

HHV-6 IgG IFA, Kat. Sz. V3HHV6, HHV-425-03 07/09, HU



Magyar

Kat sz.: Sz. V3HHV6
Készletformátum: 4x10 cellás lemez
HHV-425-03



Humán herpeszvírus-6 IgG Immunfluoreszcens vizsgálat

Immunfluoreszcens vizsgálat a humán herpesz vírus-6 IgG sejtoldó antigénje ellen
termelődött ellenanyagok kimutatására



TARTALOMJEGYZÉK

Felhasználási terület

Bevezetés

Vizsgálati elv

Óvintézkedések

Biztonsági előírások
Eljárástechnika

A készlet elemei

A szállított anyagok
Egyéb szükséges anyagok

Tárolási feltételek és a lejáratási idő

Mintavétel és mintatárolás

A reagensek és minták előkészítése

A vizsgálat menete

Az eredmények értékelése

Minőségellenőrzési kritériumok

Várt értékek

A felelősség korlátozása

Teljesítmény jellemzők

A HHV- 6 IgG IFA eljárás összefoglalása

Referenciák

Jelmagyarázat

Kiegészítő Biotrin termékek

Felhasználási terület

A humán herpeszvírus-6 (HHV-6) antitesteket célzó közvetett immunfluoreszcens vizsgálat (IFA) az emberi vérsavóban vagy plazmában található IgG antitestek kvalitatív és szemi-quantitatív meghatározására lett tervezve a HHV-6 lassan bomló antigének függvényében. A HHV-6 IgG antitestek kimutatása embereknél hozzájárulhat az elsődleges vírusfertőzés vagy reaktiválás/újrafertőzés diagnosztizálásához.

Bevezetés

A humán herpeszvírus-6-ot (HHV-6) elsőként 1986-ban mutatták ki és a lymphoproliferatív betegségben¹ szenvedő betegeknél különítették el. A későbbiekben bebizonyosodott, hogy a HHV-6 az az aetiológiai hatóanyag, amely a csecsemőkori rózsahimlőért (Roseola infantum)² felelős és több más gyerekekben előforduló betegség megnyilvánulásával kapcsolatba hozták, mint pl. a heveny hepatitis³, agyvelőgyulladás⁴, histiocyticus üszkösödő lymphadenitis⁵ és halálos disseminatus fertőzés⁶

Felnőttek esetén a HHV-6 fertőzés kevésbé gyakori, és dokumentált bizonyíték van arra, hogy a HHV-6 kapcsolatban áll a hepatitis⁷, mononukleózis-típusú betegséggel⁸, atípusos poliklonális nyirokcsomó proliferáció⁹, 'vírusfertőzést követő krónikus fáradtság szindróma'¹⁰, sclerosis multiplex¹¹, szájüregi carcinoma¹², méhnyaki carcinoma¹³ és csontvelősorvadás csontvelő-átültetésen átesett pácienseknél¹⁴.

A specifikus virológiai és szerológiai vizsgálatok azt bizonyítják, hogy a HHV-6 az emberi populáció keretében gyakran előforduló fertőzés, amely tipikusan kora csecsemőkorban lép fel, kevés olyan felnőtt lévén aki továbbra is fogékony marad a fertőzéssel szemben. Az antitestek elterjedése nagyobb 80%-nál a 2 évnél idősebb páciensek esetén¹⁵. Annak ellenére, hogy a HHV-6 antitestek elterjedése nagy, az antitestek szintje a fertőzést követően alacsony titerre csökken. A HHV-6 IgG antitestek magas szintje a vérsavóban friss HHV-6 fertőzés jelenlétét jelölheti.

