

HHV-8 IgG EIA, N. di catalogo: V19HHV8, HHV-428-03 07/09, IT



ITALIANO

N. di catalogo: V19HHV8
Formato del kit: 96 well plates
HHV-428-03



L'herpesvirus umano di tipo-8 EIA

Dosaggio immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG anti-Herpesvirus umano di tipo-8 nel siero e nel plasma umano.



Indice

Uso previsto

Introduzione

Principio del test

Precauzioni

Sicurezza

Procedura

Componenti del kit

Materiali forniti

Ulteriori materiali richiesti

Conservazione e stabilità

Raccolta e conservazione dei campioni

Preparazione dei reagenti e dei campioni

Procedura del test

Interpretazione dei risultati

Criteri del controllo di qualità

Restrizioni nell'uso

Valori previsti

Prestazioni del test

Riassunto della procedura per Human Herpesvirus- 8 IgG EIA

Bibliografia

Interpretazione dei simboli

Altri prodotti Biotrin

Uso previsto

Il test immunoenzimatico a due peptidi per la determinazione delle IgG anti Herpesvirus umano di tipo 8 (HHV-8) è indicato per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgG rivolti contro gli antigeni litici di HHV-8 presenti nel siero e nel plasma umano. Nell'uomo la determinazione delle IgG anti-HHV-8 può essere di aiuto nella diagnosi della infezione primaria, o della riattivazione / reinfezione indotta da questo virus, oppure può dimostrare l'esistenza di una precedente infezione da HHV-8.

Introduzione

L'herpesvirus umano di tipo 8 (HHV-8) è noto anche come l'herpesvirus associato al sarcoma di Kaposi (KSHV). Il virus è classificato come un gamma-herpesvirus (genere rhadinovirus) e presenta somiglianze con l'EBV (virus di Epstein-Barr) nel suo tropismo per le cellule B e nella sua capacità di permanere in uno stato latente. Esistono attualmente prove epidemiologiche molto evidenti che dimostrano il ruolo scatenante dell'HHV-8 nella patogenesi del sarcoma di Kaposi (KS)⁽¹⁾. È possibile rilevare la presenza dell'HHV-8 in tutte le forme della malattia: KS classico (un tumore maligno raro che si presenta negli anziani di sesso maschile dell'area mediterranea e dell'est europeo), KS endemico africano, KS associato al trapianto e KS associato all'AIDS. È stato dimostrato che nei pazienti HIV positivi la presenza di anticorpi anti-HHV-8 precede e preannuncia lo sviluppo del KS⁽²⁾.

La trasmissione attraverso il contatto sessuale ha un ruolo importante nella diffusione dell'HHV-8 tra i soggetti omosessuali di sesso maschile⁽³⁾. La sieroprevalenza dell'HHV-8 tra i donatori di sangue rientra in un range dal 5 al 10% negli Stati Uniti e nel Nord Europa⁽⁴⁾, dal 10 al 35% in Italia e nei paesi mediterranei⁽⁵⁾, fino a raggiungere più del 50% in molte popolazioni africane⁽⁶⁾.

L'HHV-8 è stato inoltre associato ai linfomi delle cavità corporee, noti anche come linfomi da effusione primaria (PEL), alla malattia multicentrica di Castleman (MCD), al linfoma non-Hodgkin e al mieloma multiplo⁽⁷⁾.

L'infezione da HHV-8 può essere attualmente diagnosticata mediante analisi in PCR e mediante dosaggi immunologici come l'IFA e l'ELISA. Tuttavia il DNA dell'HHV-8 può essere rilevato nelle cellule del sangue periferico solo in circa la metà dei soggetti infetti utilizzando i test standard in PCR⁽⁹⁻¹²⁾. Poiché i sistemi di rilevamento PCR mostrano una scarsa sensibilità quando viene utilizzato come template il DNA delle cellule del sangue periferico, i dosaggi sierologici si sono rivelati più utili negli studi epidemiologici e nella diagnosi dell'infezione da HHV-8, in particolare nel determinare una precedente esposizione al virus^(8,9).

