

FRANÇAIS

Ref. Cat: V17HHV6
Format: 4 x 10 well slides
HHV-426-03



l'Herpès Humain de type-6 IgM Test d'immunofluorescence

Test d'immunofluorescence pour la détection des IgM dirigées contre le Virus de l'Herpès Humain de type-6



TABLE DES MATIERES

Objet

Introduction

Principe du dosage

Précautions d'emploi

Sécurité

Procédure

Composition du coffret

Matériel fourni

Matériel nécessaire non fourni

Conditions de conservation et stabilité

Prélèvement et conservation des échantillons

Préparation des réactifs et des échantillons

Mode opératoire

Interprétation des résultats

Signification de l'interprétation

Contrôle de qualité

Valeurs théoriques

Limites du test

Performances et caractéristiques du test

Résumé du mode opératoire

Bibliographie

Signification des symboles

Autres tests Biotrin

Objet

Le test HHV-6 IgM IFA de Biotrin est un test qualitatif et semi-quantitatif pour la détection des IgM anti-HerpèsVirus Humain-6 (HHV-6) dans le sérum ou le plasma humain.

Introduction

Le HHV-6, pour la première fois décrit en 1986, fut isolé chez des patients présentant des syndromes lymphoprolifératifs¹. Par la suite, le HHV-6 a été identifié comme agent étiologique de l'exanthème subit du nourrisson (Roséole infantile)², et associé à plusieurs autres maladies chez l'enfant incluant l'hépatite fulminante³, l'encéphalite⁴, la lymphadénite nécrosante histiocytaire⁵ et l'infection disséminée fatale⁶.

Chez l'adulte, la primo-infection à HHV-6 est plus rare, avec des études montrant que le HHV-6 peut-être impliqué dans des cas d'hépatite⁷, de syndrome paramononucléosique⁸, de lymphoprolifération polyclonale atypique⁹, de syndrome de fatigue chronique post-virale¹⁰, de sclérose en plaques¹¹, de carcinome oral¹², de carcinome cervical¹³ et d'aplasie médullaire chez les patients greffés¹⁴.

Les tests virologiques et sérologiques spécifiques montrent que le HHV-6 est omniprésent chez l'Homme, avec une infection apparaissant pendant la petite enfance, laissant quelques adultes encore sensibles à une primo-infection. La séro-prévalence est signalée supérieure à 80% chez les patients âgés de plus de 2 ans¹⁵. Cependant, bien que la séro-prévalence du HHV-6 soit élevée, le taux d'anticorps évolue vers des titres faibles après l'infection. La détection des IgM anti-HHV-6 chez l'Homme peut servir d'indicateur d'une primo-infection par le HHV-6.

Principe du dosage

Le test HHV-6 IgM IFA de Biotrin utilise la méthode d'immunofluorescence indirecte de détection et de détermination du titre d'anticorps. Le sérum ou plasma du patient est incubé avec les antigènes HHV-6 immobilisés, fixés sur une lame en verre. Lorsque les IgM spécifiques anti HHV-6 sont présentes dans le sérum, elles forment un complexe stable en se fixant à l'antigène HHV-6. Des IgM anti-humaines de chèvre conjuguées à la fluorescéine sont ajoutées et se fixent au complexe formé. Ce complexe est visualisé à l'aide d'un microscope à fluorescence. Une réaction positive se manifeste par une fluorescence vert brillant.

Précautions d'emploi**Sécurité**

- Pour usage diagnostique *in-vitro* seulement.
- Ce coffret doit être uniquement utilisé par un personnel de laboratoire qualifié.
- Le coffret contient des produits d'origine humaine considérés comme MATÉRIEL BIOLOGIQUE POTENTIELLEMENT DANGEREUX. Les réactifs marqués ** (contrôle négatif et contrôle positif) ont été testés et trouvés négatifs pour l'antigène HBs, les anticorps VIH 1 et 2, HTLV I et II et le HCV. Toutefois, comme aucun test ne peut certifier l'absence d'agents infectieux, tous ces réactifs doivent être considérés comme potentiellement infectieux.
- Certains réactifs contiennent du Thiomersal qui peut être toxique par ingestion.
- Éviter le contact avec le Bleu Evans qui est potentiellement cancérigène. En cas de contact avec la peau rincer avec de l'eau.
- Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium qui peut former des azides métalliques potentiellement explosifs dans les tuyauteries en plomb ou en cuivre.

