

**Magyar**

Kat sz.: V19HHV8  
Készletformátum: 96 well plates  
HHV-428-03



## **Humán herpeszvírus-8 IgG EIA**

Egy enzimes immunvizsgálat a humán herpeszvírus-8 IgG antitestek  
kvalitatív kimutatására az emberi vérsavóban és plazmában



## **Tartalomjegyzék**

**Felhasználási terület**

**Bevezetés**

**Vizsgálati elv**

**Óvintézkedések**

**Biztonsági előírások**

**Eljárás**

**A készlet elemei**

**A szállított anyagok**

**Szükséges kiegészítő anyagok**

**Tárolás és állékonyosság**

**Mintavétel és tárolás**

**Reagens és minta előkészítése**

**A vizsgálat menete**

**Az eredmények értékelése**

**Minőségellenőrzési kritériumok**

**A felelősség korlátozása**

**Várt értékek**

**Teljesítmény jellemzők**

**A humán herpeszvírus- 8 IgG EIA eljárás rövid ismertetése**

**Referenciák**

**Jelmagyarázat**

**Kiegészítő Biotrin termékek**

## Felhasználási terület

A humán herpeszvírus-8 (HHV-8) IgG bi-peptid enzim immunvizsgálat az emberi vérsavóban vagy plazmában található IgG antitestek kvalitatív meghatározására lett tervezve a HHV-8 lassan bomló antigének függvényében. A HHV-8 IgG antitestek kimutatása embereknél hozzájárulhat az elsődleges vírusfertőzés vagy reaktiválás/újrafertőzés diagnosztizálásához, vagy bizonyítéka lehet előzetes HHV-8 fertőzésnek.

## Bevezetés

A humán herpeszvírus-8 (HHV-8) Kaposi szarkoma herpeszvírusaként is ismert (KSHV). A vírust a gamma herpeszvírusok (genus rhadinovirus) csoportjába sorolják és hasonlít az EBV-hez a B sejtek iránti tropizmus és a lappangó állapotban történő létezés képessége miatt. Erős járványtani bizonyítékok vannak arra, hogy a HHV-8 okozója a Kaposi szarkóma (KS) kórfejlődésében. A HHV-8 a betegség minden formájában kimutatható: Klasszikus KS (egy ritka rosszindulatú változat, amely idősebb mediterrán éghajlaton élő személyeknél lép fel), az afrikai endemikus KS, átültetéssel kapcsolatos KS és AIDS-el kapcsolatos KS. AIDS pozitív páciensekben a HHV-8 antitestek megelőzik és előrejelzik a KS kialakulását<sup>(2)</sup>.

A homoszexuális férfiak<sup>(3)</sup> közötti HHV-8 fertőzés terjedésében jelentős szerepet játszik a szexuális kapcsolat. A HHV-8 szeroprevalenciája véradók között 5-10% között mozog az Egyesült Államokban és Európában<sup>(4)</sup>, 10-35% Olaszországban és a mediterrán országokban<sup>(5)</sup>, 50% számos afrikai közösségben<sup>(6)</sup>.

A HHV-8 kapcsolatban áll a testüregi nyirokcsomódaganatokkal (PEL), többcentrikus Castleman betegséggel (MCD), nem-Hodgkin nyirokcsomódaganattal és myeloma multiplexszel<sup>(7)</sup>.

Napjainkban, a HHV-8 fertőzés PCR elemzéssel és immunológiai vizsgálatokkal diagnosztizálható, mint az IFA és az ELISA. Ugyanakkor, a HHV-8 DNS perifériás vérsejtekben is kimutatható, de csak a fertőzött személyek felében a standard PCR vizsgálatokat használva<sup>(9-12)</sup>. Mivel a PCR vizsgálati rendszerek alacsony érzékenységi fokot mutatnak perifériás vérsejtből vett DNS használata esetén, a szerológiai vizsgálatok hasznosabbnak bizonyultak járványtani vizsgálatok és a HHV-8 fertőzés diagnosztizálásánál, különösen a vírussal történt előzetes fertőzés kimutatásában<sup>(8,9)</sup>.

