

HHV-6 IgG IFA, Cat. No.: V3HHV6, HHV-425-03 07/09, CZ

The logo for Biotrin, featuring a stylized blue and red circular emblem above the word "Biotrin" in a blue serif font.

ČEŠTINA

Katalogové číslo: V3HHV

Formát: 4x10 well slides

HHV-425-03

The Biotrin logo, consisting of a stylized blue and red circular emblem above the word "Biotrin" in a blue serif font.

Lidský herpes virus-6 Imunofluorescenční stanovení IgG

Imunofluorescenční test k detekci protilátek IgG proti lidskému herpes viru -6

The CE mark, consisting of the letters "C" and "E" in a bold, sans-serif font.

OBSAH

Zamýšlené použití

Úvod

Principy testu

Bezpečnostní opatření

Bezpečnost

Postup

Obsah kitu

Dodané materiály

Další požadované materiály

Skladování a stabilita

Sběr a skladování vzorků

Příprava reagensů a vzorků

Postup zkoušky

Interpretace výsledků

Signifikance interpretace

Kritéria kontroly kvality

Očekávané hodnoty

Omezení použití

Výkonové charakteristiky

Shrnutí postupu HHV- 6 IgG IFA

Odkazy na literaturu

Interpretace symbolů

Další výrobky biotrinu

Zamýšlené použití

Biotrin Human Herpesvirus-6 IgG IFA je určen k použití jako imunofluorescenční test *in-vitro* k detekci protilátek IgG proti lidskému herpetickému viru typu 6 (HHV-6) v séru.

Úvod

Lidský herpetický virus typu 6 (HHV-6) poprvé popsán v roce 1986 byl izolován u pacientů trpících lymfoproliferativními chorobami¹. Následně byl HHV-6 popsán jako etiologický agens odpovědný za dětské onemocnění exanthem subitum (Roseola infantum)², a byl asociovaný s řadou jiných chorobných projevů u dětí, včetně fulminantní hepatitidy³, encefalitidy⁴, histiocytické nekrotizující lymfadenitidy⁵ a fatální diseminované infekce⁶.

U dospělých je primoinfekce HHV-6 méně běžná a dokumentovaná evidence ukazuje, že HHV-6 může být přítomen u případů hepatitidy⁷, onemocnění podobnému mononukleóze⁸, atypické polyklonální lymfoproliferace⁹, syndromu povirové chronické únavy¹⁰, sklerózy multiplex¹¹, karcinomu v dutině ústní, karcinomu děložního krčku a suprese kostní dřeně u pacientů s transplantací kostní dřeně¹⁴.

Při virologických a serologických zkouškách bylo zjištěno, že HHV-6 je v lidské populaci všudypřítomen, přičemž infekce se typicky vyskytuje v raném dětství a malý počet dospělých zůstává náchylných k primoinfekci. Hlášená prevalence protilátek je vyšší než 80% u pacientů starších než 2 roky věku¹⁵. Avšak i když výskyt protilátek proti HHV-6 je vysoký, hladina protilátek se po infekci snižuje na nízké titry. Vysoké hladiny protilátek IgG proti HHV-6 v séru mohou sloužit jako indikace nedávného působení HHV-6.

Princip testu

Systém Biotrin HHV-6 IFA používá metody nepřímé imunofluorescenční detekce protilátek a stanovení titru. Vzorky séra nebo plazmy pacienta jsou inkubovány spolu s imobilizovaným antigenem HHV-6, který byl stabilizován na mikroskopickém sklíčku. Jestliže protilátky IgG proti viru HHV-6 jsou ve vzorku přítomny, vytvoří se stálý komplex s antigenem. Na navázanou protilátku se potom působí kozím antilidským IgG konjugovaným s fluoresceinem a tento komplex se poté zviditelní pomocí fluorescenčního mikroskopu. Pozitivní reakci protilátek ukazuje jasně zelená fluorescence.

