

PORTUGUÊS

Código No: V19HHV8
Formato: 96 well plates
HHV-428-03



Human Herpesvirus-8 IgG EIA

Um imunoensaio enzimático para a detecção qualitativa de anticorpos Human Herpesvirus-8 no soro e plasma humanos.



Indice

Indicações de utilização

Introdução

Princípio do ensaio

Precauções

Segurança

Procedimentos

Componentes do Kit

Materiais fornecidos

Materiais adicionais necessários

Conservação e Estabilidade

Recolha e Conservação de Amostras

Preparação do Reagente e da Amostra

Procedimento do Ensaio

Interpretação de Resultados

Critérios de Controlo de Qualidade

Limitações de Utilização

Valores esperados

Características de Desempenho

Resumo do Procedimento de Human Herpesvirus- 8 IgG EIA

Referências

Interpretação dos Símbolos

Outros Produtos Biotrin

Indicações de utilização

O Human Herpesvirus-8 (HHV-8) IgG bi-peptideo destina-se à determinação qualitativa do anticorpo IgG para os antígenos líticos HHV-8 no soro ou plasma humano. A detecção do anticorpo de IgG em HHV-8 em seres humanos pode ser usado como uma ajuda no diagnóstico de infecção primária ou reactivação/reinfecção com este vírus.

Introdução

O Herpesvírus Humano-8 (HHV-8), também conhecido como Herpesvírus Associado com o Sarcoma de Kaposi (KSHV). O vírus é classificado como um herpesvírus gama (gênero radinovirus) e parece-se com o EBV no seu tropismo para células B e a sua capacidade para existir em estado latente. Existe agora uma evidência epidemiológica muito forte do papel etiológico do HHV-8 na patogénese do Sarcoma de Kaposi (KS)⁽¹⁾. HHV-8 é detectável em todas as formas da doença: KS clássico (uma forma maligna rara que ocorre em homens mediterrânicos), KS africano e endémico, KS associado a transplante e KS associado a SIDA. Anticorpos HHV-8 precede e prevê o desenvolvimento de KS⁽²⁾.

A transmissão através do contacto sexual desempenha um papel importante na disseminação de HHV-8 entre homens homossexuais⁽³⁾. A seroprevalência de HHV-8 entre doadores de sangue, varia entre 5-10% nos Estados Unidos e Europa do Norte⁽⁴⁾, 10-35% na Itália e países mediterrânicos⁽⁵⁾, e mais de 50% em populações africanas⁽⁶⁾.

HHV-8 está também associado a linfomas das cavidades do corpo, também denominados Linfomas de efusão primária (PEL), doença de Castleman's multi-centrica, Linfomas não Hodgkin's, e mieloma múltiplo⁽⁷⁾.

No momento, o diagnóstico para a infecção de HHV-8 pode ser confirmado pela análise de PCR por ensaios imunológicos, por exemplo, IFA e ELISA. No entanto, o DNA de HHV-8 pode ser detectado nas células do sangue periférico de cerca de metade das pessoas infectadas com a utilização de ensaios padrão de PCR⁽⁹⁻¹²⁾. Como os sistemas de detecção de PCR parecem mostrar baixa sensibilidade quando o DNA de células de sangue periférico é usado como matriz, os ensaios sorológicos provaram serem mais úteis para estudos epidemiológicos e diagnóstico de infecção de HHV-8, particularmente por detectarem uma exposição anterior ao vírus^(8,9).

O Biotrin HHV-8 IgG EIA kit está baseado num mix de peptídeos sintéticos que permitem a detecção de anticorpos para as proteínas virais líticas do HHV-8.

Princípio do Ensaio

O BIOTRIN HHV-8 ELISA é um EIA directo baseado na ligação de anticorpos específicos para HHV-8 com os antígenos peptídeos fixados nas tiras da microplaca. Os anticorpos específicos são detectados por um conjugado anti humano IgG Peroxidase, e a subsequente reacção de substrato. O uso de epitópos de peptídeos líticos derivados de proteínas virais diferentes que asseguram ambos uma alta sensibilidade e especificidade. Não há reactividade cruzada com HIV.

