

HHV-6 IgM IFA, N°Cat: V17HHV6, HHV-426-03 07/09, ES



**ESPAÑOL**

N°Cat: V17HHV6  
Formato: 4 x 10 well slides  
HHV-426-03



**Virus del Herpes-6 Humano  
Ensayo de inmunofluorescencia IgM**

Ensayo de inmunofluorescencia para detectar anticuerpos IgM frente al virus del Herpes-6 Humano



## ÍNDICE

**Uso al que se destina**

**Introducción**

**Principio del ensayo**

**Precauciones**

**Seguridad**

**Procedimiento**

**Componentes del kit:**

**Materiales suministrados**

**Otros materiales requeridos no suministrados**

**Conservación y estabilidad**

**Recogida y conservación de muestras**

**Preparación de muestras y reactivos**

**Procedimiento del ensayo**

**Interpretación de los resultados**

**Significado de la interpretación de los resultados**

**Criterios de control de calidad**

**Valores esperados**

**Limitaciones de uso**

**Características de rendimiento**

**Resumen del procedimiento IFA para IgM del HHV-6**

**Referencias**

**Interpretación de los símbolos**

**Otros productos Biotrin**

## Uso al que se destina

El kit Biotrin Human Herpesvirus-6 IgM IFA está destinado a la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos IgM contra el virus herpes-6 humano (HHV-6) en suero y plasma.

## Introducción

El herpesvirus humano 6 (HHV-6), descrito por primera vez en 1986, fue aislado en pacientes con trastornos linfoproliferativos<sup>1</sup>. Posteriormente, se ha confirmado que el HHV-6 es el agente etiológico en el exantema súbito infantil (Roseola infantum)<sup>2</sup>, y se ha asociado con otras patologías infantiles, como la hepatitis fulminante<sup>3</sup>, encefalitis<sup>4</sup>, linfadenitis histiocítica necrotizante<sup>5</sup> e infección diseminada mortal<sup>6</sup>.

En los adultos, la infección primaria por el HHV-6 es menos frecuente, con datos disponibles que demuestran que puede estar implicado en casos de hepatitis<sup>7</sup>, cuadros de tipo mononucleosis infecciosa<sup>8</sup>, linfoproliferación policlonal atípica<sup>9</sup>, síndrome de cansancio crónico posviral<sup>10</sup>, esclerosis múltiple<sup>11</sup>, carcinoma oral<sup>12</sup>, carcinoma cervical<sup>13</sup> y supresión de la médula ósea en pacientes con trasplante de médula ósea<sup>14</sup>.

Las pruebas virológicas y serológicas específicas encontraron que el HHV-6 es ubicuo en la población humana, infectando típicamente en la primera infancia y quedando pocos adultos todavía susceptibles a la infección primaria. La prevalencia de anticuerpos se describe por encima del 80% en pacientes de más de 2 años de edad<sup>15</sup>. Sin embargo, aunque la prevalencia de anticuerpos frente al HHV-6 es alta, el nivel de anticuerpos disminuye a títulos bajos después de la infección. La detección de IgM anti HHV-6 en humanos puede ser usada como una ayuda en el diagnóstico de la infección primaria por este virus.

## Principio del ensayo

El ensayo Biotrin HHV-6 IFA utiliza el método de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos y la determinación del título. Las muestras de suero o de plasma de los pacientes se incuban con el antígeno de HHV-6 que ha sido estabilizado en un porta de cristal. Si los anticuerpos IgM frente al HHV-6 están presentes en la muestra, se forma un complejo estable con el antígeno. Los anticuerpos fijados reaccionan con una anti IgM humana de cabra marcada con fluoresceína y este complejo es visualizado con ayuda de un microscopio de fluorescencia. Una reacción de anticuerpos positiva se muestra con una fluorescencia verde brillante.

## Precauciones

### Seguridad

- Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.
- Este kit se ha diseñado para ser utilizado exclusivamente por personal de laboratorio cualificado.
- El kit contiene materiales de origen humano, que se consideran MATERIAL POTENCIALMENTE BIOPELIGROSO. Los controles se han sometido a pruebas de HBsAg y de anticuerpos frente a VIH 1/2, y HCV, y HTLV –I/II han dado resultados negativos. Sin embargo, y dado que ningún método de prueba puede

ofrecer garantías completas de la ausencia de virus, todos los controles deben tratarse como potencialmente infecciosos.