Il kit Human Herpesvirus-8 IgG EIA di Biotrin è basato su una miscela di peptidi sintetici che permette di rilevare gli anticorpi rivolti contro le proteine virali litiche dell'HHV-8.

Principio del test

Il kit Human Herpesvirus-8 IgG EIA di Biotrin è un dosaggio immunoenzimatico diretto, basato sul legame degli anticorpi specifici anti-HHV-8 con gli antigeni peptidici litici che rivestono i pozzetti delle strip. Gli anticorpi specificamente legati vengono rilevati mediante un coniugato a base di IgG anti-umano marcato con perossidasi e successivamente mediante la reazione con un substrato. L'impiego di epitopi peptidici litici derivati da differenti proteine virali garantisce sia un'elevata sensibilità che un'elevata specificità. Non è stata rilevata alcuna cross-reazione con l'HIV.

Precauzioni

Sicurezza

- Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- Il kit deve essere utilizzato esclusivamente da personale di laboratorio qualificato.
- I reagenti contrassegnati dal simbolo ** sono considerati MATERIALE A POTENZIALE RISCHIO BIOLOGICO. Ogni campione del donatore usato nella preparazione del controllo positivo, del calibratore del cut-off e del controllo negativo è stato testato singolarmente ed è risultato negativo all'HIV-1/2, all'HBsAg e all'HCV. Tuttavia, poiché nessun test può garantire completamente l'assenza di agenti infettivi, tutti questi reagenti e tutti i campioni dei pazienti devono essere trattati in conformità con le procedure di sicurezza riconosciute.
- Alcuni reagenti contengono Kathon™ CG, una sostanza che può essere corrosiva. La soluzione di arresto contiene acido solforico, un'altra sostanza corrosiva. Evitare il contatto con la cute e con gli occhi. In caso di contatto sciacquare immediatamente con acqua e consultare un medico.
- Alcuni reagenti contengono tiomersale, che può essere tossico se ingerito.
- Il substrato contiene TMB, una sostanza che può irritare la cute e le membrane mucose. Se il substrato viene in contatto con la cute, anche in quantità minima, sciacquare con acqua.
- Lo smaltimento di tutti i campioni clinici, del materiale infetto o potenzialmente infetto deve essere eseguito in conformità con la buona pratica di laboratorio. Tali materiali devono essere trattati e smaltiti come potenzialmente infettivi.
- I residui delle sostanze chimiche, dei preparati e dei componenti del kit sono generalmente considerati come rifiuti pericolosi. Tali materiali devono essere eliminati in conformità con le procedure di sicurezza riconosciute.
- Durante il trattamento dei campioni e l'esecuzione del test, si indossino abiti protettivi, guanti in lattice monouso e mascherina protettiva per gli occhi. Al termine del dosaggio, lavarsi le mani accuratamente.
- Non pipettare i materiali per bocca ed evitare sempre di mangiare o bere sul banco di laboratorio.

Procedura

- Se il dosaggio non viene eseguito rispettando i range di tempo e di temperatura indicati, i risultati potranno non essere validi. I dosaggi che non rientreranno in tali range dovranno essere ripetuti.
- Non utilizzare il kit né i singoli reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare campioni o reagenti contaminati.
- Non mescolare né sostituire reagenti provenienti da kit contrassegnati da numeri di lotto diversi.
- Qualsiasi modifica rispetto al protocollo fornito può dare luogo a risultati erranei.
- Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolare con cura prima dell'uso.
- Non lasciare i reagenti esposti alla luce del sole e/o a una temperatura superiore ai 2-8°C per periodi prolungati.
- Per la soluzione di lavaggio, utilizzare acqua distillata o deionizzata di alta qualità.
- Nella preparazione dei reagenti, utilizzare sempre vetreria pulita, preferibilmente monouso.
- Fare attenzione a non contaminare i componenti, e utilizzare puntali da pipetta nuovi per ogni campione e componente.
- Prelevare soltanto il volume di coniugato richiesto per il dosaggio. Non versare nuovamente nel flacone il reagente inutilizzato e non pipettare direttamente dal flacone, poiché tale procedura potrebbe provocare una contaminazione.
- Pipettare il reagente a metà della parete del pozzetto, avendo cura di non graffiare la parete con la punta della pipetta.
- Durante tutte le fasi dell'esecuzione del test, evitare che i pozzetti si asciugino.
- Eliminare sempre le goccioline che si formano sulla superficie superiore dei pozzetti. Le gocce devono essere asciugate con delicatezza al termine di ogni fase della procedura.
- Prima di procedere alla lettura, assicurarsi che la superficie inferiore della piastra sia pulita e asciutta.
- Prima di eseguire il test, definire uno schema di identificazione e distribuzione.
- Non inattivare il siero mediante calore.
- Non estrarre la piastra dalla sacca protettiva prima di essere pronti a procedere.