HHV-6 IgM IFA, Ref. Cat: V17HHV6, HHV-426-03 07/09, FR

Pour les éliminer, ces réactifs devront être évacués avec de grands volumes d'eau pour éviter l'accumulation d'azide.

- L'élimination des échantillons, produits infectieux ou potentiellement infectieux doit se faire en accord avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire. Tous ces produits doivent être manipulés et éliminés comme des produits potentiellement infectieux.
- Tous les résidus de réactifs, préparations ou produits chimiques, doivent être considérés comme dangereux. Il est indispensable de les éliminer selon les procédures standards de sécurité.
- Porter des vêtements protecteurs, des gants jetables stériles en latex et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et de la réalisation du test. Se laver les mains minutieusement à l'issue du test.
- Ne pas pipeter avec la bouche et ne jamais manger ou boire sur la paillasse de laboratoire.

Procédure

- Ne pas utiliser le kit ou les réactifs lorsque leur date de péremption est dépassée.
- Ne pas mélanger ou remplacer des réactifs provenant de lots différents.
- Ne pas utiliser des échantillons ou des réactifs contaminés.
- Le non-respect du protocole peut conduire à des résultats erronés.
- La réalisation du test sans le respect des températures et des temps indiqués peut conduire à des résultats erronés, dans ce cas le dosage devra impérativement être répété.
- De l'eau distillée ou désionisée de qualité supérieure est nécessaire pour la reconstitution du tampon de lavage. L'utilisation d'eau de mauvaise qualité ou contaminée peut entraîner un bruit de fond à la lecture des résultats. S'assurer que le tampon de lavage soit bien mélangé.
- Attendre que tous les réactifs soient à température ambiante (20-25°C) et bien les mélanger avant utilisation.
- Ne sortir les lames de leur pochette individuelle qu'au moment de les utiliser. Attendre que les lames soient à température ambiante avant d'ouvrir leur pochette de protection pour éviter toute condensation.
- Eviter de laisser les réactifs à la lumière directe du soleil et/ou à des températures dépassant 2-8°C de façon prolongée.
- Lors de la coloration de plusieurs échantillons sur une lame, éviter la contamination croisée entre échantillons en faisant un trait de cire entre les puits.
- L'utilisation d'une quantité excessive de milieu de montage peut donner une fluorescence trouble.
- Toujours utiliser du matériel en verre propre, de préférence à usage unique, pour la préparation de tous les réactifs.
- Eviter toute contamination inter-réactifs et inter-puits et toujours utiliser des embouts de pipette neufs pour chaque échantillon et réactif.
- L'ajout de réactif doit se faire au centre du puits, en prenant soin de ne pas érafler les côtés du puits avec la pipette ou le compte-gouttes.
- Etablir un plan d'identification et de distribution avant de commencer la manipulation.

Composition du coffret

Matériel fourni

1. Lames sensibilisées avec l'antigène HHV-6 :

SLIDE

4 lames de 10 puits contenant des lymphocytes humains infectés par les antigènes HHV-6. Les lames sont prêtes à l'emploi dès ouverture de leur pochette de protection.
2. Contrôle positif**:

CONTROL	+	IgM
----------------	----------	------------

1 x 0,5ml de sérum humain contenant des IgM anti-HHV-6. Contient 0,1% d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Bouchon bleu.
3. Contrôle négatif **:

CONTROL	-	IgM
----------------	----------	------------

1 x 0,5ml de sérum humain ne contenant pas d'IgM anti-HHV-6. Contient 0,1 % d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Bouchon rouge.
4. Conjugué FITC **:

CONJ	ENZ	1X
-------------	------------	-----------

1 x 1,5ml d'IgM anti-humaine (inactivée) de chèvre conjuguée à la fluorescéine, avec du bleu d'Evans et Rhodamine pour la contre-coloration. Contient 0,1 % d'azide de sodium. Prêt à l'emploi. Bouchon jaune.
5. Milieu de montage :

