

HHV-6 IgG IFA, N. Codice: V3HHV6, HHV-425-03 07/09, IT



**ITALIANO**

N. Codice: V3HHV6  
Formato Kit: 4x10 well slides  
HHV-425-03



## **Herpes Virus umano, tipo-6 IgG IFA**

Test di immunofluorescenza per la rilevazione di anticorpi IgG anti-Herpesvirus umano  
tipo-6



## **INDICE**

**Uso previsto**

**Introduzione**

**Principio del test**

**Precauzioni**

**Sicurezza**

**Procedura**

**Contenuto del kit**

**Materiale fornito**

**Materiale aggiuntivo non contenuto nel kit**

**Conservazione e stabilità**

**Raccolta e conservazione dei campioni**

**Preparazione di reagenti e campioni**

**Procedura del test**

**Interpretazione dei risultati**

**Interpretazione dei dati**

**Criteri per controllo di qualità**

**Valori attesi**

**Limiti di utilizzo**

**Performance del test**

**Sintesi della procedura di HHV- 6 IgG IFA**

**Riferimenti**

**Interpretazione dei simboli**

**Altri prodotti Biotrin disponibili**

## Uso previsto

Biotrin Herpesvirus umano tipo-6 IgG IFA è un test di immunofluorescenza per la rilevazione *in vitro* degli anticorpi IgG anti-Herpesvirus umano tipo-6 (HHV-6) nel siero.

## Introduzione

L'Herpesvirus umano tipo-6 (HHV-6), descritto per la prima volta nel 1986, è stato isolato da pazienti con disordini linfoproliferativi<sup>1</sup>. Successivamente, HHV-6 è stato confermato essere l'agente eziologico responsabile della malattia infantile *Esantema Subitum* (Roseola infantum)<sup>2</sup> ed è stato associato ad un certo numero di altre malattie infantili, comprese epatite fulminante<sup>3</sup>, encefalite<sup>4</sup>, linfadenite istiocitica necrotizzante<sup>5</sup> e *setticemia mortale*<sup>6</sup>.

Negli adulti, l'infezione primaria con HHV-6 è meno comune, ma è dimostrato che HHV-6 può essere presente in casi di epatite<sup>7</sup>, malattia mononucleosi-simile<sup>8</sup>, linfoproliferazione policlonale atipica<sup>9</sup>, "sindrome post-virale di affaticamento cronico"<sup>10</sup>, sclerosi multipla<sup>11</sup>, carcinoma orale<sup>12</sup>, carcinoma cervicale<sup>13</sup> e *aplasia midollare in pazienti da sottoporre a trapianto*<sup>14</sup>.

I test virologici e sierologici specifici hanno stabilito che HHV-6 è presente in maniera ubiquitaria nella popolazione umana, con l'insorgenza dell'infezione generalmente durante la prima infanzia e la possibilità di presentarsi in alcuni adulti ancora come infezione primaria. La prevalenza dell'anticorpo è riportata come superiore all'80% nei pazienti con più di 2 anni di età<sup>15</sup>. Tuttavia, anche se la prevalenza dell'anticorpo HHV-6 è alta, il livello dell'anticorpo si riduce a titoli bassi in seguito all'infezione. Livelli elevati di anticorpi IgG anti-HHV-6 nel siero possono essere indicativi di una recente esposizione a HHV-6.

## Principio del test

Biotrin HHV-6 IFA utilizza il metodo di immunofluorescenza indiretta per la rilevazione degli anticorpi e la determinazione del titolo. I campioni di siero vengono incubati con antigene HHV-6 immobilizzato, che è stato stabilizzato su un vetrino. Se sono presenti anticorpi IgG anti-HHV-6 nel campione si forma un complesso stabile con l'antigene. L'anticorpo legato viene fatto quindi reagire con IgG di capra anti-umane coniugate con fluoresceina e questo complesso viene visualizzato con l'aiuto di un microscopio a fluorescenza. Si denota quindi una reazione anticorpale positiva contrassegnata da una fluorescenza verde brillante.

## Precauzioni

### Sicurezza

- Per esclusivo uso diagnostico *in vitro*.
- Il kit è inteso ad uso esclusivo di Personale di laboratorio qualificato.
- Questo kit contiene materiale di origine umana, da considerarsi **POTENZIALMENTE INFETTO**. I controlli sono stati testati e trovati negativi ai test HBsAg, ed agli anticorpi anti-HIV 1/2 ed HCV. Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può garantire la totale sicurezza di assenza del virus, si raccomanda trattare i controlli come potenzialmente infetti.
- Alcuni reagenti contengono Thiomersal, che può essere tossico se ingerito.
- Evitare il contatto con Evans Blue poiché potenzialmente cancerogeno. In caso di contatto accidentale con la pelle sciacquare abbondantemente con acqua.

