

HHV-8 IgG EIA, Réf: V19HHV8, HHV-428-03 07/09, FR



FRANÇAIS

Référence : V19HHV8
Conditionnement: 96 well plates
Puit: HHV-428-03



Virus de l'herpès humain de type-8 IgG EIA

Test immuno-enzymatique pour la détection qualitative des IgG dirigés contre le virus de l'herpès humain de type 8 dans le sérum ou le plasma humain



Table des matières

Objet

Introduction

Principe du test

Precautions

Sécurité

Procédure

Composition du coffret

Matériel fourni

Matériel nécessaire non fourni

Conditions de conservation et stabilité

Prélèvement et conservation des échantillons

Préparation des échantillons et des réactifs

Mode opératoire

Interprétation des résultats

Contrôle de qualité

Limites du test

Valeurs attendues

Performances et caractéristiques du test

Résumé du mode opératoire du test HHV-8 IgG EIA

Bibliographie

Signification des symboles

Autres produits Biotrin

Objet

Le test immuno-enzymatique pour la recherche des IgG bi-peptidiques dirigés contre le Virus de l'herpès humain de type 8 (HHV-8) est conçu pour la détermination qualitative des anticorps IgG anti-antigènes lytiques du HHV-8 dans le sérum ou le plasma humain. La détection des IgG anti-HHV-8 chez l'homme peut servir à diagnostiquer une infection primaire ou une réactivation/réinfection par ce virus, ou mettre en évidence une infection ancienne.

Introduction

Le HHV-8, est connu aussi sous le nom de Virus de l'herpès humain associé au sarcome de Kaposi (SKHV). Le virus fait partie de la classe gamma des virus de l'herpès (genre rhadinovirus) et il ressemble à l'EBV quant à son tropisme pour les lymphocytes B et à son aptitude à exister à l'état latent. Il y a maintenant une très forte évidence épidémiologique de l'implication de HHV-8 dans la pathogénie du Sarcome de Kaposi (SK)⁽¹⁾. Le HHV-8 est détectable dans toutes les formes de la maladie : le SK classique (une malignité rare se manifestant chez les hommes âgés d'origine méditerranéenne et d'Europe de l'Est), le SK endémique africain, le SK associé aux transplantations et le SK associé au SIDA. Chez les patients séropositifs, il a été montré que les anticorps anti-HHV-8 précèdent et prédisent le développement du SK⁽²⁾

La transmission par contact sexuel joue un rôle important dans la propagation du HHV-8 parmi les homosexuels⁽³⁾. La séroprévalence du HHV-8 parmi les donneurs de sang se situe entre 5 et 10 % aux Etats-Unis et en Europe du Nord⁽⁴⁾, entre 10 et 35% en Italie et dans les pays méditerranéens⁽⁵⁾, et elle atteint plus de 50% dans de nombreuses populations africaines⁽⁶⁾.

Le HHV-8 a aussi été associé aux lymphomes des cavités du corps (PEL), la maladie multicentrique de Castleman (MCD), le lymphome non-hodgkinien et le myélome multiple⁽⁷⁾.

A présent, le diagnostic d'infection à HHV-8 peut être confirmé par PCR et par des tests immunologiques tels l'IFA et l'ELISA. Cependant, on ne peut détecter l'ADN du HHV-8 dans les globules du sang périphérique que chez environ la moitié des personnes infectées en utilisant les Tests PCR standard⁽⁹⁻¹²⁾. Alors que les systèmes de détection PCR semblent se montrer peu sensibles quand on utilise l'ADN de globules du sang périphérique comme matrice, les tests sérologiques se sont avérés plus utiles pour les études épidémiologiques et le diagnostic de l'infection à HHV-8, en particulier lorsqu'on cherche à savoir si le patient a déjà été exposé au virus^(8,9).

Le kit HHV-8 IgG EIA de Biotrin est basé sur un mélange de peptides de synthèse permettant ainsi de détecter les anticorps dirigés contre les protéines virales lytiques du HHV-8

Principe du test

Le kit HHV-8 IgG EIA de Biotrin est un test ELISA direct basé sur la liaison entre les anticorps spécifiques du HHV-8 et les antigènes peptidiques lytiques fixés sur la plaque de microtitration. Les anticorps spécifiquement liés sont détectés par un conjugué d'IgG anti-humain marqué à la peroxydase et par la révélation du substrat qui s'en suit. L'utilisation d'épitopes de peptides lytiques dérivés de différentes

protéines virales garantit à la fois une haute sensibilité et une haute spécificité. Il n'y a pas de réactions croisées détectables avec VIH.