Bezpečnostní opatření

Bezpečnost

- Pouze pro diagnostické použití *in-vitro*.
- Tento kit může používat výlučně kvalifikovaný laboratorní personál.
- Kit obsahuje materiál lidského původu, který je považován za POTENCIÁLNĚ BIOLOGICKY NEBEZPEČNÝ MATERIÁL. Byly zkoušeny kontrolní vzorky a bylo zjištěno, že jsou negativní na HBsAg a protilátky proti HIV 1/2 a HCV. Jelikož však žádná zkušební metoda nemůže nabídnout naprostou jistotu nepřítomnosti viru, pracujte s těmito kontrolními vzorky jako s potenciálně infekčními.
- Některé reagenty obsahují Thiomersal, který může být při požití toxický. Vyhněte se kontaktu s Evansovou modří, jelikož jde o potenciální karcinogen. Dojde-li ke kontaktu s pokožkou, omyjte povrch pokožky velkým množstvím vody.
- Některé reagenty obsahují azid sodný, který může vytvářet potenciálně výbušně kovové azidy při styku s olověnými a měděnými instalacemi. Při likvidaci je nutno reagenty spláchnout velkým množstvím vody, aby se zabránilo tvoření azidů.
- Likvidujte veškeré klinické vzorky, infikovaný nebo potenciálně infikovaný materiál podle osvědčených laboratorních zásad. S veškerými takovými materiály je nutno zacházet a likvidovat je, jako by byly potenciálně infekční.
- Zbytky chemikálií, přípravků a součástí kitu jsou zpravidla považovány za nebezpečný odpad. Veškeré takovéto materiály je nutno likvidovat podle stanovených bezpečnostních postupů.
- Při manipulaci se vzorky a při provádění zkoušky používejte ochranný oděv, latexové rukavice na jedno použití a ochranu očí. Po skončení práce si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte materiály ústy a nikdy nejezte a nepijte u laboratorního stolu.

Postup

- Nepoužívejte kit ani jednotlivé reagenty po jejich datu expirace.
- Nesměšujte reagenty z kitů s různými čísly šarží.
- Nepoužívejte kontaminované vzorky nebo reagenty.
- Odchyly od tohoto protokolu mohou vést k mylným výsledkům.
- Provádění testu mimo časové a teplotní rozsahy může vést k mylným výsledkům. Testy prováděné mimo stanovené časové a teplotní rozsahy musí být opakovány.
- Požaduje se vysoká kvalita destilované nebo deionizované vody na promývací koncentrovaný pufr. Použití nekvalitní nebo kontaminované vody může vést k neúspěchu. Zajistěte, aby byl důkladně promíchán koncentrovaný promývací pufr.
- Vytemperujte všechny reagenty na pokojovou teplotu (20-25°C) a před použitím je dobře promíchejte.
- Nevyjímejte mikroskopická sklíčka z jejich ochranného obalu dříve, než je budete používat. Umožněte, aby se mikroskopická sklíčka temperovala na teplotu místnosti a teprve potom otevřete jejich ochranný obal, aby se tak ochránila proti kondenzaci.
- Nenechávejte reagenty po dlouhou dobu na přímém slunci a/nebo při teplotě nad 2-8°C
- Při barvení většího množství vzorků zabraňte křížové kontaminaci mezi vzorky tím, že jamky od sebe oddělíte voskovou tužkou.
- Použití většího množství montovacího média může způsobit rozmazanou fluorescenci.

- Vždycky používejte pro přípravu reagensů čisté skleněné nádoby, nejlépe na jedno použití.
- Je nutno dávat pozor, aby nedošlo ke kontaminaci jednotlivých složek; na každý vzorek a složku použijte vždy čisté pipety.
- Nepoškrabejte jamky špičkou pipety nebo kapátka.
- Dříve než se zkouškou začnete, je nutno vypracovat plán identifikace a distribuce.