- Algunos reactivos contienen tiomersal, que puede ser tóxico si se ingiere.
- Evitar el contacto con el azul de Evans, ya que es un carcinógeno potencial. Si se produce el contacto con la piel, lavar con agua abundante.
- Algunos reactivos contienen azida sódica que puede formar azidas metálicas potencialmente explosivas si se acumula en las cañerías de plomo o cobre. Para su eliminación, los reactivos se enjuagarán con grandes cantidades de agua para evitar la acumulación de azida.
- Desechar todas las muestras clínicas y material infectado o potencialmente infectado de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio. Todos estos materiales deberán manipularse y desecharse como si se tratara de materiales potencialmente biopeligrosos.
- Los residuos químicos, preparaciones y componentes de kits se consideran material peligroso. Estos materiales deben desecharse de acuerdo con medidas de seguridad establecidas.
- Durante la manipulación de las muestras, usar prendas protectoras, guantes desechables de látex y protección para los ojos. Una vez finalizadas las manipulaciones, lavarse concienzudamente las manos.
- No pipetear materiales con la boca y nunca comer ni beber en la superficie de trabajo del laboratorio.

### **Procedimiento**

Kit de prueba IFA: SÓLO PARA USO EN INVESTIGACIÓN EN LOS EE.UU.

- No utilizar el kit ni los reactivos individuales más allá de su fecha de caducidad.
- No mezclar ni sustituir los reactivos con otros provenientes de kits con diferente número de lote.
- No usar muestras o reactivos contaminados.
- Desviarse del protocolo proporcionado puede conducir a la obtención de resultados erróneos.
- Realizar el ensayo fuera de los límites de tiempo y temperatura puede provocar resultados erróneos. Los ensayos que no se mantengan dentro de los límites de tiempo y temperatura establecidos deberán repetirse.
- La solución de lavado precisa agua de alta calidad, destilada o desionizada. El uso de agua de mala calidad o contaminada podría ocasionar fondo. Cerciorarse de mezclar concienzudamente la solución de lavado.
- Dejar que todos los componentes se equilibren a temperatura ambiente (20-25°C) y mezclarlos bien antes de usarlos.
- No extraer los portas de su bolsa protectora hasta estar listo para su uso. Al dejar equilibrar los portas a temperatura ambiente antes de abrir la bolsa se protege el contenido de la condensación de humedad.
- Evitar exponer los reactivos directamente a la luz solar y/o a temperaturas superiores a 2-8°C durante períodos de tiempo prolongados.
- Evitar la contaminación cruzada al teñir múltiples muestras marcando el espacio entre los pocillos con un lápiz de cera.
- La aplicación de una cantidad excesiva de medio de montaje ocasiona una fluorescencia borrosa.
- Use siempre recipientes de vidrio limpios, de preferencia desechables, para cualquier preparación de reactivos.
- Debe tenerse cuidado de no contaminar los componentes y usar siempre puntas de pipeta nuevas para cada muestra y cada componente.
- No arañar el pocillo con la punta de la pipeta o el gotero.

- Antes de iniciar el ensayo, deberá establecerse un plan de identificación y distribución.

## Componentes del kit

### Materiales suministrados

1. Portas con antígeno HHV-6:

**SLIDES**

4 portas x 10 pocillos en los cuales se han estabilizado linfocitos humanos infectados con HHV-6. Los portas están listos para usar una vez fuera de su bolsa protectora.

2. Control positivo\*\*:

**CONTROL + IgM**

1x 0,5ml control positivo de anticuerpos IgM humanos frente a HHV-6. Contiene 0.1% de azida sódica.(Listo para usar) (Tapón azul).

3. Control negativo \*\*:

**CONTROL - IgM**

1x 0.5ml control negativo de anticuerpos IgM humanos frente a HHV-6. Contiene 0,1% de azida sódica.(Listo para usar) (Tapón rojo).

4. Conjugado marcado con fluoresceína\*\*:

**CONJ ENZ 1X**

1x1,5ml conjugado anti IgM humana de cabra (inactivado) marcado con fluoresceína con contratinción de azul de Evans y rodamina. Contiene 0,1% de azida sódica.(Listo para usar) (Tapón amarillo).

5. Medio de montaje:

**MM**

1x 2ml de tampón tris-glicerol. Contiene tiomersal (0,01%). (Listo para usar) (Tapón naranja).