Precautions

Sécurité

- Pour usage diagnostique *in-vitro* seulement.
- Ce coffret doit être uniquement utilisé par le personnel de laboratoire qualifié.
- Les réactifs marqués ** sont considérés comme MATERIEL POTENTIELLEMENT INFECTIEUX. Tous les échantillons de donneurs utilisés dans la préparation du contrôle positif, de la solution d'étalonnage (cut-off) et du contrôle négatif ont été testés négatifs pour les Ag HBs et les anticorps anti-VIH et VHC selon des techniques approuvées par la FDA. Cependant, comme aucune méthode ne garantit l'absence totale d'agents infectieux, tous ces réactifs et tous les échantillons de patients doivent être manipulés selon les procédures standard de sécurité.
- Certains réactifs contiennent du Thiomersal qui peut être toxique par ingestion.
- Certains réactifs contiennent du Kathon™ CG qui peut être corrosif. La solution d'arrêt contient de l'acide sulfurique, qui est aussi corrosif. Eviter le contact avec la peau et les yeux, lors d'un contact, laver immédiatement à grande eau et consulter un médecin.
- Le substrat contient du TMB qui peut irriter la peau et les muqueuses. Tout contact du substrat avec la peau entraîne un lavage à grande eau.
- 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 respecter les temps et températures recommandés peut aboutir à de faux résultats. Les tests n'entrant pas dans les temps et températures définies doivent être répétés.
- Ne pas utiliser le kit ou les réactifs après la date de péremption.
- Ne pas utiliser des échantillons ou des réactifs contaminés.
- Ne pas mélanger ou remplacer des réactifs provenant de lots de kits différents.
- Le non-respect du protocole risque de donner des résultats erronés.
- Attendre que tous les réactifs soient à température ambiante (20-25°C) et bien les mélanger avant utilisation.
- Eviter de laisser les réactifs à la lumière directe du soleil et/ou à des températures dépassant 2-8°C de façon prolongée.
- De l'eau distillée ou désionisée de bonne qualité est nécessaire pour obtenir un bon tampon de lavage.

- Toujours utiliser du matériel en verre propre, de préférence à usage unique, pour la préparation de tous les réactifs.
- Prendre soin de ne pas contaminer les échantillons et réactifs et toujours utiliser un nouvel embout de pipette stérile pour chaque échantillon et réactif.
- Prendre seulement le volume de conjugué nécessaire pour le test. Ne pas verser les réactifs non utilisés dans les flacons ou pipeter directement dans le flacon (risque de contamination).
- La distribution des réactifs doit se faire à mi-puits en prenant garde de ne pas érafler la paroi avec l'embout stérile.
- Ne pas laisser les puits sécher pendant la manipulation.
- Maintenir la surface de la plaque de microtitration sèche. En présence de gouttelettes en fin de procédure, assécher la surface avec précaution en tapotant sur un papier absorbant.
- S'assurer que le dessous de la plaque de microtitration est propre et sèche avant lecture.
- Un schéma de distribution et d'identification doit être établi avant de commencer le test.
- Ne pas chauffer le sérum.
- Ne pas sortir la plaque de microtitration de son emballage avant utilisation.

Composition du coffret

Matériel fourni

1. Plaque de Microtitration

PLA	IgG
------------	------------

12 x 8puits "coatés" avec les peptides lytiques de HHV-8 biotinylés.

2. Contrôle positif** (bouchon rouge)

CONTROL	+	IgG
----------------	----------	------------

1 x 2ml de sérum ou plasma humain positif prédilué dans un tampon stabilisateur (contient 0,01% d'azide de sodium, 0,01% thiomersal).

3. Contrôle négatif** (bouchon vert)

CONTROL	-	IgG
----------------	----------	------------

1 x 2ml de sérum ou plasma humain négatif prédilué dans un tampon stabilisateur (contient 0,01% d'azide de sodium, 0,067% Kathon™ CG).