A Biotrin HHV-8 IgG EIA készlet szintetikus peptid keveréken alapszik, amely lehetővé teszi az antitestek kimutatását a bomló HHV-8 vírus fehérjékre nézve.

## Vizsgálati elv

A BIOTRIN HHV-8 ELISA egy közvetlen EIA, amely a HHV-8 specifikus antitestek kötődésére alapszik a bomló peptid antigénjeire nézve, amelyeket mikrotiter vizsgálati lemezekhez kapcsolnak. A specifikusan lekötött antitesteket egy anti-humán IgG peroxidáz konjugátummal és egy rákövetkező szubsztrátum reakcióval mutatnak ki. A különböző vírusfehérjékből származó bomló peptid epitópok biztosítják az érzékenységet és a specificitást is. Nincs kimutatható keresztreaktivitás AIDS-el.

## Óvintézkedések

### **Biztonsági előírások**

- Kizárólag *in vitro* diagnosztikai használatra.
- A készlet kizárólag képzett laboratóriumi személyzet által használható.
- A \*\* jelölésű reagensek POTENCIÁLISAN FERTŐZŐ ANYAGOK. A pozitív kontrollminták, kalibráló és negatív kontrollminta előállításához használt donort az FDA által elfogadott módszerekkel tesztelték HBsAg és HIV valamint HCV antitestek szempontjából, és negatívnak nyilvánították őket. Ugyanakkor, mivel egy vizsgálat sem képes teljesen kizárni a fertőző elemek jelenlétének lehetőségét, bánjon ezekkel a reagensekkel és az összes páciens mintával úgy, mint lehetséges fertőző anyagokkal.
- Egyes reagensek Kathon™ CG-t tartalmaznak, amely maró hatású lehet. A leállítóoldat kénsavat tartalmaz, ami ugyancsak maró hatású. Kerülje annak érintkezését a bőrrel és a szemmel. Érintkezés esetén, azonnal mossa le vízzel és forduljon orvoshoz.
- Egyes reagensek Thiomersalt tartalmaznak, amely lenyelés esetén mérgező lehet.
- A szubsztrátum TMB vegyületet tartalmaz, amely a bőrre és a nyálkahártyára nézve irritáló hatású lehet. Bármilyen szubsztrátumot, amely a bőrrel érintkezésbe kerül, vízzel le kell öblíteni.
- Minden klinikai mintát, legyen az fertőzött vagy lehetségesen fertőzött anyag, a megfelelő laboratóriumi előírások szerint dobjon el. Az összes ilyen anyagot úgy kezelje és dobja el, mint lehetséges fertőző anyagot.
- A vegyszereket, a preparátumokat és a készlet elemeit általánosan veszélyes hulladéknak kell tekinteni. Az összes ilyen anyagot úgy kezelje és dobja el, mint lehetséges fertőző anyagot, a megfelelő biztonsági eljárások szerint.
- Viseljen védőruhát, egyszer használatos gumikesztyűt és szemvédőt a minták kezelése és a vizsgálat végrehajtása közben. Befejezés után alaposan mossa meg a kezét.
- Soha ne pipettázza az anyagokat a szája segítségével és ne egyen ill. igyon a laboratóriumi asztalnál.