6. Tampón de lavado concentrado (PBS):

**BUF WASH CONC**

1x sobre. Cada sobre de aluminio sellado contiene 10 tabletas de PBS. Cada tableta sirve para preparar 100ml de tampón de lavado 1X.

7. Secantes para los portaobjetos:

**BLT**

4x Secantes con orificios precortados para secar los portas alrededor de los pocillos.

8. Instrucciones de uso:



**\*\* Material potencialmente biopeligroso.**

**Otros materiales requeridos no suministrados**

- Equipo para la recogida de suero.
- Soporte para los portaobjetos y cubeta de tinción para el lavado de los portas.
- Agua destilada o desionizada de alta calidad.
- Material de laboratorio limpio y graduado.
- Tubos de ensayo o equivalente para la preparación de las muestras.
- Probetas graduadas.
  
- Pipetas y puntas desechables de precisión para dispensar de 5µl a 50µl y de 50µl a 200µl.
- Cronómetro.
- Incubador a 35-39°C.
- Toallas de papel o papel absorbente.
- Tubos de dilución y tubos de minicentrífuga (0,5ml).
- Minicentrífuga.
- Bandeja de incubación con papel húmedo.
- Botellas y bandeja de lavado.
- Cubreobjetos de vidrio: 22 x 50mm; grosor nº.1.
- Lápiz de cera.
- Absorbente de IgG (disponible comercialmente).
- Microscopio de fluorescencia con la apropiada combinación de filtros para FITC (excitación filtro 495nm, filtro supresión 515nm); se recomienda una fuente de luz halógena. La fluoresceína tiene un pico de excitación a 490nm y un pico de emisión a 520nm. El tipo y estado del equipo de fluorescencia que se utiliza en cada laboratorio pueden explicar las diferencias en la reactividad e intensidad de fluorescencia finales.

### **Conservación y estabilidad**

- El kit es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase exterior, siempre que se conserve entre 2 y 8°C. Nota: Los secantes pueden conservarse entre 2 y 25°C.
- Todos los componentes no utilizados deberán devolverse a su lugar de conservación, a una temperatura entre 2 y 8°C, inmediatamente después de su uso.
- El tampón de lavado reconstituido es estable durante 4 semanas cuando se conserva entre 2 y 8°C.

### **Recogida y conservación de muestras**

- Se obtendrán muestras usando técnicas de laboratorio asépticas. Las muestras pueden conservarse durante una semana como máximo a temperaturas entre 2 y 8°C y durante períodos más prolongados si se conservan a -20°C. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.
- No usar muestras excesivamente lipémicas sin deslipidización.
- No usar muestras contaminadas.

### **Preparación de muestras y reactivos**

#### ***Preparación de los reactivos***

Preparar el tampón de lavado añadiendo 1 tableta de PBS a 100ml de agua

destilada o desionizada recién preparada. Mezclar para disolver. Conservar en un recipiente cerrado limpio, entre 2 y 8°C durante 4 semanas como máximo.

Todos los demás reactivos se suministran listos para su uso, a la concentración de trabajo.

### **Preparación de las muestras**

Prueba cualitativa: todas las muestras son pretratadas para eliminar IgG. Añadir 90µl de absorbente a 10µl de muestra y mezclar bien. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente. Centrifugar a 10.000rpm durante 2 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante se dispensa en el pocillo del porta.

Prueba cuantitativa: el "título" de la muestra puede determinarse mediante la preparación de doble-diluciones en serie de la muestra en solución de lavado, comenzando con una dilución 1:20 de la muestra en absorbente, y añadiendo volúmenes iguales de muestra diluida y tampón de lavado para cada dilución consecutiva hasta que se logre un grado de fluorescencia "+1" (ver el apartado Interpretación de los resultados).

### **Procedimiento del ensayo**

Dejar que todos los componentes se equilibren a temperatura ambiente (20-25°C) antes de su uso