Vizsgálati elv

A Biotrin HHV-6 IFA rendszer az antitest kimutatáshoz és titer meghatározáshoz közvetett immunfluoreszcens módszert alkalmaz. A páciensek vérsavó mintáit inkubálják lekötött HHV-6 antigénnel, amelyet egy üvegfelületre kötöttek le. Ha a mintában HHV-6 IgG antitestek találhatók, azok az antigénnel egy stabil komplex vegyületet alakítanak ki. A lekötött antitesteket ezután fluoreszcenciával konjugált kecskéből származó anti-humán IgG-vel léptetik reakcióba és a keletkező vegyületet fluoreszcens mikroszkóp segítségével megvizsgálják. A pozitív antitest reakciót fényes zöld fluoreszkálás jelzi.

Óvintézkedések

Biztonsági előírások

- Kizárólag *in vitro* diagnosztikai használatra.
- A készlet kizárólag képzett laboratóriumi személyzet által használható.
- A készlet emberi eredetű anyagokat tartalmaz, amelyek **POTENCIÁLISAN FERTŐZŐ ANYAGOKKÉNT KEZELENDŐK**. A kontrollmintákat megvizsgálták és a HBsAg és a HIV 1/2 valamint HCV szempontjából negatívnak nyilvánították. Tekintettel azonban arra, hogy egyetlen módszer sem ad 100%-ig biztos eredményt, minden kontrollt potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és ennek megfelelően is kell kezelni. Egyes reagensek Thiomersalt tartalmaznak, amely lenyelés esetén mérgező lehet.
- Az Evans Blue potenciális rákkeltő anyag ezért ne érintse meg. Ha a bőrével érintkezésbe kerül, bő vízben mossa le.
- Egyes reagensek Na-azidot tartalmaznak, ami robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet ólom és réz csővezetékek anyagával. Nagy mennyiségű vízzel együtt öntse ki őket, hogy megelőzze az azid felgyülemelését.
- Minden klinikai mintát, fertőző vagy potenciálisan fertőző anyagot előírásainak megfelelően kell kezelni és kiönteni.
- A vegyszerek, reakcióelegyek és a reagenskészlet tartalmának maradékai veszélyes hulladéknak tekintendők. Ezért minden ilyet a már ismert biztonsági előírásoknak megfelelően kell kiönteni.
- Viseljen laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos latex kesztyűt és védőszemüveget a mintákkal és a reagenskészlettel végzett munka ideje alatt. Amikor befejezte a munkát, végezzen fertőtlenítő kézmosást.
- Ne pipetázzon szájjal, és soha ne fogyasszon ételt vagy italt a laboratóriumban.

Eljárástechnika

- Ne használja a reagenskészletet és az egyes reagenseket a lejárat idejükön túl.
- Ne keverje, vagy helyettesítse a reagenseket más gyártási számú reagenskészletből származókkal.
- Ne használjon beszennyezett, befertőzött mintákat és reagenseket.
- A megadott előírástól való eltérés hibás eredményhez vezethet.
- Ha nem tartja be a megadott idő-, és hőmérsékletetartományokat, nem biztos, hogy az eljárás megbízható eredményt fog adni! Az ilyen vizsgálatokat meg kell ismételni!
- A mosópuffer készítéséhez kiváló minőségű desztillált vagy deionizált víz szükséges. A rossz minőségű vagy szennyezett víz háttérzajt okozhat. Alaposan keverje meg a mosópuffer törzsoldatot.
- Használat előtt várja meg, amíg a reagensek elérik a szobahőmérsékletet (20-25°C), és keverje meg őket alaposan.
- A lemezeket csak közvetlenül használat előtt vegye ki a védőtasakból. Hogy elkerülje a kondenzációt, várja meg, amíg a lemezek elérik a szobahőmérsékletet, mielőtt kiveszi őket a tasakból.
- Ne tegye ki a reagenseket közvetlen napsugárzásnak, és ne hagyja őket 2-8°C nál magasabb hőmérsékleten hosszabb ideig állni!
- A lemezek festésekor a vonalat kell húzni a minták közé zsírkrétával vagy viaszceruzával, így elkerülhető, hogy azok beszennyezzék egymást.
- Túl nagy mennyiségű lemezfedő folyadék használata a fluoreszcencia elmosódását okozhatja.