4. Cut off Calibrateur (Bouchon marron)

CAL

1 x 2ml de sérum ou plasma humain faiblement positif prédilué dans un tampon stabilisateur (contient 0,01% d'azide de sodium, 0,067% Kathon™ CG).

5. Diluant pour conjugué enzymatique

CONJ	ENZ	DIL
-------------	------------	------------

1 x 17ml de diluant pour conjugué enzymatique (contient 0,01% de sulfate de gentamicine, 0,01% thiomersal).

6. Conjugué enzymatique concentré

CONJ	ENZ	10x
------	-----	-----

1 x 1,7ml de conjugué enzymatique concentré (contient 0,01% de sulfate de gentamicine, 0,01% thiomersal).

7. Diluant pour échantillons (Réactif pourpre)

DIL	SPE	1X
-----	-----	----

1 x 110ml de tampon PBS contenant des stabilisateurs et du Kathon™ CG (0.067%).

8. Solution de lavage concentrée

BUF	WASH	25X
-----	------	-----

1 x 55ml de tampon concentré TRIS (25x) avec du Tween 20 (2,75%) et du Kathon™ CG (0.067%).

9. Substrat

SUBS	TMB
------	-----

1 x 17ml de TMB (tétraméthylbenzidine).

10. Solution d'arrêt.

SOLN	STP
------	-----

1 x 17ml de 0.5M H₂SO₄

11. Notice d'utilisation



****Matériel potentiellement infectieux**

Kathon™ CG est une marque déposée de la société Rohm and Haas

Matériel nécessaire non fourni

- Matériel de prélèvement.
- Eau distillée ou désionisée de haute qualité.
- Verrerie de laboratoire propre.
- Tubes à essai ou équivalent pour la préparation des échantillons.
- Eprouvette graduée.
- Pipettes calibrées, micro- pipettes et embouts jetables de 10µl, 100µl, 1ml et 5ml.
- Couvercle plastique ou adhésif pour la couverture des plaques de microtitration.
- Minuteur.
- Système de lavage manuel ou automatique.
- Etuve (35-39°C).
- Tissus ou papier absorbant.
- Lecteur de plaque ELISA avec filtre à 450nm (option : filtre à 630-650nm).

Conditions de conservation et stabilité

- Le kit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret à condition d'être conservé à 2-8°C.
- Les barrettes de 8 cupules doivent être conservées avec le sachet dessicant dans la pochette qui peut être refermée.
- Tous les composants, réactifs doivent être remis à 2-8°C immédiatement après utilisation.
- La solution de lavage reconstituée est stable 1 mois à 2-8°C.

Prélèvement et conservation des échantillons

Le sérum ou le plasma peuvent être utilisés pour le test HHV-8 IgG EIA de Biotrin. Après prélèvement, laisser le sang coaguler à température ambiante puis centrifuger à 1500 x g pendant 10 minutes. Si le test n'est pas réalisé dans les 8 heures, le sérum ou plasma peut être conservé à 2-8°C pendant 2 à 3 jours ou congelé à -20°C pour le transport ou une conservation prolongée (à -20°C, l'échantillon est stable au moins 1 an). Les échantillons de plasma citraté peuvent être utilisés. Ne pas utiliser des échantillons présentant une contamination microbienne. Les échantillons à tester ne doivent pas subir des cycles répétés de congélation/décongélation.

N.B: Il est recommandé de ne pas utiliser des échantillons inactivés.

Préparation des échantillons et des réactifs

Préparation des réactifs

- Les volumes de réactifs sont définis pour 1 test.
- Solution de lavage
Pour chaque barrette de 8 puits, ajouter 4ml de solution de lavage concentrée à 96 ml d'eau désionisée. Ainsi préparé le réactif est stable pendant 1 mois à 2-8°C.
- Conjugué enzymatique
Pour chaque barrette de 8 puits, ajouter 100µl de conjugué enzymatique à 900µl de diluant pour conjugué enzymatique. La solution ainsi préparée ne doit pas être conservée.

Tous les autres réactifs sont fournis prêt à l'emploi et à la dilution de travail.

Préparation de l'échantillon

Pour chaque échantillon, distribuer 1ml de diluant pour échantillon dans un tube à essai ou équivalent préalablement identifié. Ajouter 10µl de l'échantillon de sérum ou de plasma, puis mélanger.