Obsah kitu

Dodané materiály

1. Mikroskopická sklíčka s antigenem HHV-6.

SLIDE

4 sklíčka x10 jamek, na kterých jsou stabilizovány lidské lymfocyty infikované HHV-6. Sklíčka jsou po vyjmutí z ochranného obalu připravena k upotřebení.
2. Pozitivní kontrolní vzorek**:

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

1 x 0,5ml pozitivního kontrolního vzorku protilátky IgG proti HHV-6 Obsahuje 0,1 % azidu sodného (připraven k upotřebení) (modré víčko)
3. Negativní kontrolní vzorek**:

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

1 x 0,5ml negativního kontrolního vzorku protilátky IgG proti HHV-6 Obsahuje 0,1% azidu sodného. (připraven k upotřebení) (červené víčko)
4. Konjugát fluoresceinu**

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

1 x 1,5ml kozího (inaktivovaného) antilidského IgM (těžký a lehký řetězec) konjugovaného fluoresceinem s Evansovou modří a rhodaminovými kontrastními barvivy. Obsahuje 0,1% azidu sodného (připraven k upotřebení) (žluté víčko).
5. Montovací médium:

MM

1 x 2ml tris-pufrovaný glycerol. Obsahuje Thiomersal (0,01%). (připraven k upotřebení) (oranžové víčko).
6. Promývací koncentrovaný pufr (PBS):

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

1 x sáček. Každý uzavíratelný balíček z hliníkové fólie obsahuje 10 tablet PBS. Z každé tablety se připraví 100ml 1 x koncentrovaného promývacího pufru.
7. Savé papíry na sklíčka (blottery):

BLT

Savé papíry s předem připravenými otvory na sušení masky podložního sklíčka mikroskopu.
8. Návod k použití:



** Potenciálně biologicky nebezpečný materiál.

Další požadované materiály

- Vybavení na sběr séra.
- Držák na podložní sklíčka mikroskopu a miska pro mytí sklíček.
- Vysoce kvalitní destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Čisté odměrné laboratorní nádoby.
- Zkumavky nebo ekvivalent pro přípravu vzorků.
- Odměrné válce.
- Přesné pipety, mikropipety a špičky na jedno použití na aplikaci 5µl až 50µl a 50µl až 200µl.
- Minutka.
- Inkubátor 35-39°C.
- Papírové ručníky nebo savý papír.
- Zkumavky na ředění sér a zkumavky do miniodstředivky (0,5ml).
- Stolní miniodstředivka.
- Inkubační miska obsahující navlhčený hedvábný papír.
- Stříčky a mycí miska.
- Mikroskopická krycí sklíčka: Tloušťka 22 X 50mm čís. 1.
- Fluorescenční mikroskop s odpovídající kombinací filtrů pro FITC (budící filtr 495nm, bariérový filtr 515nm), doporučuje se zdroj halogenového světla.
- Vosková tužka.

Skladování a stabilita

- Kit je stabilní až do data expirace uvedeného na štítku vnější krabičky za předpokladu, že je uložen při teplotě 2-8°C. Poznámka: Savé papíry mohou být skladovány při teplotě 2-25°C.
- Nepoužité součásti je nutno vrátit do skladu o teplotě 2-8°C bezprostředně po jejich použití.
- Rekonstituovaný promývací pufr je stabilní až po dobu 4 týdnů, je-li skladován při teplotě 2-8°C.

Sběr a skladování vzorků

- Vzorky je nutno získat za použití aseptických laboratorních technik. Vzorky je možno skladovat až po dobu 1 týdne při teplotě 2-8 °C a po delší dobu při teplotě -20°C. Je nutno se vyhýbat opětovnému zmrazování a rozmrazování.
- Párové vzorky séra a plazmy odebírané po určité časové období, pro průkaz sérokonverze nebo signifikantního zvýšení titru, musí být odebrány s maximálním časovým rozmezím 7-14 dní a musejí být skladovány při teplotě -20 °C. Tyto vzorky je nutno testovat současně.