MM

1 x 2ml de tampon Tris avec glycérol. Contient du Thiomersal (0,01 %). Prêt à l'emploi. Bouchon orange.
6. Tampon de lavage concentré (PBS) :

BUF	WASH	CONC
------------	-------------	-------------

1 x sachet en aluminium scellé contenant 10 comprimés de PBS. Chaque comprimé permet d'obtenir 100ml de tampon de lavage 1x.
7. Buvards pour lames :

BLT

4 x buvards absorbants avec des trous prédécoupés permettant de sécher les lames.
8. Notice d'utilisation :



****Matériel biologique potentiellement dangereux.**

Matériel nécessaire non fourni

- Matériel pour prélever le sérum.
- Support de lames et bac de coloration pour laver les lames.
- Eau distillée ou désionisée de qualité supérieure.
- Verrerie de laboratoire propre.
- Tubes à essai ou équivalent pour la préparation des échantillons.
- Eprouvette graduée.
- Pipettes de précision de 5µl à 50µl, de 50µl à 200µl et embouts jetables.
- Chronomètre.
- Incubateur à 35-39°C.
- Papier absorbant.
- Tubes de dilution et de centrifugation (0,5ml).
- Centrifugeuse de paillasse.
- Chambre humide pour incuber les lames.
- Pissettes et bac de lavage.
- Lamelles : 22 x 50mm, en verre d'épaisseur No1.
- Crayon de cire.
- Absorbant d'IgG (disponible à la vente).
- Microscope à fluorescence muni d'une combinaison de filtre pour la fluorescéine (filtre d'excitation à 495nm et filtre absorbant à 515nm). Une source de lumière halogène est recommandée. La fluorescéine a un pic d'excitation à 490nm et un pic d'émission à 520nm. Les différences de réactivités ou d'intensités de fluorescence peuvent être liées au type et condition d'utilisation de l'équipement de fluorescence par le laboratoire.

Conditions de conservation et stabilité

- Le kit est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette de l'emballage extérieur, à condition d'être conservé entre 2 et 8°C. Remarque : les buvards peuvent être conservés entre 2 et 25°C.
- Remettre tous les réactifs à 2-8°C aussitôt après utilisation.
- Le tampon de lavage reconstitué est stable 4 semaines à condition d'être conservé à 2-8°C.

Prélèvement et conservation des échantillons

- Prélever les échantillons suivant des techniques biologiques aseptiques. Les échantillons peuvent être conservés 1 semaine à 2-8°C et à -20°C pendant de plus longues périodes. Eviter les cycles répétitifs de congélation/décongélation.
- Ne pas utiliser d'échantillons excessivement lipémiques sans avoir procédé à une délipidémisation.
- Ne pas utiliser d'échantillons contaminés.

Préparation des réactifs et des échantillons

Préparation des réactifs

Préparer le tampon de lavage en ajoutant 1 comprimé de PBS à 100ml d'eau distillée ou désionisée fraîchement préparée. Conserver dans un récipient propre fermé à 2-8°C pendant 4 semaines maximum.

Tous les autres réactifs sont fournis prêts à l'emploi et à la dilution requise.

Préparation des échantillons

Test qualitatif : tous les échantillons sont traités pour éliminer les IgG. Ajouter 90µl de l'absorbant à 10µl de l'échantillon à tester et bien mélanger. Incuber à température ambiante pendant 15 minutes. Centrifuger à 10 000 rpm pendant 2 minutes à température ambiante. Le surnageant est alors ajouté au puits de la lame.

Test semi-quantitatif : le "titre" de l'échantillon peut être déterminé en réalisant une dilution en cascade dans le tampon de lavage, en partant de l'échantillon dilué au 1/20^{ième} dans l'absorbant. Réaliser des dilutions successives en ajoutant un volume égal de tampon de lavage et d'échantillon dilué, jusqu'à obtention d'un degré de fluorescence de "1+" (cf. Interprétation des résultats).

Mode opératoire

Attendre que tous les réactifs soient à température ambiante (20-25°C) avant de les utiliser.