- Mindig tiszta, lehetőleg egyszer használatos üvegedényeket használjon a reagensek előkészítéséhez.
- Vigyázzon, nehogy beszennyezze az anyagokat. Mindig használjon új pipettahegyet minden egyes minta és egyes minden reagens beméréséhez.
- Ne karcolja meg a teszhely felületét a pipettahegygel vagy a cseppentővel.
- Mielőtt elkezdené a munkát, készítsen jegyzőkönyvet, ami lehetővé teszi a minták későbbi azonosítását.

A készlet elemei

A szállított anyagok

1. HHV-6 antigén lemezek:

SLIDE

4 x 10 cellás tárgylemez amelyhez a HHV-6 sejtoldó antigénjeit termelő lymphocytákat rögzítettek. A védőtasakból való kivétel után használatra kész.

2. Pozitív kontrollminta**:

CONTROL + IgG

1 x 0,5ml HHV-6 IgG antitest pozitív emberi vérsavó. 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. (használatra készen) (kék kupak)

3. Negatív kontrollminta**:

CONTROL - IgG

1 x 0,5ml HHV-6 IgG antitest negatív emberi vérsavó. 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. (használatra készen) (piros kupak)

4. Fluoreszceinnel jelölt ellenanyag konjugátum:

CONJ ENZ 1X

1 x 1,5ml fluoreszceinnel konjugált kecskéből (inaktivált) származó anti-humán IgG (súlyos és könnyű lánc) Evans Blue és Rhodamine kontrasztfestékkel. 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. (használatra készen) (sárga kupak)

5. Beágyazó közeg:

MM

1 x 2ml Tris pufferes glicerín. Thiomersalt (0,01%) tartalmaz. (használatra készen) (narancssárga kupak)

6. Mosópuffer koncentrátum (PBS):

BUF WASH CONC

1x tasak. Mindegyik alumínium tasak 10 PBS tablettát tartalmaz. Mindegyik tablettát 100ml 1x mosópufferhez elegendő.

7. Itatóspapír:

BLT

A nedvszívó itatósök előre kivágott lyukakkal.

8. Használati utasítás:



**Potenciálisan fertőző anyag

Egyéb szükséges anyagok

- Vérsavógyűjtő felszerelés.
- Lemeztartó polc és festőedény a lemezek mosására.
- Kiváló minőségű desztillált vagy deionizált víz.
- Tiszta beosztásos-skálával rendelkező laboratóriumi felszerelés.
- Kémcsövek, állványok, mikrotiter lemezek és biztonsági eszközök a savók hígításához.
- Mérőhengerek .
- Pontos 5µl - 50µl és 50µl - 200µl –os pipetták, mikropipetták és egyszerhasználatos hegyek pipettázásához.
- Időmérő.
- 35-39°C inkubátor.
- Papírtörülők vagy nedvszívó papír.
- Hígító csövek minicentrifuga kémcsövek (0,5ml).
- Asztali minicentrifuga.
- Inkubációs tálca nedves papírtörülővel.
- Mosószeres üvegek és mosótálca.
- Fedőlemezek: 22 X 50mm 1 sz. Vastagság.
- Fluoreszcens mikroszkóp megfelelő szűrőkombinációval a FITC (gerjesztőszűrő 495nm, visszatartószűrő 515nm), javasolt egy halogén fényforrás használata.
- Viaszceruza.

Tárolási feltételek és a lejáratí idő

- A reagenskészlet 2-8°C on tárolva a doboz külsején található címkén jelzett időpontig használható fel. Az itatóspapír 2-25 °C -on tárolható.
- A fel nem használt reagenseket a munka után azonnal tegye vissza 2-8 °C ra.
- A hígított mosópuffer 2-8 °C on 4 hétig eltartható.

