrin

Biotrin bietet ein einmaliges, für Routinediagnosen im Labor geeignetes Sortiment an Testkits für Humane Herpesviren an:

<b>Cat #:</b>	<b>Description</b>	<b>No of tests</b>
V3HHV6	Human Herpesvirus-6 IgG-IFA	4 X 10 well slides
V17HHV6	Human Herpesvirus-6 IgM-IFA	4 X 10 well slides
V15HHV6	Human Herpesvirus-6 IgG-EIA	96-well EIA
V18HHV8	Human Herpesvirus-8 IgG-IFA	6 X 10 well slides
V19HHV8	Human Herpesvirus-8 IgG-EIA	96-well EIA

Biotrin International Ltd.  
93 The Rise, Mount Merrion  
Co. Dublin  
Ireland  
Tel: +353 (01) 2831166  
Fax: +353 (01) 2831232  
E-mail: [info@biotrin.ie](mailto:info@biotrin.ie)  
[www.biotrin.com](http://www.biotrin.com)



**Zusätzliche Informatzionen zu diesem oder anderen Biotrin-Produkten finden Sie auf unserer Website**

**[www.biotrin.com](http://www.biotrin.com)**