1. Préparation de la lame
Sortir le nombre de lames nécessaires de la pochette de protection et faire une marque au crayon de cire entre les puits pour éviter toute contamination. Distribuer 1 goutte (approximativement 20µl) de chaque échantillon dilué et 1 goutte (approximativement 20µl) des contrôles positif et négatif prêts à l'emploi dans des puits numérotés.

Remarque : ajouter suffisamment de volume pour recouvrir complètement chaque puits, mais éviter le mélange croisé du contenu entre puits.

2. Incubation des échantillons
Incuber les lames dans une chambre humide pendant 3 Heures à 35-39°C.
3. Lavage de la lame
A l'aide d'une pissette, rincer les lames le long du bord sous un débit léger de tampon de lavage. Ne pas diriger le jet directement sur les puits. Placer les lames dans une cuvette de rinçage contenant du tampon de lavage pendant 10 minutes à température ambiante (20-25°C), en changeant le tampon de lavage après 5 minutes. Absorber l'excédent avec les buvards fournis dans le kit.
4. Incubation avec le conjugué
Ajouter une goutte (approximativement 20µl) du conjugué prêt à l'emploi dans chaque puits test. Incuber les lames dans une chambre humide pendant 30 minutes à 35-39°C.
5. Lavage de la lame
Répéter l'Etape 3.
6. Application du milieu de montage
Distribuer une petite goutte de milieu de montage au centre de chaque puits et recouvrir d'une lamelle.
7. Examen de la lame
Examiner sous un microscope à fluorescence avec un grossissement de 200-500x. Pour des résultats optimaux, examiner les lames immédiatement après

HHV-6 IgM IFA, Ref. Cat: V17HHV6, HHV-426-03 07/09, FR

avoir terminé le test. (En cas de lecture postérieure et afin d'obtenir des résultats équivalents, sceller les lames ou les garder humidifiées pour minimiser la déshydratation du milieu de montage. Conserver dans l'obscurité à 2-8°C. Lire le résultat dans les 3 jours).

8. Détermination de l'intensité de réaction

Une réaction positive peut donner une fluorescence plus ou moins intense allant de "brillante" à "faible". Mesurer l'intensité de la fluorescence en fonction de l'échelle suivante : 4+ (très brillant), 3+ (brillant), 2+ (modéré), 1+ (faible).

Interprétation des résultats

Réaction négative

Un échantillon est considéré HHV-6 négatif en IgM en l'absence de fluorescence des cellules infectées.

Réaction positive

La présence d'anticorps IgM anti-HHV-6 est révélée par une fluorescence vert brillant des cellules infectées à une dilution $\geq 1/20^{\text{ième}}$. Une réaction positive indique une primo-infection par le virus HHV-6.

4+ = fluorescence verte très brillante indiquant un taux très élevé d'IgM anti-HHV-6.

3+ = fluorescence vert brillant indiquant un taux élevé d'IgM anti-HHV-6.

2+ = fluorescence vert modéré indiquant un taux moyen d'IgM anti-HHV-6.

1+ = fluorescence vert faible indiquant un taux faible d'IgM anti-HHV-6. Cela indique aussi la dilution de fin de réaction ou le "titre" de l'échantillon.

- Le titre des échantillons HHV-6 positifs en IgM apporte des informations quantitatives. Dans une série, la dilution de sérum la plus élevée démontrant une réaction "1+" est interprétée comme le titre par détermination en point final.
- Pour fournir un contrôle interne, chaque puits de la lame de microscope contient à la fois des cellules infectées et non infectées par le HHV-6. Une telle préparation de la lame est voulue. Les cellules non infectées, colorées en rouge par la contre-coloration, fournissent un contraste en arrière-plan.
- Le degré de fluorescence des cellules infectées par le HHV-6 peut varier. En fonction du stade de l'infection, le degré de fluorescence peut aussi varier d'une faible proportion de cellules infectées fluorescentes à la totalité des cellules fluorescentes. La fluorescence peut aussi être présente en quelques points ou de façon homogène sur la lame.

Signification de l'interprétation

Aucune fluorescence perceptible des cellules infectées n'est observée à la dilution de détection.	L'échantillon testé est négatif en IgM anti-HHV-6.
Observation d'une fluorescence positive spécifique des cellules infectées à la dilution de dépistage ou à de plus grandes dilutions.	L'échantillon testé est positif en IgM anti-HHV-6 indiquant une infection en cours.
Fluorescence observée dans les cellules infectées et les cellules non infectées.	L'échantillon testé montre une réaction non spécifique.