Mintavétel és mintatárolás

- A mintavétel steril laboratóriumi módszerrel történjen. A minták 2-8 °C on 1 hétig, -20°C on lefagyasztva hosszabb ideig eltarthatók. Kerülje a minták többszöri lefagyasztását és felolvasztását.
- A szerokonverzió, illetve a szignifikáns titer-emelkedés igazolására 7-14 napos eltéréssel levett plazma, vagy savópár szükséges. A vizsgálatig a mintákat –20°C on kell tárolni. Ezeket a mintákat szimultán kell vizsgálni.

A reagensek és minták előkészítése

Reagens előkészítés

Készítse elő a PBS-t, hozzáadva 1 tablettát 100ml frissen előkészített desztillált vagy deionizált vízhez. Tárolja tiszta, zárt tartályban 2-8°C fokon, max. 4 hétig. Az összes többi reagens használatra készen és megfelelő munkahígításban található a reagens készletben.

Minta előkészítés

Kvalitatív vizsgálat: Mindegyik vérsavó mintát hígítsa 1:20 PBS-ben. Úgy készítse el a hígításokat, hogy a mosópuffer térfogata legalább 0,1ml legyen.

Mennyiségi vizsgálat: a minta ellenanyag-titere úgy határozható meg, ha a mintából mosópufferrel felező hígítási sort készít. A sort az 1:64 arányú hígítással kezdje, majd minden újabb hígításhoz adjon azonos mennyiségű mosópuffert és hígított mintát. Addig folytassa, amíg el nem éri a „+1” mértékű fluoreszcenciát (l. Eredmények értékelése).

A vizsgálat menete

Használat előtt várja meg, amíg a reagensek elérik a szobahőmérsékletet (20-25°C).

1. Lemezek előkészítése

Vegye ki a kívánt számú lemezt a védőtasakból és egy viaszceruza segítségével húzzon vonalat a cellák elválasztásához. A számozott cellákba csepegtessen 1 cseppet (kb. 20µl) mindegyik hígított vizsgálati mintából és 1 cseppet (kb. 20µl) a használatra kész pozitív és negatív kontrollmintákból.

Megjegyzés: a csepp fedje be teljesen a tesztfelületet, de vigyázzon, hogy a szomszédos teszhelyek tartalma ne keveredjen.

2. Inkubálja a mintákat

Inkubálja a lemezeket nedves kamrában 30 percig 35-39°C fokon.

3. Mossa le a lemezeket

A peremük mentén mossa le a lemezeket gyenge sugarú mosópufferben egy mosóüveggel. A sugarat ne irányítsa a cellák felé. Helyezze a lemezeket egy mosópuffert tartalmazó mosótálcára 10 percig szobahőmérsékleten (20-25°C) és cserélje ki a mosópuffer oldatot 5 perc múlva. Itassa fel a maradék folyadékot a teszhelyek közötti területről a reagenskészlethez adott itatóspapírral.

4. Inkubálás konjugátummal

Tegyen 1 cseppet (kb. 40µl) a használatra kész konjugátumból mindegyik vizsgálati cellába. Inkubálja a lemezeket nedves kamrában 30 percig 35-39°C fokon.

5. Mossa le a lemezeket

Ismételje meg a 3. lépést.

6. Alkalmazza a beágyazó közeget

Tegyen egy kis csepp lemezfedő folyadékot minden teszhely közepére és helyezzen rá egy fedőlemezt.

7. Vizsgálja meg a lemezeket

Vizsgálja meg a lemezeket egy fluoreszcens mikroszkóppal 200-500x nagyítást használva.

A legjobb, ha a leolvasás rögtön a vizsgálat után történik. (Zárja le a lemezeket vagy tartsa azokat nedvesen a beágyazó anyag száradásának csökkentésére. A lemezek még 3 napig azonos eredményt mutatnak, ha sötétben 2-8 °C on tartja őket lezárt tasakban, hogy csökkenjen a lemezfedő folyadék párolgása.)