N.B : Les échantillons dilués ne doivent pas être conservés, si le test doit être répété, un nouvel échantillon doit être préparé.

Mode opératoire

1. Laisser les composants atteindre la température ambiante (20-25°C) avant utilisation.
2. Définir le nombre de puits nécessaires. Etablir un plan de distribution et d'identification pour les contrôles et les échantillons comme indiqué Fig.1 (Ci-dessous). La première barrette permet de tester 2 échantillons, chaque barrette supplémentaire permet de tester 8 échantillons.

Figure 1 Strip 1

A		Contrôle Négatif
B		Contrôle Négatif
C		Calibrateur de Cut-off
D		Calibrateur de Cut-off
E		Contrôle Positif
F		Contrôle Positif
G		Patient No. 1
H		Patient No. 2

3. Prendre le nombre de barrettes nécessaires, les placer dans le support puis les recouvrir d'un couvercle / adhésif. Remettre les barrettes restantes dans le sachet avec le dessicant puis le refermer.
4. Préparer la solution de lavage (voir "Préparation des réactifs et des échantillons")
5. Préparer l'échantillon (voir "Préparation des réactifs et des échantillons").
6. Découvrir les puits et pipeter 100µl du contrôle négatif prêt à l'emploi, cut-off calibrateur, contrôle positif, réaliser l'opération en double. Pipeter 100µl, de l'échantillon préparé dans chaque puits.
7. Recouvrir les puits avec le couvercle / adhésif et incuber 30 minutes à 35-39°C.
8. Enlever le couvercle et laver chaque puits 4 fois avec la solution de lavage (250-300µl). Après lavage, bien sécher la plaque en tapotant celle-ci sur du papier absorbant.
9. Préparer le conjugué enzymatique (voir "Préparation des réactifs et des échantillons").
10. Ajouter 100µl du conjugué enzymatique ainsi préparé dans tous les puits immédiatement après l'étape de lavage.
11. Recouvrir les puits avec le couvercle plastique / adhésif et incuber 30 minutes à 35-39°C.
12. Enlever le couvercle et laver chaque puits 4 fois avec la solution de lavage (250-300µl). Après lavage, bien sécher la plaque en tapotant celle-ci sur un papier absorbant.

13. Ajouter 100µl de substrat TMB dans tous les puits immédiatement après l'étape de lavage.
14. Recouvrir les puits avec le couvercle plastique / adhésif et incubé pendant exactement 30 minutes à 35-39°C.
15. Ajouter 100µl de solution d'arrêt dans tous les puits et mélanger. S'assurer que chaque ajout est dans la même séquence et intervalle de temps que l'ajout du substrat.
16. Lire immédiatement avec un lecteur ELISA.

N.B. : Une lecture à 2 longueurs d'ondes est recommandée à 450nm avec 630nm comme référence. Si cette fonction n'est pas disponible sur le lecteur de plaque, faire une seule lecture à 450nm.

Interprétation des résultats

La présence ou l'absence d'anticorps HHV-8 est déterminée en relation avec le Cut off Calibrateur (COC).

Valeur du cut-off calibrateur

- 1) Déterminer la valeur du COC en testant le COC en double dans chaque série.
- 2) Déterminer la valeur de la DO moyenne, cette valeur est la valeur du COC et doit être utilisée pour déterminer les valeurs de l'index.
- 3) Une valeur d'index est calculée en divisant la valeur de l'absorbance de l'échantillon / par la valeur de l'absorbance du COC.

Interprétation (1) : Absorbance

Les échantillons avec une absorbance supérieure au COC x 1,2 sont considérés IgG anti-HHV-8 réactif (positif).

Les échantillons avec une absorbance inférieure au COC x 0,8 sont considérés IgG anti-HHV-8 non-réactif (négatif).

Les échantillons avec une absorbance supérieure ou égale au COC x 0,8 ou inférieure ou égale au COC x 1,2 sont équivoques.