### **Eljárás**

- A megadott idő és hőmérséklettartományok átlépése a vizsgálat végrehajtásakor hibás eredményekhez vezethet. A megadott idő- és hőmérséklettartományokat átlépő vizsgálatokat meg kell ismételni.
- A lejáratú idő után ne használja a készletet sem a különálló reagenseket.
- Ne használjon szennyezett mintákat vagy reagenseket.
- Ne keverjen vagy helyettesítsen olyan reagenseket, amelyek különböző számú csomagokból származnak.
- A megadott protokolltól való eltérés hibás eredményekhez vezethet.
- Használat előtt hagyja, hogy minden reagens szobahőmérsékletűvé váljon (20-25°C) és keverje jól össze.
- Hosszabb ideig ne hagyja a reagenseket közvetlen napfényben és/vagy 2-8°C fokot meghaladó hőmérsékleten.
- A lemosóoldathoz jó minőségű desztillált vagy deionizált víz szükséges.
- Mindig használjon tiszta, lehetőleg egyszer használatos üvegedényeket a reagensek előkészítésekor.
- Ügyeljen, hogy ne szennyezze be a komponenseket és mindig használjon friss pipetta hegyeket minden egyes minta és komponens esetén.

- Csak a vizsgálathoz szükséges mennyiségű konjugátumot vegye ki. Ne töltsön vissza az el nem használt reagenseket azok tárolóüvegébe és ne pipettázzon közvetlenül az üvegből. Ezzel ugyanis szennyezés léphet fel.
- A reagens betöltésekor a pipettát irányítsa a cella oldalának, annak a középső szintjénél ügyelve, hogy a pipetta hegyével ne karcolja meg a cella oldalát.
- A vizsgálat során soha ne hagyja a cellákat kiszáradni.
- A cellák felső felületét mindig tartsa cseppmentesen. Az eljárás lépéseinek befejezésekor a cseppeket óvatosan fel kell itatni.
- Az értékelés előtt bizonyosodjon meg, hogy a lemez alsó felülete tiszta és száraz.
- A vizsgálat elkezdése előtt egy azonosítási és elosztási tervet kell meghatározni.
- Ne melegítse a vérsavót semlegesítés céljából.
- A lemezt ne vegye ki a védőtasakjából addig, amíg készen nem áll annak használatára.

## A készlet elemei

### A szállított anyagok

1. Bevonat ELISA lemez.  

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

12 x 8 cellás sztreptavidin bevonatú biotinilált HHV-8 bomló peptid.
2. Pozitív kontrollminta\*\* (Piros színű sapka).  

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

1 x 2ml előhígított pozitív emberi vérsavó vagy plazma stabilizáló pufferben (0,01% nátrium-azidot, 0,01% Thiomersalt tartalmaz).
3. Negatív kontrollminta\*\* (Zöld színű sapka).  

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

1 x 2ml előhígított negatív emberi vérsavó vagy plazma stabilizáló pufferben (0,01% nátrium-azidot, 0,067% Kathon™ CG-t tartalmaz).
4. Töltési kalibráló\*\* (barna kupak).  

CAL
-----

1 x 2ml előhígított gyengén pozitív emberi vérsavó vagy plazma stabilizáló pufferben (0,01% nátrium-azidot, 0,067% Kathon™ CG-t tartalmaz).
5. Enzim konjugátum hígító.  

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

1 x 17ml IgG enzim konjugátum hígító (0,01% gentamicin-szulfátot és 0,01% Thiomersalt tartalmaz).
6. Enzim konjugátum koncentrátum.  

CONJ	ENZ	10X
------	-----	-----

1 x 1,7ml IgG enzim konjugátum koncentrátum (0,01% gentamicin-szulfátot és 0,01% Thiomersalt tartalmaz).
7. Minta hígítószer (használatra készen).  

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

1 x 110ml PBS puffer stabilizátorokkal és Kathon™ CG-vel (0,067%).

8. Mosókoncentrátum.

<b>BUF</b>	<b>WASH</b>	<b>25X</b>
------------	-------------	------------

1 x 55ml koncentrált (25X) Tris puffer Tween 20 (2,75%) és Kathon™ CG (0,067%) tartalommal.

9. Szubsztrátum.

<b>SUBS</b>	<b>TMB</b>
-------------	------------

1 x 17ml tetrametilbenzid (TMB) oldat.