8. Osztályozás

A pozitív reakció fluoreszcencia szintjén fényestől halványig terjed. A fluoreszcens reakciót az alábbi intenzitási skála alapján osztályozza:

+4 (ragyogó), +3 (fényes), +2 (mérsékelt), +1 (gyenge).

Az eredmények értékelése

Negatív reakció

Ha nem látható specifikus fluoreszcens festődés a fertőzött sejtekben, akkor a minta HHV-6 IgG-re specifikus ellenanyagra negatív.

Pozitív reakció:

Egy HHV-6 antitest pozitív reakció akkor jön létre, ha nagyon fényes fluoreszkálás észlelhető a fertőzött sejtekben $\geq 1:20$ hígításnál. A pozitív reakció előzetes HHV-6 fertőzésre utal. Az IgG antitestek szerokonverziója vagy az IgG antitestek titerjének négyszeres vagy nagyobb mértékű megnövekedése párosított vérsavó minták esetén, friss HHV-6 fertőzésre utal.

+4 = ragyogóan fényes zöld fluoreszcencia amely magas titer HHV-6 IgG antitest választ jelöl.

+3 = fényes zöld fluoreszcencia amely magas titer HHV-6 IgG antitest választ jelöl.

+2 = zöld fluoreszcencia amely közepes titer HHV-6 IgG antitest választ jelöl.

+1 = fakó zöld fluoreszcencia amely alacsony titer HHV-6 IgG antitest választ jelöl.

Ez a minta hígítási végpontját vagy titerjét is jelöli.

- A HHV-6 IgG pozitív minták titrálása kvantitatív eredményeket szolgáltat. Titrálási sorozatban, a legmagasabb vérsavó hígítási szint, amely "+1" reakciót ad, végpont titernek tekintendő.
- Minden lemezen található a HHV-6-tal fertőzött sejtek mellett nem fertőzött sejtek is, ezek belső kontrollként szolgálnak. A nem fertőzött sejtek a kontrasztfestékkel megfestődnek pirosra, és kontrasztos háttérrel adnak a leolvasáskor. Ezeket anti-nukleuszos és/vagy anti-citoplazmás antitest reakciókban kontrollmintaként adagolják, autoimmun betegségben szenvedő páciensek esetén.

A látottak értékelése

A vizsgálati hígításon nincs látható fluoreszcencia a fertőzött sejtekben.	A vizsgált minta HHV-6 IgG antitest negatív.
Véletlenszerű zöld sejtek a fertőzött sejtek észlelhető fluoreszkálása nélkül.	A vizsgált minta HHV-6 IgG antitest negatív.
A vizsgált vagy magasabb fokú hígításnál találtak megfigyelhető fertőzött sejt fluoreszcenciát.	A vizsgált minta HHV-6 IgG antitest pozitív, ami előzetes HHV-6 fertőzésre utal. A szerokonverzió vagy az IgG antitestek titerjének négyszeres vagy nagyobb mértékű megnövekedése párosított vérsavó minták esetén, friss HHV-6 fertőzésre utal.
Fluoreszcencia a fertőzött és a nem fertőzött sejtekben is.	A vizsgált minta nem specifikus reakciót ad.

Minőségellenőrzési kritériumok

Mindegyik vizsgálatnak tartalmaznia kell egy pozitív kontrollmintát és egy negatív kontrollmintát. Egy vizsgálat eredményei akkor érvényesek, ha a következő feltételek teljesültek:

- 1) A készletben található HHV-6 IgG pozitív kontrollminta eléri a $\geq +2$ vagy annál nagyobb fluoreszcencia intenzitást.
- 2) A készletben található HHV-6 IgG negatív kontrollminta nem ad látható fluoreszcenciát.

Ha a fenti kritériumok nem teljesülnek, a vizsgálat érvénytelennek tekintendő és meg kell azt ismételni.