Příprava reagensí a vzorků

Příprava reagensí

Připravte promývací pufr přidáním 1 tablety PBS do 100 ml čerstvě připravené nebo deionizované vody. Skladujte v čisté uzavřené nádobě při teplotě 2-8 °C až po dobu 4 týdnů. Všechny ostatní reagensie se dodávají hotové a připravené k upotřebení a v pracovním zředění.

Příprava vzorků

Kvalitativní zkouška: Každý vzorek séra zředte PBS v poměru 1:20. Všechny roztoky musejí mít minimální objem 0,1 ml.

Kvantitativní test „Titr“ vzorku je možno stanovit tak, že se připraví série dvojnásobného ředění vzorku v promývacím pufru, přičemž se započne s ředěním vzorku v poměru 1 : 20; pro přípravu každého následného ředění se smísí vždy stejný objem zředěného vzorku a promývacího pufru. Ředění se provádí tak dlouho, dokud se nedosáhne fluorescence stupně „+1“ (viz „Interpretace výsledků“).

Postup zkoušky

Před použitím všechny vzorky temperujte, aby dosáhly vyrovnané pokojové teploty (20-25°C).

1. Příprava podložních sklíček mikroskopu

Vyjměte požadovaný počet podložních sklíček z ochranného obalu a označte místa mezi jamkami voskovou tužkou, aby se tak zabránilo kontaminaci. Do očíslovaných jamek aplikujte 1 kapku (asi 20µl) každého rozředěného testovaného vzorku a 1 kapku (asi 20µl) pozitivních a negativních kontrolních vzorků připravených k upotřebení.

Poznámka: Aplikujte dostatečné množství, aby se každá jamka naplnila, nedopusťte však vzájemnému smíchání obsahu mezi jednotlivými jamkami.

2. Vzorky inkubujte

Inkubujte podložní sklíčko ve vlhké komoře po dobu 30 minut při teplotě 35-39°C.

3. Umyjte podložní sklíčka

Opláchněte podložní sklíčka podél okraje slabým proudem promývacího pufru za použití stříčky. Proud nesměrujte na jamky. Položte sklíčka do promývací misky obsahující promývací pufr na dobu 10 minut při pokojové teplotě (20 - 25°C). Dodanými savými papíry osušte barevnou masku kolem testovacích jamek.

4. Inkubujte s konjugátem

Aplikujte 1 kapku (přibližně 40µl) konjugátu připraveného k upotřebení do každé z testovacích jamek. Inkubujte sklíčka ve vlhké komoře po dobu 30 minut při teplotě 35-39°C.

5. Umyjte podložní sklíčka

Opakujte Krok 3.

6. Aplikujte montovací médium

Aplikujte 1 malou kapku montovacího média do středu každé jamky a přiložte krycí sklíčko.

7. **Prohlédněte sklíčko**

Prohlédněte je ve fluorescenčním mikroskopu při 200-500x zvětšení. Nejlepších výsledků se dosáhne, prohlédnete-li sklíčka okamžitě po ukončení zkoušky. (Abyste dosáhli ekvivalentních výsledků, sklíčka zabalte nebo je udržujte zavlhčená, abyste tak minimalizovali vysychání montovacího média. Skladujte v temnu při teplotě 2-8°C. Odečtete do 3 dnů).

8. **Klasifikace**

Pozitivní reaktivita se může pohybovat ve fluorescenční intenzitě od brilantní po slabou. Klasifikujte fluorescenční reakci podle následující stupnice intenzity: +4 (brilantní), +3 (jasná), +2 (mírná), +1 (slabá).

Interpretace výsledků

Negativní reakce:

Vzorek se považuje za negativní na přítomnost protilátky IgG proti viru HHV-6, jestliže fluorescenční zabarvení infikovaných buněk není přítomno.

Pozitivní reakce:

Pozitivní reakce na protilátky proti HHV-6 se udává pouze v případě, že lze pozorovat v infikovaných buňkách jasně zelenou fluorescenci při zředění $\geq 1:20$. Pozitivní reakce indikuje dřívější infekci HHV-6. Sérokonverze nebo čtyřnásobně a větší zvýšení titru protilátek IgG v párových sérových vzorcích indikuje nedávnou infekci virem HHV-6.