1. Preparación de los portaobjetos  
Extraer la cantidad de portas necesarios de su bolsa protectora y marcar el espacio entre los pocillos con un lápiz de cera para evitar la contaminación cruzada. Dispensar una gota (aprox. 20µl) de cada muestra diluida y una gota (aprox. 20µl) de los controles positivo y negativo listos para su uso a los pocillos numerados. Nota: Añadir suficiente volumen para cubrir completamente cada pocillo, pero evitar que se mezclen los contenidos de pocillos adyacentes.
2. Incubación de las muestras  
Incubar los portaobjetos en una cámara húmeda durante 3 horas a 35 - 39°C.
3. Lavar el portaobjetos  
Lavar los portaobjetos por el lateral con un chorro fino de solución de lavado, usando una botella de lavado. Evitar dirigir el chorro a los pocillos. Colocar los portaobjetos en una cubeta de lavado con solución de lavado durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) cambiando la solución al cabo de 5 minutos. Secar el círculo de cera que rodea los pocillos con los secantes suministrados.
4. Incubación con el conjugado  
Aplicar una gota (aprox. 20µl) del conjugado listo para su uso a cada pocillo de ensayo. Incubar los portaobjetos en una cámara húmeda durante 30 min. a 35 -39°C.
5. Lavar el portaobjetos  
Repetir el paso 3.
6. Aplicar el medio de montaje  
Aplicar una pequeña gota del medio de montaje al centro de cada pocillo y colocar encima un cubreobjetos.

#### 7. Examinar el portaobjetos

Examinar con un microscopio de fluorescencia de entre 200 y 500x aumentos. Para obtener los mejores resultados, examinar los portas inmediatamente después de terminar la prueba. (Para obtener resultados equivalentes, sellar los portas o mantenerlos humedecidos para minimizar la deshidratación del medio de montaje. Conservar en la oscuridad entre 2 y 8°C. Leer antes de transcurridos 3 días).

#### 8. Gradación

Una reacción positiva puede dar una intensidad de fluorescencia de muy brillante a débil. Graduar la reacción de fluorescencia de acuerdo con la siguiente escala de intensidad: +4 (brillante), +3 (luminosa), +2 (moderada), +1 (débil).

### Interpretación de los resultados

#### ***Reacción negativa***

Se considerará que una muestra es negativa para anticuerpos IgM frente a HHV-6 si no existe fluorescencia tras la tinción de las células infectadas.

#### ***Reacción positiva***

Una reacción de anticuerpos HHV-6 positiva se da solo cuando se observa una tinción fluorescente verde brillante en las células infectadas a una dilución  $\geq 1:20$ . Una reacción positiva indica una infección primaria por HHV-6.

+4 = Fluorescencia verde brillante que indica una respuesta de un título muy elevado de anticuerpos IgM frente a HHV-6.

+3 = Fluorescencia verde luminosa que indica una respuesta de un título elevado de anticuerpos IgM frente a HHV-6.

+2 = Fluorescencia verde que indica una respuesta de un título medio de anticuerpos IgM frente a HHV-6.

+1 = Fluorescencia verde apagada que indica una respuesta de un título débil de anticuerpos IgM frente a HHV-6. Esto indica también la dilución final o "título" de la muestra.

- La titulación de las muestras IgM anti-HHV-6 positivas proporciona información cuantitativa. En una serie de titulación, la dilución más elevada del suero que muestre una reacción "1+" se considera la dilución final.
- Para proporcionar un control interno, cada pocillo del porta contiene células infectadas y no infectadas por HHV-6. Este tipo de preparación del portaobjetos es intencional. Las células no infectadas, teñidas de rojo por la contratinción, proporcionan un fondo de contraste.
- El patrón de fluorescencia de las células infectadas por HHV-6 es variable. Dependiendo de estadio de la célula en la infección, el patrón de fluorescencia puede variar desde una pequeña porción de la célula infectada fluorescente hasta la célula entera fluorescente. La fluorescencia puede también variar desde granular a homogénea.

### Significado de la interpretación

No hay fluorescencia de células infectadas a la dilución de cribado	La muestra es negativa para anticuerpos IgM del HHV-6.
Se encuentra fluorescencia positiva específica de células infectadas a la dilución de cribado o a diluciones más elevadas.	La muestra es positiva para anticuerpos IgM del HHV-6, indicando infección reciente.
Fluorescencia en células infectadas y no infectadas	La muestra presenta una reacción no específica.

### Criterios de control de calidad

Cada ensayo debe incluir el control positivo y el control negativo. Los resultados de un ensayo se consideran válidos si se cumplen los criterios siguientes:

1. El control IgM HHV-6 positivo suministrado con el kit presenta una fluorescencia con una intensidad de  $\geq +2$  en las células infectadas.
2. El control IgM HHV-6 negativo suministrado con el kit no presenta fluorescencia visible en las células infectadas.

Si estos criterios no se cumplen, el ensayo se considerará inválido y deberá repetirse.