10. Leállítóoldat.

<b>SOLN</b>	<b>STP</b>
-------------	------------

1 x 17ml 0,5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

11. Használati utasítás.



**\*\* Potenciálisan fertőző anyag**

**Kathon™ CG a Rohm and Haas Company bejegyzett kereskedelmi márkája.**

**Szükséges kiegészítő anyagok**

- Vérsavógyűjtő felszerelés.
- Jó minőségű desztillált vagy deionizált víz.
- Tiszta beosztásos-skálával rendelkező laboratóriumi felszerelés.
- Kémcsövek vagy megfelelő felszerelés a minták előkészítéséhez.
- Mérőhengerek.
- Pontos pipetták, mikropipetták és eldobható hegyek 10µl, 100µl, 1ml és 5ml mennyiség pipettázásához.
- Műanyag fedő vagy zárószalag a mikrocellás lemezhez.
- Időmérő.
- Kézi vagy automatikus mosóberendezés.
- 35-39°C fokos inkubátor.
- Papírtörölők vagy nedvszívó papír.
- ELISA lemez kiértékelő 450nm szűrővel (a kiegészítő 630–650nm szűrő opcióként beszerezhető).

**Tárolás és állékonyosság**

- A készlet a külső doboz címkéjén megadott lejárati dátum idejéig stabilnak tekinthető, ha 2–8°C hőmérsékleten tárolják.
- A 8-cellás lemezeket újrazárható tasakban kell tárolni a szárítószeres zacskókkal együtt.
- Használat után, minden nem használt komponenst azonnal vissza kell helyezni 2-8°C tárolási hőmérsékletre.
- Az összeállított mosószer 1 hónapig tárolható 2-8°C hőmérsékleten.

### **Mintavétel és tárolás**

A Biotrin HHV-8 IgG EIA vizsgálathoz vérsavó vagy plazma használható. Érbeszűréssel történő vérvételt követően, a vért hagyja szobahőmérsékleten megalvadni (20-25°C), majd 10 percig helyezze 1500 x g centrifugába. Ha a vizsgálatot nem végzik 8 órán belül el, a vérsavó vagy plazma 2-8°C fokon tárolható 2-3 napig, vagy fagyasztva -20°C fokon ha hosszabb tárolás vagy szállítás szükséges (a minták állékonyak -20°C fokon min. 1 évig). A citrátos plazma kompatibilis a vizsgálati eljárással. Bizonyos mikrobákkal szennyezett vérsavókat nem ajánlatos a vizsgálathoz használni. A vizsgálat mintákat tilos többször fagyasztani-kiolvasztani.

**Megjegyzés:** A mintákat nem ajánlott melegítéssel semlegesíteni.

### **Reagens és minta előkészítése**

#### **Reagens előkészítés**

- A reagens mennyiségek egy minta vizsgálatára vonatkozóan vannak megadva.
- Lemosóoldat  
Minden 8-cellás lemezre számolva tegyen 4ml mosópuffer koncentrátumot 96ml deionizált vízhez. Az összeállított mosószer 1 hónapig tárolható 2-8°C hőmérsékleten.
- Enzim konjugátum előkészítése  
Minden 8-cellás lemezhez adagoljon 100µl enzim konjugátumot 900µl enzim konjugátum hígítóhoz. Az előkészített oldat nem tárolható.

Az összes többi reagens használatra készen és megfelelő hígítással kerül szállításra.

#### **Minta előkészítés**

Minden egyes minta esetén cseppentsen 1ml minta hígítót egy címkével ellátott kémcsőbe vagy hasonló edénybe. Adagoljon 10µl vérsavót vagy plazmát és keverje össze.

**Megjegyzés:** A hígított minták nem tárolhatók, ismételt vizsgálathoz friss preparátumot kell használni.

## A vizsgálat menete

1. Használat előtt hagyja, hogy minden komponens szobahőmérsékletűvé váljon (20 -25°C).
2. Állapítsa meg, hogy hány cellára lesz szüksége. Határozzon meg egy azonosítási és elosztási tervet a kontrollminták és minták számára a (lenti) ábra szerint. Az első lemez 2 páciens minta tesztelésére alkalmas, minden további lemez még 8 páciens minta vizsgálatát teszi lehetővé.