Interprétation (2) : Valeur de l'index

La comparaison des données entre différents tests est facilitée par l'utilisation de la valeur d'index selon laquelle l'absorbance de l'échantillon est exprimée en fonction du COC du test. Dans ce cas, une valeur d'index <0,8 ou >1,2 indique que l'échantillon est respectivement négatif ou positif. Un résultat est considéré équivoque si la valeur de l'index est incluse entre 0,8 et 1,2.

$$\text{Index} = \frac{\text{Contrôle} / \text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance moyenne du Cut-off calibrateur (COC)}}$$

Les échantillons étant ni réactifs (positives) ni non-réactifs (négatifs) sont considérés équivoques et doivent être testés à nouveau. Si le test est de nouveau équivoque, un deuxième échantillon doit être prélevé 7-14 jours après. Un résultat équivoque avec le deuxième échantillon peut être considéré non-réactif (négatif) pour les IgG anti-

HHV-8, néanmoins, si une infection récente est suspectée, elle peut être confirmée en utilisant une méthode alternative.

Contrôle de qualité

Les contrôles positif et négatif doivent toujours être inclus pour déterminer la validité des résultats. Les résultats d'un test sont considérés valides lorsque les critères suivant sont rencontrés.

1. L'index moyen du contrôle positif est supérieur ou égal à 1,2.
2. L'index moyen du contrôle négatif est inférieur à 0,8.

Si ces critères ne sont pas respectés, le test est considéré comme invalide et doit être répété.

Limites du test

- Les résultats doivent être corrélés avec le profil clinique et épidémiologique du patient et aux autres résultats biologiques pour établir le diagnostic d'une infection à HHV-8.
- Un résultat non-réactif (négatif) n'exclut pas la possibilité d'une infection à HHV8. Le développement d'une réponse immunitaire détectable peut apparaître quelques jours après l'infection. Dans le cas d'une suspicion d'infection à HHV8, un résultat négatif doit être contrôlé par un nouveau test 2 semaines plus tard.
- Les données sont insuffisantes pour confirmer l'interprétation de tests réalisés sur d'autres liquides biologiques ou des pools de sérum/plasma.
- La performance du test peut être affectée par des écarts de procédure, d'interprétation ou de recommandations.
- La performance du test a été validée sur la base d'un double test des contrôles et d'un test unique des échantillons.

Valeurs attendues

Séroprévalence

La prévalence d'une maladie est généralement définie après une large étude des taux d'anticorps quelle que soit la population, en fonction de l'âge, du sexe, de la localisation géographique et du statut socio-économique. La séroprévalence du HHV-8 parmi les donneurs varie entre 5 et 10 % aux Etats-Unis et en Europe du Nord ⁽⁴⁾, 10 et 35 % en Italie et dans les pays méditerranéens ⁽⁵⁾, et atteint plus de 50 % dans de nombreuses populations africaines ⁽⁶⁾.

Performances et caractéristiques du test

Sensibilité et spécificité

Un panel de 166 échantillons a été testé pour déterminer la sensibilité du test HHV-8 IgG. Les échantillons testés ont été caractérisés par les symptômes cliniques associés à l'infection à HHV-8 et au Sarcome de Kaposi. Certains de ces échantillons ont aussi été testés par IFA (test HHV-8 IgG IFA) et se sont avérés positifs. Un panel de 114 échantillons a été testé pour définir la spécificité du test

HHV-8 IgG EIA. 114 de ces échantillons étaient des sérums normaux. Tous les échantillons ont été caractérisés négatifs en utilisant différents dosages des IgG anti-HHV-8 disponibles sur le marché.

HHV-8 Statut	Positif	Négative	Equivoque	Total
Positif	150	2	14	166
Négatif	3	106	5	114
Total	153	108	19	280

Tableau 1 : La sensibilité et la spécificité ont été réalisées sur un lot, VFB3

Sensibilité : $150/166=90.4\%$

Spécificité : $106/114=93\%$

Corrélation : $256/280=91.4\%$

Sensibilité = Vrai Positifs (VP) divisé par (VP + Faux Négatifs + Equivoques) x 100
 $= (150/166)*100$
 $= 90.4\%$

Spécificité = Vrai Négatifs (VN) divisé par (VN + Faux Positifs + Equivoques) x 100
 $= (106/114)*100$
 $= 93\%$

Reproductibilité intra test

Une série de sérums ayant des taux d'IgG anti-HHV-8 variant de faiblement à fortement réactifs ont été testés 20 fois chacun sur 3 plaques ELISA provenant de 3 lots de contrôle différents. Les résultats des valeurs de DO ont été ajoutés et la DO moyenne, la déviation standard (DS) et le coefficient de variation (%CV) ont été calculés (tableau 2). Ces mêmes résultats sont présentés en terme de valeur d'index dans le tableau 3.