- Alcuni reagenti contengono sodio azide, che può formare azidi metalliche potenzialmente esplosive se messa a contatto con tubature di piombo e rame. Per lo smaltimento, i reagenti devono essere fatti defluire con grandi volumi di acqua per mantenere bassa la concentrazione di azide.
- Lo smaltimento di tutti i campioni clinici e del materiale infetto o potenzialmente infetto deve avvenire nel totale rispetto delle procedure di laboratorio. Tutti i materiali dovranno essere trattati e smaltiti come potenzialmente infetti.
- I residui dei prodotti chimici, dei preparati e del contenuto del kit sono considerati generalmente come rifiuti pericolosi. Tutti i materiali dovrebbero quindi essere smaltiti in conformità con le procedure di sicurezza previste.
- Indossare vestiario di protezione, guanti di lattice monouso e protezione oculare durante la manipolazione dei campioni e l'esecuzione del test. Lavare attentamente le mani al termine.
- Non pipettare i materiali con la bocca ed evitare assolutamente di mangiare o bere sul banco di lavoro del laboratorio.

### **Procedura**

- Non utilizzare il kit o i singoli reagenti oltre la data di scadenza.
- Non mischiare o sostituire reagenti provenienti da kit di lotti differenti.
- Non utilizzare campioni o reagenti contaminati.
- Lo scostamento dal protocollo fornito può causare risultati errati.
- I test eseguiti con tempi e temperature differenti da quelli stabiliti possono produrre risultati non validi. I test non conformi a tempi e temperature riportati in metodica devono essere ripetuti.
- Per la diluizione del tampone di lavaggio concentrato utilizzare solo acqua distillata o deionizzata di alta qualità. L'impiego di acqua di bassa qualità o contaminata può provocare disturbo di fondo. Accertarsi che il tampone di lavaggio sia accuratamente mescolato.
- Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolare bene prima di iniziare il test.
- Non rimuovere i vetrini dal relativo sacchetto protettivo fino al momento dell'utilizzo. Portare i vetrini a temperatura ambiente prima di aprire il sacchetto protettivo per prevenire il contenuto dalla formazione di condensa.
- Evitare di lasciare i reagenti alla luce solare diretta e/o ad una temperatura superiore a 2-8°C per periodi prolungati.
- Durante la colorazione di campioni multipli su un vetrino evitare la cross contaminazione tra campioni delimitando i contorni dei pozzetti con ceralacca.
- L'impiego di una eccessiva quantità di mezzo di montaggio può causare una fluorescenza poco chiara.
- Utilizzare sempre vetreria pulita e preferibilmente monouso per la preparazione di tutti i reagenti.
- Prestare la massima attenzione a non contaminare i componenti del kit ed utilizzare sempre puntali per pipette nuovi per ciascun campione e ciascun reagente.
- Non graffiare il pozzetto con il puntale della pipetta o il contagocce.
- Prima di iniziare il test pianificare l'identificazione e la distribuzione dei campioni.

## Contenuto del kit

### Materiale fornito

1. Vetrini con antigene HHV-6:

**SLIDE**

4 x 10 vetrini su cui sono stati fissati linfociti umani infettati con HHV-6. I vetrini sono pronti all'uso dopo la rimozione del sacchetto protettivo.

2. Controllo positivo \*\*:

**CONTROL + IgG**

1 x 0.5ml controllo positivo umano di anticorpi IgG anti-HHV-6. Contiene 0.1% sodio azide. (Pronto all'uso) (tappo blu).

3. Controllo negativo \*\*:

**CONTROL - IgG**

1 x 0.5ml controllo negativo umano di anticorpi IgG anti-HHV-6. Contiene 0.1% sodio azide. (Pronto all'uso) (tappo rosso).

4. Coniugato fluoresceina:\*\*

**CONJ IgG 1x**

1 x 1.5ml IgG di capra anti-umane (inattivate) coniugate con fluoresceina (specifiche per catene pesanti e leggere) con coloranti di contrasto Evans Blue e Rodamina. Contiene 0.1% sodio azide. (Pronto all'uso) (tappo giallo).