### 1. Ábra 1. lemez

A		Negatív kontrollminta
B		Negatív kontrollminta
C		Töltési kalibráló
D		Töltési kalibráló
E		Pozitív kontrollminta
F		Pozitív kontrollminta
G		1. számú páciens
H		2. számú páciens

3. Vegye ki a kívánt számú cellát, helyezze azokat műanyag keretbe és fedje le műanyag fedővel/szigetelőszalaggal. Tegye vissza a megmaradt lemezeket a tasakba és zárja le a szárítószeres zacskókkal együtt.
4. Készítse elő a mosópuffert (lásd a "Reagens és minta előkészítése" részt).
5. Készítse elő a mintát (lásd a "Reagens és minta előkészítése" részt).
6. Vegye le a lemezek fedelét és pipetázzon kétszeresen 100µl használatra kész negatív kontrollmintát, töltési kalibrálót, pozitív kontrollmintát és 100µl-t az előkészített páciens mintából egyszeresen a cellákba.
7. Fedje le a cellákat a műanyag fedővel/szigetelőszalaggal és inkubálja 30 percen keresztül 35 - 39°C fokon.
8. Vegye le a fedelet és mossa le a cellákat négyszer (4) mosópufferrel (250 - 300µl). Mosás után, ütögesse a lemezt egy nedvszívó papírtörülőhöz.
9. Készítse elő az enzim konjugátumot (lásd a "Reagens és minta előkészítése" részt).
10. Pipetázzon 100µl-t az előkészített IgG enzim konjugátumból a cellákba rögtön a mosást követően.
11. Fedje le a cellákat a műanyag fedővel/szigetelőszalaggal és inkubálja 30 percen keresztül 35 - 39°C fokon.
12. Vegye le a fedelet és mossa le a cellákat négyszer (4) mosópufferrel (250 - 300µl). Mosás után, ütögesse a lemezt egy nedvszívó papírtörülőhöz.

13. Pipettázzon 100µl-t az előkészített TMB szubsztrátumból a cellákba rögtön a mosást követően.
14. Fedje le a cellákat a műanyag fedővel/szigetelőszalaggal és inkubálja 30 percen keresztül 35 - 39°C fokon.
15. Pipettázzon 100µl leállítóoldatot a cellákba és keverje össze. Bizonyosodjon meg, hogy minden egyes adagolás ugyanabban a sorrendben és időközben történik mint a szubsztrátum adagolása.
16. Azonnal értékelje az eredményeket egy ELISA lemezértékelővel.

**Megjegyzés:** Kettős hullámhosszal történő értékelés esetén 450nm javasolt, 630nm a vonatkoztatási hullámhosszként. Ha ez a funkció nem található meg az ELISA lemezértékelőn, használjon egyszeres hullámhosszas értékelést 450nm-en.

### **Az eredmények értékelése**

A HHV-8 IgG antitestek jelenléte vagy hiánya az öntési kalibráló függvényében kerül meghatározásra.

#### **Töltési kalibráló érték**

- 1) Határozza meg a COC értéket megvizsgálva a kalibrálót minden vizsgálatban kétszeresen.
- 2) Számítsa ki az átlag OD értéket, ez a COC érték és az index értékek kiszámítására szolgál.
- 3) Egy index értéket a minta / kontrollminta felszívásnak a COC értékkel történő elosztásával számolják ki.

#### **Értékelés (1): Abszorbancia**

A COC x 1,2-nél nagyobb abszorbanciájú minták reaktívnak tekinthetők (pozitív) anti-HHV-8 IgG szempontjából.

A COC x 0,8-nál kisebb abszorbanciájú minták nem-reaktívnak tekinthetők (negatív) anti-HHV-8 IgG szempontjából.

A COC x 0,8-nál nagyobb vagy egyenlő abszorbanciájú minták és a COC x 1,2-nél kisebb vagy egyenlő abszorbanciájú minták határozatlanok.