Várt értékek

A HHV-6 antitestek elterjedése nagyobb 80%-nál a 2 évnél idősebb páciensek esetén¹⁵. Annak ellenére, hogy a HHV-6 antitestek elterjedése nagy, az antitestek szintje a fertőzést követően alacsony titerre csökken. HHV-6 fertőzés esetén, az IgG magas szintje egy nemrég történt fertőzést jelezhet. A specifikus IgG antitestek szintjének jelentős megnövekedése párosított mintákban friss HHV-6 fertőzést jelez.

A felelősség korlátozása

- Kizárólag az Egyesült Államokban használható kutatási célokra
- A szerológiai vizsgálatok, mint az IFA a vírusos fertőzés kimutatására szolgálnak, de ez nem lehet az egyetlen kritérium a kiértékelésnél. A vizsgálati eredményeket össze kell hasonlítani a páciens klinikai és járványtani profiljával és más laboratóriumi eredményekkel.
- A HHV-6 IgG antitest egyetlen pozitív eredménye azt jelzi, hogy a vírussal már volt előzetes érintkezés vagy fertőzés. Járványtani célokra egyszeres eredmény megfelelő. Ugyanakkor, azt nem ajánlatos aktuális vagy új keletű fertőzés kimutatására használni. Aktuális vagy új keletű fertőzés kimutatására a 7-14 napra egymástól begyűjtött párosított vérsavó minták szimultán vizsgálatát kell elvégezni. Egy négyszeres vagy ennél nagyobb mértékű titer növekedés az elsőtől a második mintáig aktuális vagy új keletű fertőzésre utal.

Teljesítmény jellemzők

Érzékenység és specificitás

Diagnosztikai érzékenység

Egy ismerten pozitív mintaalapból 93 mintát megvizsgáltak a Biotrin HHV-6 IgG IFA módszerrel. Az összes 93 pozitív eredményt adott a HHV-6 IgG antitestekre 100%-os érzékenységet jelezve. A pozitív mintaalapot egy HHV-6 IgG IFA módszerrel ellenőrizték egy másik értékelő központban.

% Érzékenység = Valódi pozitívak/(Valódi pozitívak+álnegatívak + kétesek) x 100%

% Érzékenység = $93/(93 + 0 + 0) \times 100 = 100\%$

%Érzékenység = 100%

Diagnosztikai specificitás

A Biotrin HHV-6 IgG IFA specificitását 67 normál véradó vérsavó mintájának megvizsgálásával végezték el. Ezeket a mintákat negatívnak találták miután megvizsgálták azokat a Biotrin HHV-6 IgG IFA módszerrel, egy másik HHV-6 IgG IFA módszerrel és egy harmadik - kereskedelemben kapható - vizsgálati készlettel a kettő a hátról szabályt alkalmazva. A megvizsgált 67 mintából, 63 negatív lett és 4 pozitív lett a HHV-6 IgG antitestekre nézve. 94% specificitást értek el az alábbi egyenlet alapján:

% Specificitás = Valódi negatívok / (Valódi negatívok + álnegatívok + kétesek) x 100

% Specificitás = $63 / (63 + 4) \times 100 = 94\%$

% Specificitás = 94%

Keresztreaktivitás

A Biotrin HHV-6 IgG IFA specificitásának megállapítására, 20 vérsavó mintát vizsgáltak meg. A következő táblázat összefoglalja az eredményeket, a következő betegségben szenvedő betegek vérsavó mintájának megvizsgálását követően:

1. Táblázat

Vírusok	Biotrin HHV-6 IgG IFA
Epstein-Barr Vírus IgG	0/9
Cytomegalovírus IgG	0/9
Herpes Simplex Vírus IgG	0/2

Interferenciák (elemzési specificitás)

Az interferencia-vizsgálatok során azt figyelték, milyen hatással van a vizsgálat eredményére a hemolízis, illetve a bilirubin és a reumafaktor jelenléte a mintában. Nem észleltek interferenciát. Az összes festett lemezen egy téglavörös utánszínezés volt észlelhető.