Precauções

Segurança

- Utilização exclusiva para diagnóstico *in vitro*.
- Este kit deverá ser utilizado unicamente por pessoal de laboratório qualificado.
- Os reagentes marcados com** são considerados SUBSTÂNCIAS POTENCIALMENTE INFECCIOSAS. Cada amostra de dador, usada na preparação do calibrador (soro positivo) e controlo negativo foi testada, utilizando um método aprovado pelo FDA, para HBsAg e para anticorpos VIH e VCH, apresentando resultados negativos. No entanto, dado que nenhum método pode garantir por completo, a ausência de agentes infecciosos, todos estes reagentes e todas as amostras de pacientes devem ser manuseados em conformidade com os procedimentos de segurança estabelecidos.
- Alguns reagentes contêm Kathon™ CG que pode ser corrosivo. Alguns reagentes contêm timerosal, una sostanza che puo essere tossica se ingerita. A Stop Solution [solução de paragem] contém ácido sulfúrico que é corrosivo. Evite o contacto com a pele e os olhos. Se ocorrer contacto, lave imediatamente com água e procure o médico.
- Alguns reagentes contêm Tiomersal, que pode ser tóxico se for ingerido.
- O substrato contém TMB que pode irritar a pele e as membranas mucosas. Qualquer substrato que entre em contacto com a pele deve ser lavado com água.
- Elimine todas as amostras clínicas, substâncias infectadas ou potencialmente infectas, em conformidade com as boas práticas laboratoriais. Todos os materiais devem ser manipulados e eliminados como se fossem potencialmente infecciosos.
- Resíduos de químicos, preparações e componentes de kit são geralmente considerados como lixo perigoso. Todos estes materiais devem ser eliminados de acordo com procedimentos de segurança.
- Use roupas de protecção, luvas descartáveis de látex, e protecção para os olhos ao manipular amostras e ao realizar o ensaio. Lave muito bem as mãos ao terminar.
- Não pipete os reagentes com a boca e nunca beba ou coma, na bancada de trabalho do laboratório.

Procedimentos

- Ao realizar o ensaio fora do intervalo de tempo e temperatura podem produzir resultar inválidos. Os ensaios que não se enquadrarem dentro dos intervalos de tempo e temperatura têm que ser repetidos.
- Não utilize o kit ou reagentes individuais após ter expirado o prazo de validade.
- Não use amostras nem reagentes contaminados.
- Não misture nem substitua reagentes de kits de lotes diferentes.
- Alterações do protocolo dado podem causar resultados erróneos.
- Permita que todos os reagentes atinjam temperatura ambiente (20 – 25°C) e agite-os bem antes de utilizar.
- Evite deixar reagentes sob luz solar directa e/ou acima de 2-8°C por períodos prolongados.
- É necessária água destilada, de qualidade elevada, ou desionizada para a Solução de Lavagem
- Utilize sempre vidros limpos, preferivelmente descartáveis, para todas as preparações de reagentes.
- Deve tomar-se cuidado para não contaminar componentes e usar sempre pontas novas para cada amostra e/ou componente.

- Remova apenas o volume de conjugado necessário para o ensaio. Não coloque no frasco, o reagente não utilizado, nem pipete directamente do frasco. Pode ocorrer contaminação.
- A distribuição do reagente deve visar o ponto médio do lado dos recipientes de ensaio, tendo cuidado para não arranhar o lado com a ponta da pipeta.
- Não deixe que os poços de ensaio sequem, em momento algum, do procedimento do ensaio.
- Mantenha sempre a superfície superior dos recipientes de ensaio, isenta de gotas. As gotas devem ser secas suavemente, ao ter-se completado a fase de preparação.
- Certifique-se que a superfície do fundo da placa está limpa e seca antes de efectuar a leitura.
- Antes de iniciar o ensaio, deve ser estabelecido um plano de identificação e distribuição.
- Não inactivar o soro através do calor.
- Não retirar a microplaca da sua embalagem de protecção antes de estar pronta para ser utilizada.

Componentes do Kit

Materiais fornecidos

1. Placa ELISA revestida.

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

12 x 8 poços revestidos com peptídeos biotinilados líticos de HHV-8.

2. Controlo positivo**(tampa vermelha).

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

1 x 2ml de soro ou plasma positivo pré diluído num tampão estabilizador (contendo azida de sódio a 0,01% com timerosal 0.01%).

3. Controlo Negativo**(tampa verde).

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

1 x 2ml de soro ou plasma negativo pré diluído num tampão estabilizador (contendo azida de sódio a 0,01% com Kathon™ CG 0.067%).

4. Calibrator Cut-off**(tampa castanha).

CAL

1 x 2ml de soro ou plasma humano positivo fraco pré diluído num tampão estabilizador (contendo azida de sódio a 0,01% com Kathon™ CG 0.067%).