#### **Értékelés (2): Index érték**

A különböző vizsgálatokból származó adatok összehasonlítása egy index érték használatával, amelynél a minta abszorbanciáját a vizsgálat öntési kalibrálójához viszonyítva fejezik ki. Ebben az esetben, az index érték <0,8 vagy >1,2 minta negativitást vagy pozitivitást jelez. A határozatlanságot az index érték 0,8-1,2 tartománya jelzi.

$$\text{Index} = \frac{\text{Kontrollminta/minta abszorpció}}{\text{Átlag töltési kalibráló (COC) abszorbancia}}$$

A nem reaktív (pozitív) és sem nem-reaktív (negatív) minták határozatlannak nyilváníthatók és azokat újra kell vizsgálni. Ha az ismételt vizsgálat eredménye határozatlan, egy másik mintát kell begyűjteni 7-14 nappal később. A második minta határozatlan értékkel negatívnak tekinthető anti-HHV-8 IgG szempontjából, ugyanakkor, ha új keletű fertőzés gyanúja áll fent, alternatív módszerrel kell megvizsgálni.

### **Minőségellenőrzési kritériumok**

A pozitív kontrollminta és a negatív kontrollminta mindig része kell legyen a minőségellenőrzésnek. Egy vizsgálat eredményei akkor érvényesek, ha a következő feltételek teljesültek:

1. A pozitív kontrollminta átlagos index értéke nagyobb vagy egyenlő az 1,2 indexnél.
2. A negatív kontrollminta átlagos index értéke kisebb 0,8-nál.

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

### **A felelősség korlátozása**

Kizárólag az Egyesült Államokban használható kutatási célokra.

- A HHV-8 fertőzés diagnózis felállításakor az eredményeket össze kell vetni a páciens klinikai és járványtani profiljával, valamint egyéb klinikai eredményekkel.
- Egy reakció nélküli (negatív) eredmény nem zárja ki a HHV-8 fertőzés lehetőségét. A kimutatható antitest válaszok kifejlődése néhány nappal a fertőzést követően lép fel. HHV-8 fertőzésgyanú esetén a negatív eredményeket követően két héttel később meg kell ismételni a vizsgálatot.
- Az eredmények értékeléséhez túl kevés az adat a más testnedveken vagy vörösvérplazma alapokon végzett vizsgálatokból.
- A vizsgálat teljesítményét befolyásolhatja ha eltérnek az adott eljárástól, vagy nem értelmezik jól az előírásokat.
- A vizsgálat teljesítményét kétszeres kontrollminták és egyszeres minták vizsgálatán érvényesítették.

### **Várt értékek**

#### *Szeroprevalencia*

A betegség prevalenciát általában kimerítő antigén szint vizsgálatok után lehet meghatározni, a kor, nem, földrajzi elhelyezés és társadalmi-gazdasági státusz alapján.

A HHV-8 szeroprevalenciája véradók között 5-10% között mozog az Egyesült Államokban és Európában<sup>(4)</sup>, 10-35% Olaszországban és a mediterrán országokban<sup>(5)</sup>, 50% számos afrikai közösségben<sup>(6)</sup>.

## Teljesítmény jellemzők

### Érzékenység és specificitás

166 mintát vizsgáltak a HHV-8 IgG vizsgálat érzékenységének meghatározására. A vizsgált mintákat a HHV-8 fertőzés és a Kaposi szarkoma klinikai tünetei jellemezték. Ezeket a mintákat HHV-8 IgG IFA vizsgálatnak is alávetették és pozitívnak nyilvánították. 114 mintát vizsgáltak a HHV-8 IgG EIA vizsgálat specificitásának meghatározására. 114 ezekből normális emberi vérsavó volt. A mintákat negatívnak nyilvánították különböző kereskedelemben kapható HHV-8 IgG vizsgálatok alapján.