Componenti del kit

Materiali forniti

1. Piastra ELISA rivestita

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

12 x 8 pozzetti con peptidi litici di HHV-8 biotinilati rivestiti con streptavidina.

2. Controllo positivo** (Tappo rosso)

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

1 x 2ml di siero o plasma umano positivo prediluito in tampone stabilizzante (contente sodio azide 0,01% con tiomersale 0.01%).

3. Controllo negativo** (Tappo verde)

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

HHV-8 IgG EIA, N. di catalogo: V19HHV8, HHV-428-03 07/09, IT

1 x 2ml di siero o plasma umano negativo prediluito in tampone stabilizzante (contente sodio azide 0,01% con Kathon™ CG 0.067%).

4. Calibratore del cut-off**(Tappo marrone)

CAL

1 x 2ml di siero o plasma umano debolmente positivo prediluito in tampone stabilizzante (contente sodio azide 0,01% con Kathon™ CG 0.067%).

5. Diluente dell'enzima coniugato

CONJ ENZ DIL

1 x 17ml di diluente dell'enzima coniugato a IgG (contenente lo 0,01% di solfato di gentamicina con tiomersale 0.01%).

6. Enzima coniugato concentrato

CONJ ENZ 10X

1 x 1,7ml di enzima coniugato a IgG concentrato (contenente 0,01% di solfato di gentamicina con tiomersale 0.01%).

7. Diluente del campione (pronto all'uso)

DIL SPE 1X

1 x 110ml di tampone PBS contenente stabilizzanti e Kathon™ CG (0,067%).

8. Tampone di lavaggio concentrato

BUF WASH 25X

1 x 55ml di tampone Tris concentrato (25X) contenente Tween 20 (2,75%) e Kathon™ CG (0,067%).

9. Substrato

SUBS TMB

1 x 17ml di soluzione di tetrametilbenzidina (TMB).

10. Soluzione di arresto

SOLN STP

1 x 17ml di 0,5 M H₂SO₄.

11. Istruzioni per l'uso



**** Materiale a potenziale rischio biologico**

Kathon™ CG è un marchio registrato della Rohm and Haas Company.

Ulteriori materiali richiesti

- Attrezzatura per la raccolta del siero.
- Acqua distillata o deionizzata di alta qualità.
- Attrezzatura da laboratorio pulita per analisi volumetrica.
- Provette o contenitori equivalenti per la preparazione dei campioni.
- Cilindri graduati.
- Pipette, micropipette e puntali monouso di precisione per la dispensazione di volumi di 10µl, 100µl, 1ml e 5ml.
- Coperchio in plastica o nastro sigillante per piastra con micropozzetti.
- Timer.
- Dispositivo per il lavaggio manuale o automatico.
- Incubatore a 35 – 39°C.
- Fogli di carta o carta assorbente.
- Lettore per piastra ELISA con filtro a 450nm (filtro supplementare a 630 – 650nm facoltativo).

Conservazione e stabilità

- Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione esterna, a condizione che sia conservato a una temperatura di 2 – 8°C.
- Le strisce da 8 pozzetti devono essere conservate nella sacca risigillabile insieme ai sacchetti di essiccante.
- Subito dopo l'uso, tutti i componenti inutilizzati devono essere conservati nuovamente a una temperatura di 2-8°C.
- Il tampone di lavaggio ricostituito rimane stabile 1 mese conservato a 2-8°C.