Le pourcentage de CV exprimé en termes de DO (indices) varie de 7,28% pour un échantillon fortement réactif à 8,022% pour un échantillon faiblement réactif .

Specimen	1			2			3		
	DO Moyenne	DS	% CV	DO Moyenne	DS	% CV	DO Moyenne	DS	% CV
SR	1.384	0.101	7.280	1.240	0.036	2.872	1.370	0.049	3.543
WR1	0.292	0.013	1.479	0.461	0.012	2.648	0.556	0.023	4.187
WR2	0.185	0.013	7.000	0.493	0.040	8.022	0.362	0.026	7.246

Tableau 2 : Reproductibilité intra test exprimée en terme de Densité Optique (DO) sur 20 essais de chacun des trois échantillons de sérum ayant un taux d'IgG anti-HHV-8 variant de faiblement réactif à fortement réactif testés sur 3 lots différents.
SR: Fortement réactif, WR: Faiblement réactif

Specimen	1			2			3		
	Indice Moyen	DS	% CV	Indice Moyen	DS	% CV	Indice Moyen	DS	% CV
SR	7.58	0.55	7.28	6.776	0.195	2.872	5.054	0.179	3.543
WR1	1.60	0.07	4.48	2.517	0.067	2.648	2.053	0.086	4.187
WR2	1.01	0.07	7.00	2.695	0.216	8.022	1.335	0.097	7.246

Tableau 3 : Reproductibilité intra test exprimée en terme de valeurs d'index sur 20 essais de chacun des trois échantillons de sérum ayant un taux d'IgG anti-HHV-8 variant de faiblement réactif à fortement réactif testés sur 3 lot différents.
SR: Fortement réactif , WR: Faiblement réactif.

Reproductibilité inter test

Une série d'échantillons de sérums ayant des taux d'IgG anti-HHV-8 variant de non-réactif à fortement réactif a été testée en double, l'opération a été répétée 10 fois par trois techniciens différents. Chaque échantillon a été testé sur une lots de contrôle et les résultats ont été combinés pour déterminer la reproductibilité inter test. Chaque échantillon a donc été testé 10 fois (n=10). Les résultats des valeurs de DO ont été ajoutées et la DO moyenne, la déviation standard (DS) et le coefficient de variation (%CV) ont été calculés (tableau 4). Ces mêmes résultats sont présentés en terme de valeur d'index dans le tableau 5.

Le pourcentage de CV exprimé en termes de DO varie de 7,04% pour un échantillon fortement réactif à 15,84% pour un échantillon faiblement réactif.

Enchantillon	DO Moyenne	DS	%CV	n
SR	1.429	0.101	7.04	10
MR	0.500	0.076	15.27	10
WR	0.319	0.051	15.84	10
UR1	0.058	0.008	13.13	10
UR2	0.061	0.011	18.19	10

Tableau 4 : Reproductibilité inter test exprimée en terme de Densité Optique (DO) sur dix essais réalisés sur 5 différents échantillons de sérum ayant un taux d'IgG anti-HHV8 variant de non-réactif à fortement réactif.
SR : Fortement réactif WR : Faiblement réactif.

Echantillon	Indice Moyen	DS	%CV	n
SR	8.397	0.704	8.38	10
MR	2.934	0.436	14.87	10
WR	1.879	0.323	17.21	10
NR1	0.342	0.046	13.54	10
NR2	0.361	0.064	17.83	10

Tableau 5 : Reproductibilité inter test exprimée en terme d'index pour sept essais réalisés sur six différents échantillons de sérum ayant un taux d'IgG anti-HHV-8 variant de non-réactif à fortement réactif testés en double sur 3 lot différents.
SR : Fortement réactif, WR : Faiblement réactif, NR : Non réactif

Réactions croisées

76 sérums ont été testés afin d'établir la spécificité du test HHV-8 IgG EIA de Biotrin. Tous les échantillons proviennent de patients diagnostiqués pour les maladies suivantes :

Virus	Nombre de Positifs
Lupus Erythematosus	0/5
Rhumatoid Arthritis (RA)	0/3
Rhumatoid Factor (RF)	0/5
Autoimmune	1/7
Lyme IgG	0/4
EBV IgG	2/24
Rubella IgG	0/5
CMV IgG	0/5
VZV IgG	2/5
Hep C	0/2
HIV	0/5
HTLV	0/2
HSV IgG	0/4

Tableau 6 : 76 échantillons présentant une réactivité croisée potentielle ont été testés pour déterminer les liaisons non-spécifiques. Le tableau présente le nombre d'échantillons testés et le nombre de faux positifs.