HHV-8 Állapot	Pozitív	Negatív	Határozatlan*	Teljes
Pozitív	150	2	14	166
Negatív	3	106	5	114
Teljes	153	108	19	280

**1. táblázat:** Kiszámolásra kerültek az érzékenységi és specificitási eredmények.

Érzékenység:  $150/166 = 90,4\%$

Specificitás:  $106/114 = 93\%$

Egyezség:  $256/280 = 91,4\%$

Érzékenység = Valódi pozitívak (vp) / (Vp + Hamis negatívok + Határozatlanok) x 100

Érzékenység =  $(150/166) \cdot 100 = 90,4\%$

Specificitás = Valódi negatívok (Vn) / (Vn + Hamis pozitívak + Határozatlanok) x 100%

Specificitás =  $(106/114) \cdot 100 = 93\%$

### Vizsgálaton belüli reprodukálhatóság

A HHV-8 IgG szint szempontjából a gyengétől a reaktívig és erősen reaktívig változó vérsavó minták sorozatát vizsgálták 20 alkalommal. A kétszeres mintákat 3 ELISA lemezen vizsgálták 3 külön vizsgálati csomaggal. A kapott OD eredményeket összesítették és az átlag OD értékeket, standard eltérést (SD) és variáció hányados százalékát (%CV) kiszámolták, 2. Táblázat. Ugyanezek az eredmények megtalálhatók vizsgálati index formájában a 3. táblázatban.

**A százalékos CV OD (indexek) formájában kifejezve 7,28%-tól erősen reaktív mintában (SR) 8,022%-ig gyengén reaktív mintában (WR).**

Minta	1			2			3		
	Átlag OD	SD	% CV	Átlag OD	SD	% CV	Átlag OD	SD	% CV
ER	1,384	0,101	7,280	1,240	0,036	2,872	1,370	0,049	3,543
GYR1	0,292	0,013	1,479	0,461	0,012	2,648	0,556	0,023	4,187
GYR2	0,185	0,013	7,000	0,493	0,040	8,022	0,362	0,026	7,246

**2. táblázat:** Az optikai sűrűséggel (OD) kifejezett vizsgálaton belüli reprodukálhatóság 20 kétszeres minta esetén, három különböző vérsavó mintából gyengén reaktívól erősen reaktívig változó HHV-8 IgG szint tartományban, 3 különböző csomagban. ER: erősen reaktív és GYR: gyengén reaktív.

Minta	1			2			3		
	Átlag index	SD	% CV	Átlag index	SD	% CV	Átlag index	SD	% CV
ER	7,58	0,55	7,28	6,776	0,195	2,872	5,054	0,179	3,543
GYR1	1,60	0,07	4,48	2,517	0,067	2,648	2,053	0,086	4,187
GYR2	1,01	0,07	7,00	2,695	0,216	8,022	1,335	0,097	7,246

**3. táblázat:** Az index értékkel kifejezett vizsgálaton belüli reprodukálhatóság 20 kétszeres minta esetén, három különböző vérsavó mintából gyengén reaktívól erősen reaktívig változó HHV-8 IgG szint tartományban, 3 különböző csomagban. ER: erősen reaktív és GYR: gyengén reaktív.

### Vizsgálatok közötti reprodukálhatóság

A HHV-8 IgG szint szempontjából a nem reaktívtól az erősen reaktívig változó vérsavó minták sorozatát vizsgálták mindegyiket 10 vizsgálatban 3 különböző operátorral. A mintákat 1 terméken tesztelték és az eredményeket összevetették a vizsgálatok közötti reprodukálhatóság meghatározásához. Így minden mintát n=10 alkalommal vizsgáltak. A kapott OD eredményeket összesítették és az átlag OD értékeket, standard eltérést (SD) és variáció hányados százalékát (%CV) kiszámolták, 4. Táblázat. Ugyanezek az eredmények megtalálhatók vizsgálati index formájában a 5. táblázatban.