+4 = brilantní zelená fluorescence indikuje velmi vysoký titr reakce protilátek IgG proti HHV-6.

+3 = jasná zelená fluorescence indikuje vysoký titr reakce protilátek IgG proti HHV-6.

+2 = zelená fluorescence indikuje střední titr reakce protilátek IgG proti HHV-6.

+1 = matně zelená fluorescence indikuje slabý titr reakce protilátek IgG proti HHV-6.

Rovněž indikuje konečné rozředění „titru“ daného vzorku.

- Titrace HHV-6 IgG pozitivních vzorků poskytuje kvantitativní informace. V řadě titrací se nejvyšší rozředění séra ukazující reakci „+1“ interpretuje jako konečný titr.
- Aby se zajistila interní kontrola, každá jamka na mikroskopickém sklíčku obsahuje jak buňky infikované HHV-6, tak i buňky neinfikované. Příprava mikroskopického sklíčka tímto způsobem je záměrná. Neinfikované buňky zabarvené kontrastním barvivem červeně poskytují kontrastní pozadí. Přidávají se jako kontrola reakce protilátek proti buněčným jádrům vlastních buněk a anti-cytoplasmických protilátek, které je možno pozorovat u pacientů s autoimunními chorobami.

Signifikance interpretace

U skriningového zředění není zjištěna žádná rozeznatelná fluorescence infikovaných buněk.	Testovaný vzorek je negativní na přítomnost protilátky IgG proti HHV-6.
Náhodné zelené buňky nevykazují žádnou rozeznatelnou fluorescenci infikovaných buněk.	Testovaný vzorek je negativní na přítomnost protilátky IgG proti HHV-6.
U skriningového zředění nebo při vyšším zředění byla zjištěna specifická pozitivní fluorescence infikovaných buněk.	Testovaný vzorek je pozitivní na přítomnost protilátek třídy IgG proti HHV-6, což indikuje dřívější infekci HHV-6. Sérokonverze nebo čtyřnásobné a větší zvýšení titru protilátek IgG v párových sérových vzorcích indikuje nedávnou infekci virem HHV-6.
Zjištěna fluorescence jak u infikovaných tak i neinfikovaných buněk.	Testovaný vzorek vykazuje nespecifickou reakci.

Kritéria kontroly kvality

Každá zkouška musí obsahovat pozitivní kontrolní vzorek a negativní kontrolní vzorek. Výsledky zkoušky jsou považovány za validní, jsou-li splněna následující kritéria:

- 1) HHV-6 IgG pozitivní kontrolní vzorek dodaný s tímto kitem dává intenzitu fluorescence $\geq +2$.
- 2) HHV-6 IgG negativní kontrolní vzorek dodaný s tímto kitem nedává žádnou viditelnou fluorescenci.

Nejsou-li výše uvedená kritéria splněna, zkouška se považuje za nevalidní a musí být opakována.

Očekávané hodnoty

Výskyt protilátek proti HHV-6 je u pacientů starších 2 let vyšší než 80 %. I když je prevalence vysoká, titr protilátek proti HHV-6 se po infekci snižuje na nízké hodnoty. Vysoká hladina IgG může tudíž naznačovat nedávnou infekci. Signifikantní zvýšení hladiny protilátek IgG v párových vzorcích indikuje nedávnou infekci virem HHV-6.

Omezení použití

- Sérologický test jako IFA slouží jako pomůcka k detekci virové infekce, jeho použití by však nemělo být jediným kritériem. Výsledky testu by měly být porovnány s pacientovým klinickým a epidemiologickým profilem a s dalšími klinickými laboratorními výsledky.
- Jediný pozitivní výsledek testu na protilátku IgG proti HHV-6 je signifikantní pouze v tom, že indikuje dřívější kontakt nebo infekci tímto virem. Jediný výsledek je užitečný pro epidemiologické účely. Nesmí se však používat jako indikace současné nebo nedávné infekce tímto virem. Aby se stanovila současná nebo nedávná infekce, je nutno provést současné testování párových vzorků séra odebraných v rozmezí 7-14 dní. Čtyřnásobné nebo vyšší zvýšení titru mezi prvním a druhým vzorkem je indikací současné nebo nedávné infekce.