### Valores esperados

La prevalencia de anticuerpos anti HHV-6 es mayor del 80% en pacientes de más de 2 años de edad. A pesar de que la prevalencia es alta, los títulos de anticuerpo anti HHV-6 desciende hasta niveles bajos después de la infección. Por tanto un título alto de IgM puede ser sugestivo de infección reciente

### Limitaciones de uso

SÓLO PARA USO EN INVESTIGACIÓN EN LOS EE.UU.

- Las pruebas serológicas, como la IFA, sirven como complemento a la detección de la infección viral, pero no deben utilizarse como único criterio. Los resultados de la prueba deben compararse con el perfil clínico y epidemiológico del paciente, y con los resultados de otras pruebas de laboratorio.
- Reacciones positivas no específicas tales como anticuerpos antinucleares y/o anticuerpos anticitoplasmáticos pueden ocurrir en pacientes con ciertas enfermedades autoinmunes. Ambas células infectadas y no infectadas van a mostrar fluorescencia y esto puede enmascarar una reacción positiva.
- Una muestra obtenida demasiado temprano durante la infección puede no contener niveles detectables de anticuerpos IgM. Si se sospecha una infección viral, debe obtenerse una segunda muestra 7-14 días más tarde. La segunda muestra debe ser analizada al mismo tiempo que la primera para buscar seroconversión o un aumento significativo del título de IgM e IgG virales

específicas. Tanto la seroconversión como el aumento significativo de título es indicativo de infección primaria.

- Debido a la posibilidad de la contaminación de la sangre de cordón con las IgM maternas, es prudente confirmar un resultado positivo de anticuerpos IgM virales analizando una muestra de seguimiento del niño, preferiblemente dentro de los primeros 5 días de vida.
- Los anticuerpos IgM específicos se detectan normalmente en pacientes con infección primaria reciente. Los anticuerpos IgM pueden encontrarse también en pacientes con reactivaciones o infecciones secundarias.
- Biotrin recomienda el pretratamiento de las muestras a analizar para eliminar los anticuerpos IgG. Este paso adicional ayuda a eliminar los resultados falsos positivos y falsos negativos. Cuando los anticuerpos IgG compiten con los anticuerpos IgM por los sitios de unión específicos, los anticuerpos IgG pueden producir un resultado falso negativo. Cuando los anticuerpos IgG forman inmunocomplejos con el sustrato antigénico que pueden fijar factor reumatoide (clase IgM), los anticuerpos IgG puede causar un resultado falso positivo.

### **Características de rendimiento**

#### **Sensibilidad y especificidad**

##### **Sensibilidad para el diagnóstico**

9 muestras IgM positivas fueron analizadas con el kit Biotrin HHV-6 IgM IFA. Todas las 9 muestras dieron positivas indicando una sensibilidad del 100%.

$\% \text{ Sensibilidad} = \text{Positivos Verdaderos} / (\text{Positivos Verdaderos} + \text{Falsos negativos}) \times 100$

$\% \text{ Sensibilidad} = 9 / (9 + 0) \times 100$

$\% \text{ Sensibilidad} = 100\%$

##### **Especificidad del diagnóstico**

77 muestras de suero de donantes de sangre normales fueron analizadas para IgM de HHV6 mediante el kit Biotrin HHV6 IgM IFA. 76 se encontraron negativas para anticuerpos IgM de HHV6. Se obtuvo una especificidad del 99% basándose en la siguiente ecuación:

$\% \text{ Especificidad} = \text{Negativos Verdaderos} / (\text{Falsos positivos} + \text{Negativos Verdaderos}) \times 100$

$\% \text{ Especificidad} = 76 / (76 + 1) \times 100 = 99\%$

$\% \text{ Especificidad} = 99\%$

#### **Reactividad cruzada**

Para establecer la especificidad del IFA para IgM del HHV-6 de Biotrin se analizaron 17 muestras de suero. La tabla siguiente presenta un resumen de las muestras usadas, procedentes de pacientes con las enfermedades que se detallan a continuación:

Virus	Numero de positivos en el kit Biotrin HHV-6 IgM IFA
CMV IgM	0/2
EBV IgM	0/5
HSV IgM	0/2
VZV IgM	0/2
ANA	0/2
MCTD	0/2
Lyme	0/2

**Tabla 1:** Total reactividades cruzadas potenciales que no reaccionaron con los anticuerpos IgM de HHV-6

### Interferencias (especificidad analítica)

Los estudios de interferencias incluyeron pruebas de hemólisis, lipemia, bilirrubina y factor reumatoide. Se percibió una contratinción rojo ladrillo en todos los portas teñidos y la interpretación de la intensidad de la fluorescencia no tuvo ninguna interferencia.