Raccolta e conservazione dei campioni

Sia il siero che il plasma possono essere testati con kit Human Herpesvirus-8 IgG EIA di Biotrin. Una volta raccolto mediante venopuntura, il sangue deve essere lasciato coagulare a temperatura ambiente (20-25°C), e in seguito centrifugato a 1500 x g per 10 minuti. Se il test non viene eseguito entro 8 ore, i campioni di siero o plasma possono essere conservati a 2-8°C fino a 2-3 giorni, oppure congelati a -20°C in caso di conservazione prolungata o spedizione (a -20°C, i campioni restano stabili per almeno 1 anno). Il plasma citrato è compatibile con la procedura del test. In caso di contaminazione microbica, il siero non deve essere utilizzato per eseguire il test. I campioni destinati al test non devono infine essere sottoposti a cicli ripetuti di congelamento/scongelo.

N.B.: si raccomanda di non inattivare i campioni mediante calore.

Preparazione dei reagenti e dei campioni

Preparazione del reagente

- I volumi dei reagenti indicati sono destinati al dosaggio del campione in singolo.
- Soluzione per il lavaggio
Per ogni strip da 8 pozzetti, aggiungere 4 ml di concentrato per il lavaggio a 96 ml di acqua deionizzata. Una volta preparato, il reagente rimane stabile 1 mese a 2-8°C.
- Preparazione dell'enzima coniugato
Per ogni strip da 8 pozzetti, aggiungere 100µl di enzima coniugato a 900µl di diluente per l'enzima coniugato. Una volta preparata, la soluzione non può essere conservata.

Tutti gli altri reagenti sono forniti pronti all'uso.

Preparazione del campione

Distribuire per ciascun campione 1ml di diluente del campione in una provetta etichettata o in un contenitore equivalente. Aggiungere 10µl di campione di siero o di plasma e mescolare.

N.B.: una volta diluiti, i campioni non possono essere conservati; se il test deve essere ripetuto, occorrerà utilizzare un nuovo preparato.

Procedura del test

1. Portare tutti i componenti a temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'uso.
2. Determinare il numero di pozzetti necessari. Pianificare uno schema di identificazione e distribuzione per i controlli e i campioni, come indicato nella figura 1 (vedi sotto). La prima strip serve a testare 2 pazienti, mentre le strip successive permettono di testare ciascuna 8 pazienti.

	<u>Figura 1</u>	<u>Strip 1</u>
A		Controllo negativo
B		Controllo negativo
C		Calibratore di cut-off
D		Calibratore di cut-off
E		Controllo positivo
F		Controllo positivo
G		Paziente, n. 1
H		Paziente, n. 2

3. Rimuovere il numero di pozzetti necessario, collocarlo in un supporto di plastica e coprire con un coperchio di plastica o un nastro sigillante. Reinserrire le rimanenti strip nella sacca e sigillarle nuovamente all'interno, insieme all'essiccante.
4. Preparare la soluzione per il lavaggio (vedi sezione "Preparazione dei reagenti e dei campioni").