Výkonové charakteristiky

Sensitivita a specificita

Diagnostická sensitivita

Ze známého souboru pozitivních vzorků bylo testováno 93 vzorků soupravou Biotrin HHV-6 IgG IFA. Všechny 93 vzorků bylo testováno jako pozitivní na protilátky IgG proti HHV-6, což indikuje citlivost 100 %. Skupina pozitivních vzorků byla ověřena pomocí techniky HHV-6 IgG IFA používané v jiném vyhodnocovacím středisku.

$\% \text{ Sensitivite} = \frac{\text{skutečně pozitivní}}{(\text{skutečně pozitivní} + \text{falešně pozitivní} + \text{dvojznačné})} \times 100$

$\% \text{ Sensitivite} = \frac{93}{(93 + 0)} \times 100$

$\% \text{ Sensitivita} = 100 \%$

Diagnostická specificita

Specificita soupravy Biotrin HHV-6 IgG IFA byla vyhodnocena testováním 67 vzorků séra od normálních dárců. Tyto vzorky byly vyhodnoceny jako negativní pomocí soupravy Biotrin HHV-6 IgG IFA, technikou HHV-6 IgG IFA používanou na jiném pracovišti a jinou komerčně dostupnou zkouškou pomocí pravidla dva ze tří. Ze 67 testovaných vzorků bylo zjištěno 63 negativních a 4 byly pozitivní na protilátky IgG proti HHV-6. Na základě následující rovnice se zjistila 94% specificita:

$\% \text{ Specificity} = \frac{\text{skutečně negativní}}{(\text{skutečně negativní} + \text{falešně pozitivní} + \text{dvojznačné})} \times 100$

$\% \text{ Specificity} = \frac{63}{(63 + 4)} \times 100$

$\% \text{ Specificity} = 94\%$

Křížová reaktivita

Bylo testováno 20 vzorků séra, aby se stanovila specificita soupravy Biotrin HHV-6 IgG IFA. V následující tabulce jsou shrnuty výsledky vzorků sér odebraných od pacientů s těmito chorobami:

Tabulka 1:

Virus	Biotrin's HHV-6 IgG IFA
Virus Epstein-Barrové (EBV)	0/9
Cytomegalovirus IgG	0/9
Virus herpesu simplexu (HSV)	0/2

Interference (Analytická specificita)

Zkoumání interference zahrnovalo testy na hemolýzu, lipemii, bilirubiny a revmatoidní faktor. Nebyla zjištěna žádná interference. Na všech barvených sklíčkách bylo pozorováno cihlově červené kontrastní zbarvení.

Reprodukovatelnost

Včetně intra-testu, inter-testu a inter-provozovatelské reprodukovatelnosti. Následující výsledky byly získány po kontrole 6 sérových vzorků za použití 3 různých šarží HHV-6 IgG IFA a 3 různých provozovatelů v průběhu 3 dnů. Testování bylo prováděno ve vyhodnocovacím středisku na jiném pracovišti pomocí následující metody: Každý vzorek byl nejdříve testován s prahovým zředěním 1:20. By-li pozitivní, vzorek se poté zředil o 1 od výchozího bodu, tj. 1/20, 1/40, 1/80 atd.

Každý zaznamenaný výsledek odpovídá poslednímu zředění, které dalo jasnou fluorescenci, tj. hodnotu +1.