5. Diluente Conjugado enzimático.

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

1 x 17ml de diluente conjugado enzimático IgG (contem 0.01% sulfato de gentamicina com timerosal 0.01%).

6. Conjugado enzimático concentrado.

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

1 x 1.7ml de conjugado enzimático IgG concentrado (contem 0.01% sulfato de gentamicina com timerosal 0.01%).

7. Diluente da amostra pronto a utilizar.

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

1 x 110ml PBS tampão contendo estabilizadores e Kathon™ CG (0.067%).

8. Concentrado de lavagem.

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

1 x 55ml solução salina concentrada (25x) tamponada com Tris com Tween20 (2,75%) e Kathon™ CG (0.067%).

9. Substrato.

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

1 x 17ml de solução de tetrametilbenzideno (TMB).

10. Solução de paragem.

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

1 x 17ml de 0.5M H₂SO₄.

11. Instruções de utilização.



**** Material Potencialmente Infeccioso**

Kathon™ CG é uma marca registada de Rohm and Haas Company.

Materiais adicionais necessários

- Equipamento de recolha de soro.
- Água destilada de alta qualidade ou desionizada.
- Utensílios de laboratório volumétricos limpos.
- Tubos de ensaio ou equivalente para preparação de amostras.
- Provetas graduadas.
- Pipetas, micropipetas e pontas descartáveis de precisão, para distribuírem volumes de 10µl, 100µl, 1ml e 5ml.
- Tampa de plástico ou fita vedante para microplaca.
- Cronómetro.
- Dispositivo de lavagem manual ou automático.
- Incubadora de 35-39°C.
- Toalhas de papel ou papel absorvente.
- Leitor de placa ELISA com filtro de 450nm (filtro adicional de 630 – 650nm é opcional).

Conservação e Estabilidade

- Kit é estável até à data de prazo de validade indicado no rótulo externo da embalagem se for conservado entre 2 – 8°C.
- Tiras de 8-poços devem ser guardadas na bolsa com a saqueta de dessecante.
- Todos os componentes não usados devem ser colocados novamente a temperaturas entre 2-8°C, imediatamente após utilização.
- A solução de lavagem reconstituída é estável durante um mês quando conservada entre 2-8°C.

Recolha e Conservação de Amostras

Tanto o soro como o plasma podem ser usados no Biotrin HHV-8 IgG EIA. Uma vez recolhido, via venosa, o sangue deve deixar-se coagular a temperatura ambiente (20-25°C) seguido por centrifugação a 1500 x g durante 10 minutos. Se não for testado imediatamente dentro de 8 horas, o soro ou plasma pode ser colocado a 2-8°C durante 2 – 3 dias ou congelado a –20°C se for necessária a conservação por um período de tempo alargado, ou se é para enviar (as amostras são estáveis a –20°C durante pelo menos 1 ano). Plasma com citrato é compatível com procedimento de teste. Soros microbiologicamente contaminados não devem ser utilizados no teste. Finalmente, as amostras de teste não devem ser sujeitas a ciclos repetidos de congelamento - descongelamento.

Nota: Recomenda-se que as amostras não devam ser inactivadas por calor.

Preparação do Reagente e da Amostra

Preparação dos reagentes

- Os volumes de reagente são baseados no teste individual da amostra.
- Solução de Lavagem
Para cada tira de 8-poços, adicione 4ml de Concentrado de Lavagem para 96ml de água desionizada. Reagente preparado é estável durante 1 mês se conservado entre 2-8°C.
- Preparação do conjugado enzimático
Para cada tira de 8 poços adicione 100µl de Conjugado enzimático e 900µl de diluente de conjugado enzimático. A solução preparada não deve ser armazenada.

Todos os restantes reagentes são fornecidos prontos a utilizar e estão na diluição de trabalho.

Preparação da amostra

Para cada amostra, dispense 1ml de Diluente da Amostra num tubo de ensaio rotulado ou equivalente. Adicione 10µl de amostra de soro ou plasma e misture.

Nota: As amostras diluídas não devem ser guardadas, se for necessário repetir o teste use uma preparação fresca.

Procedimento do Ensco

1. Permita que todos os componentes alcancem a temperatura ambiente (20-25°C) antes de serem utilizados.
2. Determine o número necessário de 8-poços. Estabeleça um plano de identificação e distribuição para controlos e amostras como se indica na Figura 1 (abaixo). A primeira tira é adequada para testar amostras de 2 doentes, cada faixa adicional permite testar amostra de mais 8 doentes.