Résumé du mode opératoire du test HHV- 8 IgG EIA

Lire la totalité de la notice du coffret avant de commencer le test. Ce résumé est un guide rapide seulement.

Préparer le tampon de lavage



Diluer l'échantillon à raison de 1 pour 101 dans le diluant pour échantillon



Pipeter en double 100µl de contrôle négatif (prêt à l'emploi), Cut-Off Calibrateur, contrôle positif dans les puits.



Pipeter en simple 100µl d'échantillon préparé dans les puits



Incuber 30 minutes à 35-39°C



Laver les barrettes 4 fois



Préparer le conjugué enzymatique



Ajouter 100µl de conjugué



Incuber 30 minutes à 35-39°C



Laver les barrettes 4 fois



Ajouter 100µl de Substrat TMB



Incuber 30 minutes à 35-39°C



Ajouter 100µl de solution d'arrêt



Lire à 450 nm, avec référence à 630 nm (si disponible) ou sans

Bibliographie

1. The Role of HHV-8 in Kaposi's Sarcoma. Neipel F and Fleckenstein B. *Semin Cancer Biol.* 1999; 9(3):151-164.
2. Seroconversion to antibodies against Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-related latent nuclear antigens before the development of Kaposi's sarcoma. Gao et al. *N Engl. J of Med* 1996; 335:233-41.
3. Risk factors for Human Herpesvirus 8 seropositivity and seroconversion in a cohort of homosexual men. Dukers et al. *American J of Epidemiology* 2000; 151, 213-24.
4. KSHV antibodies among Americans, Italians and Ugandans with and without Kaposi's sarcoma. Gao SJ et al. *Natl Med* 1996; 2:925-8.
5. Human herpesvirus 8 seroprevalence in blood donors and lymphoma patients from different regions of Italy. Whitby D et al. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:395-7.
6. Antibodies against human herpesvirus 8 in black South African patients with Cancer. Sitas F et al. *N Engl. J of Medicine* 1999; 340:1863-71.
7. Kaposi's sarcoma after renal transplantation. Camille Frances. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2768-2773.
8. The Role of Kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus (KSHV / HHV-8) in lymphoproliferative diseases. Cesarman E, Knowles, D. M. *Cancer Biology* 1999; 9, 165-174.
9. Detection of Human Herpesvirus 8 DNA in kaposi's sarcoma lesions and peripheral blood of human immunodeficiency virus-positive patients and correlation with serological measurements. Smith M.S. et al. *J of Infect Dis* 1997; 176:84-93.
10. Comparison of serological assays and PCR for Diagnosis of Human herpesvirus-8. *Infection.* Spira TJ et al. *J of Clinical Microbiology* 2000; 38 (6): 2174 - 2180.
11. Kaposi's sarcoma. Karen Antman. *Medical Progress* 2000; 342; 14 1027-1037.
12. Chang et al *Science* 265:1865-1869, 1994.

Signification des symboles

Matériel médical pour le diagnostic *in-vitro*

IVD

Référence Lot

LOT

Référence Cat.

REF

Limites de température



Utiliser avant



Fabricant



Nocif si avalé. Le contact avec des acides libère des gaz très toxiques



Notice d'utilisation



Autres produits Biotrin

Biotrin International offre une gamme unique de tests pour les Virus de l'Herpès Humain types 6 et 8 adaptés pour le diagnostic de laboratoire de routine.

Cat # :	Description	Assay Format
V3HHV6	Human Herpesvirus-6 IgG IFA	4 x 10 well slide
V17HHV6	Human Herpesvirus-6 IgM IFA	4 x 10 well slide
V15HHV6	Human Herpesvirus-6 IgG EIA	96 well EIA
V18HHV8	Human Herpesvirus-8 IgG IFA	6 x 10 well slide
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