5. Preparare il campione del paziente (vedi sezione "Preparazione dei reagenti e dei campioni").
6. Rimuovere la copertura dalle strisce e pipettare in duplicato nei pozzetti 100µl di controllo negativo pronto all'uso, di calibratore del cut-off e di controllo positivo, e in singolo, 100µl del campione del paziente preparato.
7. Coprire i pozzetti con un coperchio di plastica o un nastro sigillante e incubare per 30 minuti a una temperatura di 35 – 39°C.
8. Rimuovere la copertura e lavare ciascun pozzetto 4 volte con la soluzione per il lavaggio (250 – 300µl). Dopo il lavaggio, asciugare la piastra premendo con decisione sulla carta assorbente.
9. Preparare l'enzima coniugato (vedi sezione "Preparazione dei reagenti e dei campioni").
10. Al termine della fase di lavaggio, pipettare nei pozzetti 100µl dell'enzima coniugato a IgG precedentemente preparato.
11. Coprire i pozzetti con un coperchio di plastica o un nastro sigillante e incubare per 30 minuti a una temperatura di 35 – 39°C.
12. Rimuovere il coperchio e lavare ciascun pozzetto 4 volte con la soluzione per il lavaggio (250 – 300µl). Dopo il lavaggio, asciugare la piastra premendo con decisione sulla carta assorbente.
13. Al termine della fase di lavaggio, pipettare nei pozzetti 100µl di TMB substrato.
14. Coprire i pozzetti con un coperchio di plastica o un nastro sigillante e incubare per 30 minuti esatti a una temperatura di 35 – 39°C.
15. Pipettare 100µl di soluzione di arresto nei pozzetti e mescolare. Assicurarsi che ogni aggiunta del componente avvenga nella stessa sequenza e con lo stesso intervallo di tempo adottati per l'aggiunta del substrato.
16. Leggere immediatamente mediante lettore per piastra ELISA.

N.B.: si raccomanda di leggere i risultati utilizzando una doppia lunghezza d'onda a 450nm, con lunghezza d'onda di riferimento di 630nm. Se il lettore di piastra ELISA non è dotato di tale funzione, utilizzare nella lettura la lunghezza d'onda singola a 450nm.

Interpretazione dei risultati

La presenza o l'assenza dell'IgG anti-HHV-8 viene determinata in relazione al calibratore del cut-off (COC).

Valore del calibratore del cut-off

- 1) Ad ogni seduta, determinare il valore del COC dosando il calibratore di cut-off in doppio.
- 2) Determinare il valore medio delle OD (densità ottica), che corrisponde al valore del COC e che deve essere utilizzato per determinare i valori indice.
- 3) I valori indice si calcolano dividendo l'assorbanza del campione/controllo per il valore del COC.

Interpretazione (1): assorbanza

I campioni che presentano una lettura dell'assorbanza maggiore del COC x 1,2 sono considerati reattivi (positivi) per le IgG anti-HHV-8.

I campioni che presentano un'assorbanza minore del COC x 0,8 sono considerati non reattivi (negativi) per le IgG anti-HHV-8.

I campioni che presentano un'assorbanza maggiore o uguale al COC x 0,8 e minore o uguale al COC x 1,2 sono equivoci.

Interpretazione (2): valore indice

Il confronto dei dati provenienti da diverse serie di dosaggi è semplificato dall'impiego di un valore indice in base al quale l'assorbanza del campione è espressa in relazione al calibratore del cut-off del dosaggio. In tal caso, valori indice di <0,8 o di >1,2 indicano rispettivamente negatività o positività del campione. Il risultato è equivoco se il valore indice è compreso nel range 0,8-1,2 (compresi).

Indice =
$$\frac{\text{Assorbanza del controllo/campione}}{\text{Assorbanza media del calibratore di cut-off (COC)}}$$

I campioni che non risultano né reattivi (positivi), né non reattivi (negativi) sono considerati equivoci e devono essere nuovamente testati. Se la ripetizione del test produce un risultato equivoco, è necessario raccogliere un secondo campione dopo 7-14 giorni. Se il secondo campione fornisce un risultato equivoco, esso può essere considerato non reattivo (negativo) per le IgG anti-HHV-8; tuttavia se si sospetta una infezione recente, il risultato può essere confermato utilizzando un metodo di analisi alternativo.

Criteria del controllo di qualità

Per determinare la validità dei risultati del test, è necessario utilizzare sempre il controllo positivo e il controllo negativo. Per essere considerati validi, i risultati del dosaggio devono rispondere ai seguenti criteri:

1. L'indice medio del controllo positivo è maggiore o uguale a un indice di 1,2.
2. L'indice medio del controllo negativo è minore di un indice di 0,8.

Se i suddetti criteri non sono soddisfatti, il dosaggio non è considerato valido e deve essere ripetuto.