	Figure 1	Tira 1
A		Controlo Negativo
B		Controlo Negativo
C		CalibradorCut-Off
D		CalibradorCut-Off
E		Controlo Positivo
F		Controlo Positivo
G		Paciente No. 1
H		Paciente No. 2

3. Retire o número desejado de tiras de 8-poços, coloque-as no suporte plástico da microplaca, e cubra com uma tampa plástica ou com o tira autocolante. Volte a colocar as tiras restantes no saco e feche com o dessecante.
4. Prepare a Solução de Lavagem (ver "Preparação do Reagente e da Amostra").
5. Prepare as amostras dos pacientes (ver "Preparação do Reagente e da Amostra").
6. Retire a protecção das tiras de 8-poços e pipete 100µl, em duplicado, do controlo negativo pronto a usar, calibrador Cut-Off e Controlo Positivo pronto a usar e 100µl das amostras preparadas do doente para os poços.
7. Cubra os poços com uma tampa plástica ou com o tira autocolante e incube durante 30 minutos à temperatura de 35-39°C.
8. Retire a tampa e lave bem cada poço, 4 vezes com Solução de Lavagem (250 - 300µl). Após a lavagem, bata a placa contra a toalha de papel absorvente.
9. Prepare Conjugado enzimático (ver "Preparação do Reagente e da Amostra").
10. Pipete 100µl de Conjugado Enzimático IgG em todos os poços, imediatamente após ter sido completada a fase de lavagem.
11. Cubra os poços com uma tampa plástica ou com o tira autocolante e incube durante 30 minutos à temperatura de 35-39°C.
12. Retire a tampa e lave bem cada poço 4 vezes com Solução de Lavagem (250 -300µl). Após lavar, bata com firmeza a placa contra uma toalha de papel absorvente.

13. Pipete 100µl de Substrato TMB em todos os poços imediatamente após ter completado a fase de lavagem.
14. Cubra os poços com uma tampa plástica ou com o tira autocolante e incube durante 30 minutos à temperatura de 35-39°C.
15. Pipete 100µl de Solução de Paragem em todos os poços e misture. Certifique-se que cada adição é feita na mesma sequência e intervalo de tempo como a adição de substrato.
16. Leia imediatamente com um leitor de microplacas ELISA.

Nota: Recomenda-se a leitura em duplo comprimento de onda, a 450nm com 630nm como referência de comprimento de onda. Se esta função não estiver disponível no leitor de placa ELISA use uma leitura única para o comprimento de onda a 450nm.

Interpretação de Resultados

A presença ou ausência de anti-HHV-8 IgG é determinada em relação ao Calibrador Cut-Off (COC).

Valor do Calibrador Cut Off

- 1) Determine o valor COC através do teste, em duplicado, do calibrador Cut Off em cada ensaio.
- 2) Determine o valor médio de DO, este valor é o valor COC e deverá ser usado para determinar os valores dos índices.
- 3) Um valor de índice é calculado pela divisão do valor do rácio de absorvância amostra/controlo pelo valor COC.

Interpretação (1): Absorvância

Amostras com absorvância maior que $COC \times 1.2$ são consideradas reactivas (positivas) para HHV-8 IgG.

Amostras com absorvância menor que $COC \times 0.8$ são consideradas não reactivas (negativas) para HHV-8 IgG.

Amostras com absorvância maior que ou igual a $COC \times 0.8$ e menor que $COC \times 1.2$ são consideradas equivocadas.

Interpretação (2): Valor Índice

A comparação dos dados entre diferentes ensaios é facilitada através do uso de valores índice, em que a absorvância da amostra é expressa em relação ao calibrador cut-off. Neste caso, um valor de índice <0.8 ou >1.2 indicam amostras negativas ou positivas, respectivamente. Resultados duvidosos são indicados através de um valor de índice no intervalo de 0.8 a 1.2 inclusive.

$$\text{índice} = \frac{\text{Controlo/ Absorvância da amostra}}{\text{Média da absorvância Calibrador Cut-off (COC)}}$$

Amostras que não são nem reactivas (positivas) nem não reactivas (negativas) são consideradas duvidosas, e deverão ser testadas novamente. Se o resultado for novamente duvidoso deverá ser colhida uma segunda amostra 7 a 14 dias mais tarde. Um resultado duvidoso com uma segunda amostra pode ser considerado não reactivo (negativo) para anti-HHV-8 IgG, no entanto, se há suspeita de uma infecção recente, pode ser confirmada utilizando um método alternativo.