Contrôle de qualité

Chaque test doit inclure le contrôle positif et le contrôle négatif. Les résultats d'un test sont considérés comme valides si les critères suivants sont satisfaits :

- 1) Le contrôle positif d'IgM anti-HHV-6 fourni avec ce kit donne une fluorescence d'une intensité \geq à 2+.
- 2) Le contrôle négatif d'IgM anti-HHV-6 fourni avec ce kit ne donne aucune fluorescence visible.

Si les critères ci-dessus ne sont pas satisfaits, le test est considéré comme non valide et doit être répété.

Valeurs théoriques

La prévalence des anticorps HHV-6 est supérieure à 80 % chez les patients âgés de plus de 2 ans. Bien que la prévalence soit élevée, le titre des anticorps HHV-6 diminue pour atteindre un taux faible après l'infection. Un titre élevé des IgM suggère donc une primo-infection.

Limites du test

- Un test sérologique comme l'IFA aide à détecter une infection virale, mais son utilisation ne doit pas constituer le seul critère. Les résultats du test doivent être confrontés aux données cliniques et épidémiologiques du patient et aux résultats des autres tests biologiques.
- Une réaction positive non-spécifique peut se produire avec des anticorps antinucléaires et/ou anticytoplasmiques dans les échantillons de patients atteints de maladies auto-immunes. Dans ce cas, les cellules infectées et non-infectées peuvent donner une fluorescence masquant une réaction positive. La mise en évidence d'une réaction auto-immune n'élimine donc pas l'hypothèse d'une infection à HHV-6.
- Un échantillon prélevé trop tôt durant l'infection peut ne pas contenir un taux d'IgM détectable. Si l'infection virale est suspectée, un second échantillon devra être prélevé 7 à 14 jours après. Le second échantillon devra être testé simultanément avec le premier pour mettre en évidence une séroconversion ou une augmentation significative du titre des IgM et IgG spécifique du virus. Une séroconversion ou augmentation significative du titre indique une primo-infection.
- La possibilité d'une contamination du cordon ombilical par les IgM maternelles rend prudente la confirmation d'un résultat positif en IgM par l'étude d'un échantillon de préférence prélevé sur l'enfant dans les 5 premiers jours de la vie.
- Les anticorps IgM spécifiques sont habituellement détectés chez les patients lors

HHV-6 IgM IFA, Ref. Cat: V17HHV6, HHV-426-03 07/09, FR

d'une primo-infection récente. Les anticorps IgM peuvent être trouvés lors d'une infection réactivée ou d'une ré-infection.

- Biotrin recommande un pré-traitement des échantillons pour éliminer les anticorps IgG. Cette étape supplémentaire permet l'élimination des faux négatifs et des faux positifs. Lorsque les IgG entrent en compétition avec les IgM sur les sites spécifiques de fixation, les IgG peuvent provoquer une réaction faussement négative. Les anticorps IgG peuvent provoquer une réaction faussement positive quand ces anticorps forment un complexe immun avec le substrat antigénique pouvant alors se lier au facteur rhumatoïde (IgM classe),

Performances et caractéristiques du test

Sensibilité et spécificité

Sensibilité diagnostique

9 échantillons positifs en IgM HHV-6 ont été testés en utilisant le test Biotrin HHV-6 IgM IFA. Les 9 échantillons ont été trouvés positifs indiquant une sensibilité de 100%.

% de sensibilité = Vrais positifs / (Vrais positifs + Faux négatifs) x 100 %

% de sensibilité = 9/(9 + 0)

% de sensibilité = 100%

Spécificité diagnostique

77 échantillons de donneurs sains ont été testés avec le test Biotrin HHV-6 IgM IFA. 76 ont été trouvés négatifs en anticorps IgM HHV-6.