Restrizioni nell'uso

- Nel diagnosticare l'infezione da HHV-8, è necessario correlare i risultati del dosaggio con il profilo clinico ed epidemiologico del paziente e con altri risultati clinici di laboratorio.
- Un risultato di non reattività (negativo) non esclude la possibilità di una infezione da HHV-8. Lo sviluppo di una risposta anticorpale rilevabile può presentarsi alcuni giorni dopo l'infezione. In caso di sospetta infezione da HHV-8, in seguito a un risultato negativo occorre ripetere il test due settimane dopo.
- I dati disponibili per supportare l'interpretazione dei risultati dei test realizzati su altri liquidi corporei o su pool di plasma/siero non sono sufficienti.
- La prestazione del test può essere compromessa da qualsiasi modifica apportata alla procedura, all'interpretazione o alle precauzioni raccomandate.
- La prestazione del dosaggio è stata convalidata testando i controlli in doppio ed i campioni in singolo.

Valori previsti

Sieroprevalenza

La prevalenza della malattia si determina solitamente dopo aver testato estensivamente i livelli di anticorpi in popolazioni distinte, in base all'età, al sesso, alla provenienza geografica e alla condizione socio-economica.

La sieroprevalenza dell'HHV-8 tra i donatori di sangue rientra in un range del 5-10% negli Stati Uniti e nel Nord Europa⁽⁴⁾, del 10-35% in Italia e nei paesi mediterranei⁽⁵⁾, e raggiunge più del 50% in molte popolazioni africane⁽⁶⁾.

Prestazioni del test

Sensibilità e specificità

Per determinare la sensibilità del kit Human Herpesvirus-8 IgG EIA, è stata testata una serie di 166 campioni. I campioni testati erano caratterizzati dai sintomi clinici associati all'infezione da HHV-8 e al sarcoma di Kaposi. Una parte di questi campioni è stata inoltre testata mediante IFA IgG anti-HHV-8 ed è risultata positiva. Per determinare la specificità del kit Human Herpesvirus-8 IgG EIA, è stata testata una serie di 114 campioni. 114 di questi campioni erano costituiti da siero umano normale. Tutti i campioni erano risultati negativi ai test eseguiti con differenti tipi di dosaggio di IgG anti-HHV-8 disponibili in commercio.

HHV-8 Status	Positivi	Negativi	Casi equivoci	Totale
Positivi	150	2	14	166
Negativi	3	106	5	114
Totale	153	108	19	280

Tabella 1: sensibilità e alla specificità sono stati calcolati.

Sensibilità: $(150/166) \times 100 = 90.4\%$

Specificità: $(106/114) \times 100 = 93\%$

Percentuale di accordo: $256/280 = 91.4\%$

Sensibilità = Veri positivi (VP) diviso (VP + Falsi negativi + Casi dubbi) x 100

Sensibilità = $(150/166) \times 100 = 90.4\%$

Specificità = Veri negativi (VN) diviso (VN + Falsi positivi + Casi dubbi) x 100

Specificità = $(106/114) \times 100 = 93\%$

Riproducibilità intra-dosaggio

È stata testata una serie di campioni di siero che presentava livelli di IgG anti-HHV-8 in un range da leggermente reattivo a fortemente reattivo; ciascun campione è stato testato per un totale di venti volte. I campioni replicati sono stati testati su tre piastre ELISA provenienti da tre diversi lotti di verifica del prodotto. I valori di OD ottenuti sono stati sommati, e sono stati calcolati il valore medio di OD, la deviazione standard (SD) e il coefficiente di variazione percentuale (%CV), come indicato nella tabella 2. Gli stessi risultati sono presentati in termini di valori indice del dosaggio nella tabella 3.

Il CV percentuale, espresso in termini di OD (indici) rientrava in un range (7.28%) da un campione a forte reattività (SR) a (8.022%) un campione debole reattività (WR).

	1			2			3		
	OD	SD	% CV	OD	SD	% CV	OD	SD	% 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

Tabella 2: riproducibilità intra-dosaggio espressa in termini di densità ottica (OD); la riproducibilità è stata calcolata su 20 replicati di ciascuno dei 3 diversi campioni di siero che presentavano livelli di IgG anti-HHV-8 in un range da debole reattività a forte reattività; i campioni provenivano da 3 lotti differenti. SR: forte reattività; WR: debole reattività.