Crítérios de Controlo de Qualidade

O controlo positivo e negativo devem ser sempre incluídos para determinar a validade dos resultados do ensaio. Os resultados de um ensaio são considerados válidos se cumprirem os seguintes requisitos:

1. O índice médio do controlo positivo é maior ou igual a 1.2.
2. O índice médio do controlo negativo é menor que 0.8.

Se estes critérios não se verificarem, o ensaio deve ser considerado inválido e deverá ser repetido.

Limitações de utilização

- No diagnóstico da infecção por HHV-8 os resultados devem ser correlacionados com o perfil clínico e epidemiológico do paciente e com os outros resultados laboratoriais.
- Um resultado não reactivo (negativo) não exclui a possibilidade de infecção por HHV-8. O desenvolvimento de uma resposta de anticorpos detectável pode ocorrer alguns dias após a infecção. Se no caso de suspeita de infecção por HHV-8, surgir um resultado negativo, o teste deverá ser repetido duas semanas mais tarde.
- Não existe informação suficiente para suportar a interpretação de resultados de testes executados com outros fluídos corporais ou "pools" de soro/plasma.
- A performance do teste pode ser afectada por um desvio no procedimento, na interpretação ou nas precauções recomendadas.
- A performance do ensaio foi validada com base no uso dos controlos em duplicado e das amostras individualmente.

Valores Esperados

Seroprevalência

A prevalência da doença é normalmente determinada após testes exaustivos dos níveis de anticorpos, numa determinada população, de acordo com a idade, sexo, localização geográfica, e situação sócio-económica.

A seroprevalência de HHV-8 entre doadores de sangue varia entre 5-10%, nos EUA e N. Europa⁽⁴⁾, 10-35% em Itália e países Mediterrânicos⁽⁵⁾, até mais de 50% em muitas populações Africanas⁽⁶⁾.

Características de Desempenho

Sensibilidade e Especificidade

Foi testado um painel de 166 amostras para determinar a sensibilidade do ensaio de HHV-8 IgG. As amostras testadas foram caracterizadas pelos sintomas clínicos associados com infecção por HHV-8 e Sarcoma de Kaposi. Algumas destas amostras foram também testadas por HHV-8 IgG IFA, e obtiveram-se resultados positivos. Um painel de 114 amostras foi testado para determinar a especificidade do HHV-8 IgG EIA. 114 destas amostras eram soro humano normal. Todas as amostras foram caracterizadas como negativas utilizando diferentes ensaios comerciais para HHV-8 IgG.

HHV-8 Estado	Positivo	Negativo	Duvidoso	Total
Positivo	150	2	14	166
Negativo	3	106	5	114
Total	153	108	19	280

Tabela 1: Os resultados de Sensibilidade e Especificidade foram calculados.

Sensibilidade: $(150/166) \times 100 = 90,4\%$

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

Concordância: $(256/280) \times 100 = 91,4\%$

Sensibilidade = $\frac{\text{Positivos Verdadeiros (TP)}}{\text{Positivos Verdadeiros (TP) + Falsos Negativos + Duvidosos}} \times 100 \%$

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

Especificidade = $\frac{\text{Negativos Verdadeiros (TN)}}{\text{Negativos Verdadeiros (TN) + Falsos Positivos + Duvidosos}} \times 100 \%$

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

Reprodutibilidade Intra-ensaio

Séries de amostras de soro com diferentes níveis de HHV-8 IgG, variando de reactividade fraca a reactividade forte, foram testadas num total de vinte vezes. Replicados foram testados em três placas ELISA de três grupos de verificação respectivamente. As densidades ópticas resultantes foram reunidas e foram calculados o valor médio de DO, desvio standard (SD) e percentagem do coeficiente de variação (%CV), tabela 2. Os mesmos resultados foram apresentados em termos de valores de Índices na Tabela 3.

A percentagem CV expressa em termos de DO (índices) variam entre 7.28% numa amostra com reactividade forte (SR) e 8.022% numa amostra com reactividade fraca (WR).

Amosta	1			2			3		
	OD Média	SD	% CV	OD Média	SD	% CV	OD Média	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

Tabela 2: Reprodutibilidade Intra-ensaio expressa em termos de densidade óptica (OD) em 20 replicados de cada uma das 3 amostras de soro diferentes, com níveis de HHV-8 IgG variando entre reactividade forte e reactividade fraca, nos 3 grupos diferentes. SR: reactividade forte WR: reactividade fraca.