Tabulka

Vzorek	Operátor 1			Operátor 2			Operátor 3		
	Den 1	Den 2	Den 3	Den 1	Den 2	Den 3	Den 1	Den 2	Den 3
Šarže 1									
1	160	160	80	160	80	80	160	160	80
2	160	160	160	80	80	80	160	160	80
3	160	160	40	160	80	160	160	80	80
4	160	40	160	160	80	160	160	160	80
5	160	80	160	80	80	80	160	160	160
6	40	40	40	40	40	40	40	40	20
Šarže 2									
1	80	80	80	80	160	80	80	80	40
2	160	160	160	80	80	80	80	80	40
3	160	160	80	40	80	40	40	80	40
4	160	160	160	40	80	40	40	80	40
5	80	80	80	40	40	40	40	40	40
6	40	40	80	40	80	20	20	40	40
Šarže 3									
1	160	160	80	160	160	160	160	160	80
2	160	160	160	160	40	160	160	160	80
3	40	160	40	160	80	160	80	80	160
4	160	160	160	160	80	160	160	80	80
5	80	80	80	40	40	160	80	160	80
6	80	40	80	40	80	40	40	40	20

Výsledky, které se neliší o více, než dvě zředění, se považují za výsledky stejného významu. To bylo zvoleno na základě dvou kritérií:

- Akceptuje se, že může existovat rozdíl jednoho zředění mezi titry získanými imunofluorescencí během dvou různých postupů na stejném vzorku.
- Rozdíl více než dvou zředění mezi dvěma za sebou jdoucími vzorky u stejného pacienta se považuje za signifikantní.

Shrnutí postupu HHV-6 IgG IFA

Důležitá poznámka: Dříve než začnete se zkouškou, přečtěte si, prosím, celou brožurku Toto shrnutí slouží pouze k rychlému nahlédnutí.

Kvalitativní stanovení: Rozřeďte pacientův vzorek v promývacím pufru 1:20
Kvantitativní stanovení Začněte zředěním vzorku 1:20 v promývacím pufru, potom přidejte stejné objemy zředěného vzorku a promývacího pufru na každé další zředění.



Přidejte ~20 μ l pozitivního kontrolního vzorku do jamky čís. 1 podložního sklíčka
Přidejte ~20 μ l negativního kontrolního vzorku do jamky čís. 2 podložního sklíčka
Přidejte ~20 μ l rozředěného vzorku do zbývajících jamek (jeden vzorek na jamku)