Une sensibilité de 99 % a été obtenue en utilisant l'équation suivante :

% de spécificité = Vrais négatifs / (Vrais négatifs + Faux positifs) x 100 %

% de spécificité = 76/(76 + 1)

% de spécificité = 99%

Réaction croisée

Afin d'établir la spécificité du test HHV-6 IgM IFA de Biotrin, 17 échantillons de sérum ont été analysés. Le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus sur les échantillons de sérums prélevés chez des patients ayant les maladies suivantes :

<u>Virus</u>	Nombre de positifs avec le test 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

Tableau 1: Réactions croisées potentielles ne réagissant pas avec les anticorps IgM HHV-6.

Interférences (Spécificité analytique)

Les études d'interférence ont inclus des tests pour l'hémolyse, les lipides, la bilirubine et le facteur rhumatoïde. Une contre-coloration rouge brique a été remarquée dans toutes les lames colorées et l'interprétation de l'intensité de la fluorescence n'a pas été altérée.

Reproductibilité

Intra essai

Un échantillon positif a été testé 15 fois sur deux lots différents. Cf. Tableau 2

Contrôles	Lot 1	Lot 2
PC	2+	2+
NC	0	0
PBS	0	0
Echantillon positif	Lot 1	Lot 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+

Tableau 2: Un échantillon testé 15 fois sur 2 lots.

Inter essai

Un panel d'échantillon a été testé 10 fois sur 2 lots différents. Cf. Tableau 3
Lot 1

Echantillons	Spec	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7	Test 8	Test 9	Test 10
CP	2+-4+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
CN	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Positif	≥1+	2+	1+	1+/2+	1+/2+	2+	2+	2+	2+	1+/2+	2+
Positif	≥1+	2+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	1+/2+	2+
Négatif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Négatif	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+

Lot 2

Echantillons	Spec	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 6	Test 7	Test 8	Test 9	Test 10
CP	2+-4+	2+	2+	2+	2+	2+	2+/3+	2+	2+	2+	2+
CN	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Positif	≥1+	2+	2+	2+	1+2+	1+/2+	2+	2+	2+	2+	2+
Positif	≥1+	2+	1+/2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
Négatif	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Négatif	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+

Tableau 3: Résultats d'un panel d'échantillons testé 10 fois sur 2 lots différents

Résumé du mode opératoire HHV- 6 IgM IFA

**Note importante : Bien lire toute la notice du produit avant de commencer le test.
Ce résumé n'est donné qu'à titre de référence rapide.**

Test qualitatif : diluer l'échantillon du patient au 1/10^{ième} dans l'absorbant d'IgG

Test semi-quantitatif : commencer avec une dilution au 1/20^{ième} de l'échantillon dans l'absorbant d'IgG, puis réaliser une dilution en cascade en ajoutant des volumes égaux d'échantillon dilué et de tampon de lavage pour chaque dilution consécutive.



Ajouter 1 goutte (~20µl) de contrôle positif dans le puits N°1 de la lame
Ajouter 1 goutte (~20µl) de contrôle négatif dans le puits N°2 de la lame
Ajouter 1 goutte (~20µl) d'échantillon dilué dans les puits suivants (un échantillon par puits)



Incuber la lame à 35-39°C pendant 3 heures



Laver la lame avec le tampon de Lavage



Ajouter 1 goutte (~20µl) de conjugué dans chaque puits



Incuber la lame à 35-39°C pendant 30 minutes



Laver la lame avec le tampon de Lavage



Ajouter une petite goutte (~10µl) de milieu de montage dans chaque puits et ajouter la lamelle











Examiner la lame sous un microscope à fluorescence

Bibliographie

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.

Signification des symboles

Matériel médical pour le diagnostic <i>in-vitro</i>	
Référence du Lot	
Référence Cat.	
Limites de température	
Utiliser avant	
Fabricant	
Nocif si avalé. Le contact avec des acides libère des gaz très toxiques	
Notice d'utilisation	

Autres tests Biotrin :

Biotrin International offre une gamme unique de tests pour les Virus de l'Herpès Humain adaptés pour le diagnostic de laboratoire de routine.

Cat #:	Description	Assay Format
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
www.biotrin.com



Si vous souhaitez obtenir de plus amples informations sur ce produit ou sur tout autre produit de Biotrin, rendez-vous sur notre site Web

www.biotrin.com