	VFB1			VFB2			VFB3		
	indice	SD	% CV	indice	SD	% CV	indice	SD	% 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

Tabella 3: riproducibilità intra-dosaggio espressa in termini di valore indice; la riproducibilità è stata calcolata su 20 replicati di ognuno di 3 diversi campioni di siero che presentavano livelli di IgG anti-HHV-8 in un range da debole reattività a forte reattività; i campioni provenivano da 3 lotti diversi. SR: forte reattività; WR: debole reattività.

Riproducibilità inter-dosaggio:

Una serie di campioni di siero che presentava livelli di IgG anti-HHV-8 in un range da non reattivo a forte reattività è stata testata in duplicato in sette dosaggi con tre diversi operatori. I campioni sono stati testati su tre lotti di verifica del prodotto e la riproducibilità inter-dosaggio è stata determinata per combinazione dei risultati. Ogni campione è stato testato n=10 volte. I valori di OD ottenuti sono stati sommati, e sono stati calcolati il valore medio di OD, la deviazione standard (SD) e il coefficiente di variazione percentuale (%CV), come indicato nella tabella 4. Gli stessi risultati sono presentati in termini di valori indice del dosaggio nella tabella 5.

Il CV percentuale, espresso in termini di OD (indici) rientrava in un range da (7.04%) un campione a forte reattività (SR) a (15.84%) un campione a debole reattività (WR).

Campione	OD media	SD	%CV	n
SR	1.429	0.101	7.04	10
SR	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

Tabella 4: riproducibilità inter-dosaggio espressa in termini di densità ottica (OD) per 10 dosaggi di ognuno di 5 diversi campioni di siero che presentavano livelli di IgG anti-HHV-8 in un range da non reattivo a forte reattività; i campioni provenivano da 3 lotti differenti ed sono stati testati in duplicato. SR: forte reattività; WR: debole reattività, UR: non reattivo.

Campione	Indice	SD	%CV	n
SR	8.397	0.704	8.38	10
SR	2.934	0.436	14.87	10
WR	1.879	0.323	17.21	10
UR1	0.342	0.046	13.54	10
UR2	0.361	0.064	17.83	10

Tabella 5: riproducibilità inter-dosaggio espressa in termini di indice per 10 dosaggi di ognuno di 5 diversi campioni di siero che presentavano livelli di IgG anti-HHV-8 in un range da non reattivo a forte reattività; i campioni provenivano da 3 lotti differenti e sono stati testati in duplicato. SR: forte reattività; WR: debole reattività, UR: non reattivo.

Cross-reattività:

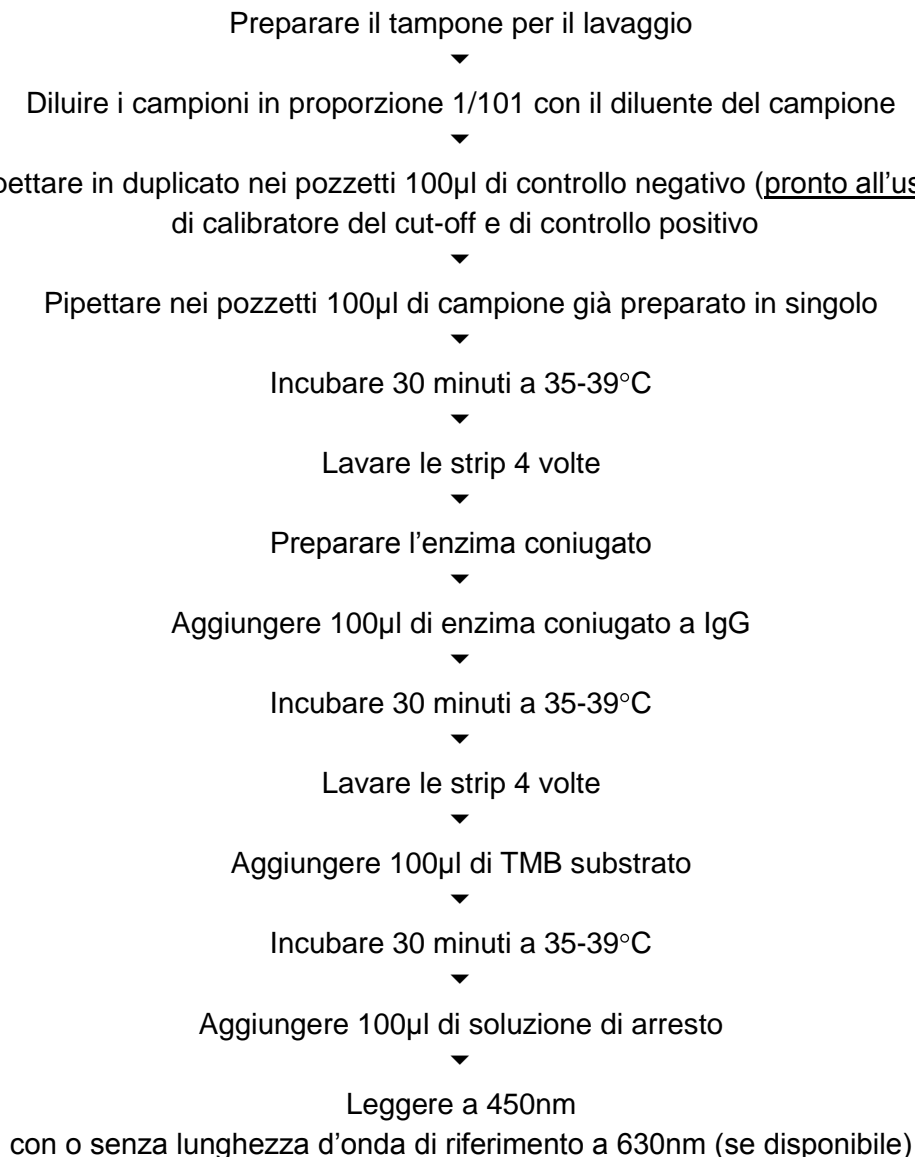
76 campioni di siero sono stati sottoposti a screening allo scopo di determinare la specificità del kit Human Herpesvirus-8 IgG EIA di Biotrin. Tutti i campioni sono stati ottenuti da pazienti ai quali erano stati diagnosticate le seguenti malattie:

Virus	Numero di positivi
Lupus eritematoso	0/5
Artrite reumatoide (RA)	0/3
Fattore reumatoide (RF)	0/5
Positività agli ANA	1/7
IgG contro la malattia di Lyme	0/4
IgG anti-EBV	2/24
IgG anti-rosolia	0/5
IgG anti-CMV	0/5
IgG anti-VZV	2/5
HCV	0/2
HIV	0/5
HTLV	0/2
IgG anti-HSV	0/4

Tabella 6: n = 76 campioni con potenziale cross-reattività testati per rilevare un legame non specifico. I risultati mostrano il numero di campioni testati e il numero di falsi positivi.

Riassunto della procedura del kit Human Herpesvirus- 8 IgG EIA

Prima di eseguire il dosaggio, leggere interamente il foglio illustrativo del prodotto. Il presente riassunto è destinato esclusivamente a una consultazione rapida.



Bibliografia

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.

Interpretazione dei simboli

Dispositivo medico diagnostico *in-vitro*

IVD

Codice del lotto

LOT

Numero di codice

REF

Limite di temperatura



Da usare entro



Produttore



Nocivo se ingerito.
Il contatto con gli acidi libera
gas molto tossici.



Istruzioni per l'uso



Altri prodotti Biotrin

Biotrin International offre una gamma unica di dosaggi per herpesvirus umano, indicata per la diagnosi di laboratorio di routine

Cat #:	Description	Assay Format
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 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



Per informazioni supplementari su questo o su qualsiasi altro prodotto si rimanda al nostro sito web

www.biotrin.com