**A százalékos CV OD (indexek) formájában kifejezve 7,04%-tól erősen reaktív mintában (SR) 15,84 %-ig gyengén reaktív mintában (WR).**

Minta	Átlag OD	SD	%CV	n
ER	1,429	0,101	7,04	10
KR	0,500	0,076	15,27	10
GYR	0,319	0,051	15,84	10
UR1	0,058	0,008	13,13	10
UR2	0,061	0,011	18,19	10

**4. táblázat:** Az optikai sűrűséggel (OD) kifejezett vizsgálatok közötti reprodukálhatóság 10 minta esetén, 5 különböző vérsavó mintából nem reaktívtól erősen reaktívig változó HHV-8 IgG szint tartományban. ER: erősen reaktív és KR: közepesen reaktív és GYR: gyengén reaktív és UN nem reaktív.

Minta	Átlag index	SD	%CV	n
SR	8,397	0,704	8,38	10
KR	2,934	0,436	14,87	10
GYR	1,879	0,323	17,21	10
UR1	0,342	0,046	13,54	10
UR2	0,361	0,064	17,83	10

**5. táblázat:** Az indexszel kifejezett vizsgálatok közötti reprodukálhatóság 10 minta esetén, 5 különböző vérsavó mintából nem reaktívtól erősen reaktívig változó HHV-8 IgG szint tartományban. ER: erősen reaktív, KR: közepesen reaktív, GYR: gyengén reaktív és UR: nem reaktív.

**Keresztreaktivitás:**

A Biotrin HHV-8 IgG EIA specificitásának megállapítására, 76 vérsavó mintát vizsgáltak meg. A mintákat az alábbi betegségben szenvedő páciensektől vették:

Minta	Pozitívok száma
Lupus Erythematosus	0/5
Rhematoid Arthritis (RA)	0/3
Rhematoid Factor (RF)	0/5
Autoimmun	1/7
Lyme IgG	0/4
EBV IgG	2/24
Rózsahimlő IgG	0/5
CMV IgG	0/5
VZV IgG	2/5
Hep C	0/2
AIDS	0/5
HTLV	0/2
HSV IgG	0/4

**6. táblázat:** n = 76 lehetséges keresztreakciós minták a nem specifikus kötődés meghatározása céljából vizsgálva. Az eredmények a vizsgált minták számát és a hamis pozitívok számát mutatják.

### **A humán herpeszvírus-8 IgG EIA eljárás rövid ismertetése**

A vizsgálat elkezdése előtt, olvassa végig a termék használati utasítását. Ez a rövid ismertető csak tájékoztatóként szolgál.

Készítse elő a pufferes mosást



Oldja fel a mintákat 1 a 101-szer a minta hígítószerben.



Pipetázzon kétszeresen 100µl (használatra kész) negatív kontrollmintát, öntési kalibrálót és pozitív kontrollmintát a cellákba



Pipetázzon 100µl-t az előkészített mintákból a cellákba



Inkubálja 30 percig 35-39°C fokon



Mossa le a lemezeket négyszer (4)



Készítse elő az enzim konjugátumot



Adagoljon 100µl IgG enzim konjugátumot



Inkubálja 30 percig 35-39°C fokon



Mossa le a lemezeket négyszer (4)



Adagoljon 100µl TMB szubsztrátumot



Inkubálja 30 percig 35-39°C fokon



Adjon hozzá 100µl leállítóoldatot



Értékelje 450nm-en

630nm-es vonatkozási hullámhosszal vagy nélkül (ha lehetséges)

## Referenciák

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.

## Jelmagyarázat

*In-vitro* diagnosztikai orvosi eszköz

IVD

Csomagkód

LOT

Katalógus szám

REF

Hőmérséklet korlátozás



Lejárat dátum



Gyártó



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



Használati utasítás



### Kiegészítő Biotrin termékek

A Biotrin International egy - a rutinszerű laboratóriumi diagnosztikának megfelelő - egyedi Humán herpeszvírus vizsgálati készletet ajánl fel az érdeklődők 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](mailto:info@biotrin.ie)  
[www.biotrin.com](http://www.biotrin.com)



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

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