Reprodukálhatóság

Beleértve a vizsgálaton belüli, a vizsgálatok közötti és az operátorok közötti reprodukálhatóságot, 6 vérsavó minta megvizsgálásakor 3 különböző HHV-6 IgG IFA csomag és 3 különböző operátor használatával 3 különböző napon, az alábbi eredményeket kapták. A vizsgálatot egy másik intézetben végezték el a következő módszerrel: Mindegyik mintát előbb megvizsgálták 1/20 hígításnál. Ha az eredmény pozitív lett, mindegyik mintát tovább hígították 1 adagnyit, vagyis 1/20, 1/40, 1/80 stb. **Minden feljegyzett eredmény megfelel az utolsó hígításnak, amely tisztán észlelhető fluoreszcenciát adott, vagyis az értéke 1+.**

2. Táblázat

Minta	1. operátor			2. operátor			3. operátor		
	1. nap	2. nap	3. nap	1. nap	2. nap	3. nap	1. nap	2. nap	3. nap
1. csomag									
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
2. csomag									
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
3. csomag									
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

Azok az eredmények, amelyek nem több mint két hígítással térnek el egymástól, azonos jelentőségűnek tekintik. Ez két kritérium alapján lett kiválasztva:

- Elfogadott, hogy két különböző eljárás alatt, ugyanazon a mintán az immunofluoreszcenciával kapott titerek között lehet egy hígítási különbség
- A két hígítást meghaladó különbség két egymást követő mintán ugyanannál a betegnél már jelentősnek számít.

A HHV-6 IgG IFA eljárás rövid ismertetése

Fontos észrevétel: A vizsgálat elkezdése előtt, olvassa végig a teljes használati utasítást. Ez a rövid ismertető csak tájékoztatóként szolgál.

Ellenanyag-kimutatás: Hígítsa a mintát 1:20 arányban a mosópufferrel
Mennyiségi vizsgálat: 1:20 arányban hígított mintából kiindulva készítsen hígítási sort: minden további hígításhoz adjon azonos mennyiségű mosópuffert és hígított mintát.



Adagoljon ~20µl pozitív kontrollmintát a lemez 1. sz. cellájába
Adagoljon ~20µl negatív kontrollmintát a lemez 2. sz. cellájába
Adagoljon ~20µl hígított mintát a többi cellába (cellánként egy minta)



Inkubálja a lemezt 35-39°C fokon 30 percig



Mossa le a lemezt mosópufferrel



Minden cellába adagoljon 40µl konjugátumot



Inkubálja a lemezt 35-39°C fokon 30 percig



Mossa le a lemezt mosópufferrel



Helyezzen 10µl beágyazó közeget mindegyik cellába és fedje le



Vizsgálja meg a lemezt egy fluoreszcens mikroszkóppal

Referenciák

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., Chandrashekrana, 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.

Jelmagyarázat

In-vitro diagnosztikai orvosi eszköz

IVD

Sarzs szám

LOT

Katalógus szám

REF

A tárolási hőmérséklet korlátozásai:



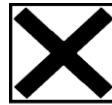
Lejárat dátum



Gyártó



Lenyelés esetén veszélyes.
Savval történő érintkezés
hatására rendkívül mérgező
gázok keletkeznek.



Használati utasítás



Kiegészítő Biotrin termékek

A Biotrin International cég az alábbi egyéb humán herpeszvírus tesztekét kínálja a rutin laboratóriumi diagnosztika számára:

Catalogue Number:	Product	Number of tests
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 plate EIA
V18HHV8	Human Herpesvirus-8 IgG IFA	6 X 10 well slides
V19HHV8	Human Herpesvirus-8 IgG EIA	96 well plate 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
www.biotrin.com



Erről a termékről vagy bármely más Biotrin termékről szóló bővebb információért kérjük, keresse fel weboldalunkat

www.biotrin.com