Amosta	1			2			3		
	Index Média	SD	% CV	Index Média	SD	% CV	Index Média	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

Tabela 3: Reprodutibilidade inter ensaios expressa em termos de densidade optica (DO), para 20 ensaios, cada com 3 amostras diferentes de soros, com níveis diferentes de anticorpos IgG anti HHV-8, que variam entre não reactivas a fortemente reactivas. SR: Fortemente reactivas, MR: Reactividade média, WR: Reactividade fraca e UN: Não reactivas.

Reprodutibilidade Inter ensaio:

Séries de amostras de soro com diferentes níveis de HHV-8 IgG, variando de reactividade fraca a reactividade forte, foram testadas foram testadas em duplicado em sete ensaios com três diferentes operadores. As amostras foram testadas com produtos de três lotes diferentes e os resultados foram combinados de forma a determinar a reprodutibilidade inter ensaio. Cada amostra foi, portanto, testada n=10 vezes. Os valores de DO resultantes foram reunidos reunidas e foram calculados o valor médio de DO, desvio

standard (SD) e percentagem do coeficiente de variação (%CV), Tabela 4. Os mesmos resultados foram apresentados em termos de valores de índice na Tabela 5.

A percentagem CV expressa em termos de DO (índices) variam entre 7.04% numa amostra com reactividade forte (SR) e 15.84% numa amostra com reactividade fraca (WR).

Amostra	DO Média	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

Tabela 4: Reprodutibilidade Inter-ensaio expressa em termos de densidade óptica (OD) para 10 ensaios para cada 5 amostras de soro diferentes, variando nos níveis de HHV-8 IgG, de não reactivo a reactivo forte. SR: reactividade forte WR: reactividade fraca, UR: Não reactivas.

Amostra	Índice	SD	%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
UR1	0.342	0.046	13.54	10
UR2	0.361	0.064	17.83	10

Tabela 5 Reprodutibilidade Inter-ensaio expressa em termos de índices para 10 ensaios para cada 5 amostras de soro diferentes, variando nos níveis de HHV-8 IgG, de não reactivo a reactivo forte. SR: reactividade forte MR: reactividade fraca, WR: reactividade fraca, UR: Não reactivas.

Reacções cruzadas:

76 amostras de soro foram testadas de forma a estabelecer a especificidade do Biotrin HHV-8 IgG EIA. Todas as amostras foram obtidas de pacientes com as seguintes doenças diagnosticadas:

Virus	Número de Positivos
Lupus Erythematosus	0/5
Rhematoid Arthritis (RA)	0/3
Rhematoid Factor (RF)	0/5
ANA Positive	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

Table 6: n = 76 amostras potencialmente susceptíveis de reacção cruzada foram testadas para determinar ligações não específicas. Os resultados mostram o número de amostras testadas e o número de falsos positivos.

Resumo do Procedimento de Human Herpesvirus- 8 IgG EIA

Por favor, leia o folheto de instruções do produto, na sua totalidade antes de iniciar o ensaio. Este resumo é apenas para referência rápida.

Prepare a Solução de lavagem



Dilua as amostras de 1 em 101 no Diluente de Amostra



Pipete em duplicado 100µl de Controlo Negativo
Calibrador cut-off e Controlo Positivo (prontos a usar)



Pipete 100µl de amostras preparadas nos poços



Incube durante 30 minutos @ 35-39°C



Lave as tiras 4 vezes



Prepare o Conjugado de Enzima



Adicione 100µl de Conjugado de Enzima IgG



Incube durante 30 minutos @ 35-39°C



Lave as tiras 4 vezes



Adicione 100µl de substrato TMB



Incube durante 30 min @ 35-39°C



Adicione 100µl de solução de paragem











Leia a 450nm

Com ou sem referência de 630nm (se disponível)

Referências

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.

Interpretação dos Símbolos

Dispositivo medico para diagnostico <i>In-vitro</i>	
Código de Lote	
Código do produto	
Limite de Temperatura	
Ao final de	
Fabricante	
Perigoso se engolido. O contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.	
Instruções de utilização	

Outros Produtos Biotrin

A Biotrin International oferece uma gama única de ensaios para Herpesvírus Humano, para diagnósticos de laboratório de rotina

Codigo #:	Descrição	Formato do teste
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



**Para mais informações sobre este produto ou quaisquer outros Produtos Biotrin
queira visitar o nosso website**

www.biotrin.com