Inkubujte sklíčko při 35-39°C po dobu 30 minut



Umyjte sklíčko promývacím pufrům



Aplikujte 40 μ l konjugátu do každé jamky



Inkubujte sklíčko při teplotě 35-39°C po dobu 30 minut



Umyjte sklíčko promývacím pufrům



Do každé jamky dejte 10 μ l montovacího média a přiložte krycí sklíčko



Prohlédněte sklíčko ve fluorescenčním mikroskopu

Odkazy na literaturu

1. Salahuddin, S.Z., Albashi, D.V., Markham, P.D., Joseph, S.F., Sturzenegger, S., Kaplan, M., Halligan, G., Biberfeld, P., Wong-Stall, F., Kramarsky, B. and Gallo, R.C. (1986) Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 234: 596-601.
2. Yamanishi, K., Okuno, T., Shiraki, K., Takahashi, M., Kondo, T., Asano, Y. and Kurata, T. (1988) Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1:1065-1067.
3. Asano, Y., Yoshikawa, T., Suga, S., Yazaki, T., Knodo, K. and Yamanishi, K. (1990) Fatal fulminant hepatitis in an infant with human herpesvirus-6 infection. *Lancet* 335: 862-863.
4. Asano, Y., Yoshikawa, T., Kajita, Y., Ogura, R., Suga, S., Yazaki, T., Nakashima, T., Yamada, A. and Kurata, T. (1992) Fatal encephalitis/encephalopathy in primary human herpesvirus-6 infection. *Arch, Dis Child.* 67:1484-1485.
5. Eizuru, Y., Minematsu, T., Minamishima, Y., Kikuchi, M., Yamanishi, K., Takahashi, M. and Kurata, T. (1989) Human herpesvirus-6 in lymph nodes. *Lancet* 1:40.
6. Prezioso, P.J., Cangiarella, J., Lee, M., Nuova, G.J., Borkowsky, W., Orlow, S.J. and Greca, M.A. (1992) Fatal disseminated infection with human herpesvirus-6. *J. Pediatrics* 120:921-923.
7. Dubedat, S. and Kappagoda, N. (1989) Hepatitis due to human herpesvirus-6. *Lancet* 2:1463-1464.
8. Steeper, T. A., Horwitz, C.A., Ablashi, D.V., Salahuddin, S.Z., Saxinger, C., Saltzman, R and Schwartz, B. (1990) The spectrum of clinical and laboratory findings from Human Herpesvirus-6 (HHV-6) in patients with mononucleosis-like illnesses not resulting from Epstein-Barr virus or cytomegalovirus. *Am. J. Clin. Pathol.* 93: 776-783.
9. Kruegar, G. R. F, Koch, B., Ramon, A., Ablashi, D.V., Salahuddin, S.Z., Josephs, S.F., Streicher, H.Z., Gallo, R.C. and Habermann, U. (1988) Antibody prevalence to HBLV (human herpesvirus-6, HHV-6) and suggestive pathogenicity in the general population and in patients with immune deficiency syndromes. *J. Virol. Methods* 21:125-131.
10. Buchwald, D., Cheney, P.R., Peterson, D.L., Henry, B., Wormsley, S.D., Geiger, A., Albashi, D.V., Salahuddin, S.Z., Saxinger, C., Biddle, R., Kikinis, B., Jolesz, F.A., Folks, T., Balachandran, N., Peter, J.B., Gallo, R.C. and Komaroff, A.L. (1992) A chronic illness characterized by fatigue, neurologic and immunologic disorders, and active human herpesvirus type 6 infection. *Ann. Intern. Med.* 116:103-113.
11. Soldan, S.S., Berti, R., Salem, N., Secchiero, P., Flamand, L., Calabresi, P.A., Brennan, M.B., Maloni, H.W., McFarland, H.F., Lin, H.-C., Patnaik, M. and Jacobson, S. (1997) Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: Increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nature Medicine* 3:1394-1397.
12. Yadav, M., Chandrashekran, A. Vasudevan, D.M. and Ablashi, D.V. (1994) Frequent Detection of Human Herpesvirus 6 in Oral Carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 86:1792-1794.

13. Chen, M., Popescu, N., Woodworth, C., Berneman, Z., Corbellino, M., Lusso, P., Albashi, D.V. and DiPaolo, J.A. (1994) Human Herpesvirus-6 infects cervical epithelial cells and transactivates human papilloma virus gene expression. *J. Virol.* 68:1173-1178.
14. Drobyski, W.R., Dunne, W.M., Burd, E.M, Knox, K.K., Ash, R.C. Horowitz, M.M., Flomberg, N. and Carrigan, D.R. (1993) Human Herpesvirus-6 (HHV-6) infection in allogeneic bone marrow transplant recipients: Evidence of a marrow-suppressive role for HHV-6 in vivo. *J. Inf. Dis.* 167:735-739.
15. Briggs, M., Fox, J. and Tedder, R.S. (1988) Age prevalence of antibody to human herpesvirus-6. *Lancet* i:1058-1059.

HHV-6 IgG IFA, Cat. No.: V3HHV6, HHV-425-03 07/09, CZ
Interpretace symbolů

Diagnostický *in-vitro* zdravotnický
Prostředek

IVD

Kód šarže

LOT

Katalogové číslo

REF

Teplotní omezení



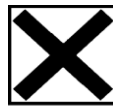
Upotřebit do konce



Výrobce



Při požití škodlivý. Při
styku s kyselinami uvolňuje
velmi toxické plyny.



Instrukce k použití



Další výrobky Biotrin

Biotrin International nabízí jedinečné portfolio testů na lidský herpes virus vhodných pro rutinní laboratorní diagnostiku.

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
www.biotrin.com