### Reproducibilidad

#### Intra Ensayo

Una muestra positiva fue analizada 15 veces en 2 lotes distintos. Ver la Tabla 2.

Controles	Lote 1	Lote 2
PC	2+	2+
NC	0	0
PBS	0	0
Muestra positiva	Lote 1	Lote 2
1	2+	2+
2	2+	2+
3	2+	2+
4	2+	2
5	1+/2+	2+
6	2+	2+
7	2+	2+
8	2+	2+
9	2+	1+/2+
10	2+	2+
11	2+	2+
12	2+	2+
13	2+	2+
14	2+	2+
15	2+	2+

**Tabla 2:** Una muestra analizada 15 veces en 2 lotes.

### Inter Ensayo

Un panel de muestras fue analizado en 10 ensayos diferentes de dos lotes distintos.  
Ver Tabla 3.

#### Lote 1

Muestras	Gradación	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 4	Ensayo 5	Ensayo 6	Ensayo 7	Ensayo 8	Ensayo 9	Ensayo 10
PC	2+-4+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Positivo	≥1+	2+	1+	1+/2+	1+/2+	2+	2+	2+	2+	1+/2+	2+
Positivo	≥1+	2+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	1+/2+	2+
Negativo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Negativo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cut off	≥1+	1+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+

#### Lote 2

Muestras	Gradación	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 4	Ensayo 5	Ensayo 6	Ensayo 7	Ensayo 8	Ensayo 9	Ensayo 10
PC	2+-4+	2+	2+	2+	2+	2+	2+/3+	2+	2+	2+	2+
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Positivo	≥1+	2+	2+	2+	1+2+	1+/2+	2+	2+	2+	2+	2+
Positivo	≥1+	2+	1+/2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
Negativo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Negativo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cut off	≥1+	1+/2+	1+	2+	2+	2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	2+	1+/2+

**Tabla 3:** Los resultados muestran un panel de muestras analizado en 10 ensayos con dos lotes distintos.

### **Resumen del procedimiento IFA para IgM del HHV- 6**

**Nota importante:**

**Leer en su totalidad las instrucciones de uso del producto antes de comenzar el ensayo. Este resumen se suministra únicamente como referencia rápida.**

Prueba cualitativa: Diluir la muestra del paciente 1:10 en absorbente de IgG.

Prueba semi-cuantitativa: Comenzar con una dilución 1:20 de la muestra en absorbente de IgG; a continuación, añadir volúmenes iguales de muestra diluida y solución de lavado por cada dilución consecutiva.



Añadir 1 gota (~20µl) de Control Positivo al pocillo n° 1 del porta  
Añadir 1 gota (~20µl) de Control Negativo al pocillo n° 2 del porta  
Añadir 1 gota (~20µl) de muestra diluida a los pocillos restantes (una muestra por pocillo)



Incubar el porta a 35-39°C durante 3 horas



Lavar el porta con tampón de lavado.



Añadir 1 gota (~20µl) de Conjugado a cada pocillo



Incubar el porta a 35-39°C durante 30 minutos.



Lavar el porta con tampón de lavado.



Colocar una pequeña gota (10µl) de medio de montaje en cada pocillo y añadir el cubreobjetos



Examinar el porta con un microscopio de fluorescencia

## Referencias









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

HHV-6 IgM IFA, N°Cat: V17HHV6, HHV-426-03 07/09, ES

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.

### Interpretación de los símbolos

Material para diagnóstico médico <i>in vitro</i>	
Número de Lote	
Número de catálogo	
Limitación de temperatura	
Usar antes del final de	
Fabricante	
Nocivo si se ingiere. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos	
Instrucciones de uso	

**Otros productos Biotrin:**

Biotrin International ofrece una gama única de ensayos para herpesvirus humano adecuados para la realización de pruebas diagnósticas de laboratorio de rutina.

<b>Cat #:</b>	<b>Description</b>	<b>Assay Format</b>
V17HHV6	Human Herpesvirus-6 IgM IFA	4 x 10 well slides
V3HHV6	Human Herpesvirus-6 IgG 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)



**Para más información sobre este producto o cualquier otro producto Biotrin,  
por favor visite nuestra pagina Web  
[www.biotrin.com](http://www.biotrin.com)**