5. Mezzo di montaggio:

**MM**

1 x 2ml glicerolo in tampone Tris. Contiene Thiomersal (0.01%). (Pronto all'uso) (Tappo arancio).

6. Tampone di lavaggio concentrato (PBS):

**BUF WASH CONC**

1 sacchetti. Ciascun pacchetto di alluminio sigillato contiene 10 pastiglie di PBS. Ogni pastiglia serve per 100ml di tampone di lavaggio 1x.

7. Tamponi di carta assorbente per vetrini (BLT):

**BLT**

I tamponi di carta assorbente hanno dei fori prestampati adatti all'essiccazione della maschera dei vetrini.

8. Istruzioni per l'uso:



\*\* materiale potenzialmente infettivo

### **Materiale aggiuntivo non contenuto nel kit**

- Attrezzatura per la raccolta del campione.
- Cestello portavetrini e vaschetta di colorazione per il lavaggio dei vetrini.
- Acqua distillata o deionizzata di alta qualità.
- Vetreria da laboratorio pulita.
- Provette o materiale equivalente per la preparazione del campione.
- Cilindri graduati.
- Pipette di precisione, micropipette e puntali monouso per la dispensazione di volumi di 5-50µl e 50-200µl.
- Contaminuti.
- Incubatore 35-39°C.
- Tovaglioli di carta o carta assorbente.
- Provette di diluizione e provette per minicentrifuga (0.5ml).
- Minicentrifuga da tavolo.
- Vassoio di incubazione contenente carta velina umida.
- Bottiglie e vaschetta di lavaggio.
- Vetrini coprioggetto: 22 x 50mm spessore nr.1.
- Microscopio a fluorescenza con appropriata combinazione di filtri per FITC (filtro di eccitazione a 495nm, filtro di emissione a 515nm), si raccomanda l'utilizzo di una lampada alogena come sorgente luminosa.
- Ceralacca.

### **Conservazione e stabilità**

- Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna della scatola se conservato a 2-8°C. Nota: i tamponi di carta assorbente possono essere conservati a 2-25°C.
- Tutti i componenti del kit non utilizzati devono essere nuovamente immagazzinati a 2-8°C subito dopo l'uso.
- La soluzione di lavaggio ricostituita è stabile fino a 4 settimane se conservata a 2-8°C.

### **Raccolta e conservazione dei campioni**

- Per il prelievo dei campioni utilizzare tecniche di laboratorio asettiche. I campioni possono essere conservati fino ad 1 settimana a 2-8°C e a -20°C per periodi più lunghi. Evitare ripetuti congelamenti / scongelamenti.
- Per dimostrare una sieroconversione o un significativo incremento del titolo in campioni di pazienti raccolti in un determinato periodo di tempo, i sieri devono essere prelevati a distanza di 7-14 giorni e conservati a -20°C. Tali campioni devono poi essere testati simultaneamente.

### **Preparazione di reagenti e campioni**

#### ***Preparazione dei reagenti***

Preparare il PBS aggiungendo una pastiglia a 100ml di acqua distillata o deionizzata preparata di fresco.

Conservare quindi in un contenitore pulito e chiuso a 2-8°C fino a 4 settimane. I restanti componenti del kit vengono forniti pronti all'uso ed alla diluizione di lavoro.

### **Preparazione dei campioni**

Test qualitativo: diluire ogni siero campione 1:20 con PBS. Tutte le diluizioni devono avere un volume minimo di 0.1 ml.

Test quantitativo: il "titolo" del campione può essere determinato preparando una duplice diluizione seriale del campione in tampone di lavaggio, iniziando con una diluizione 1:20 e aggiungendo uguali volumi di campione diluito e tampone di lavaggio ad ogni diluizione consecutiva, fino al raggiungimento di un grado di fluorescenza pari a "+1" (v. "Interpretazione dei risultati").

### **Procedura del test**

Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'uso.

#### **1. Preparazione dei vetrini**

Prelevare il numero di vetrini necessario dal sacchetto protettivo e delimitare i contorni dei pozzetti con ceralacca per evitare contaminazioni. Dispensare 1 goccia (ca. 20µl) di ogni campione diluito e 1 goccia (ca. 20µl) di controllo positivo e negativo, pronti all'uso, nei pozzetti numerati.

Nota: aggiungere un volume sufficiente a coprire ogni pozzetto, ma evitare di mischiare i contenuti dei pozzetti.

#### **2. Incubazione dei campioni**

Incubare il vetrino in camera umida per 30 minuti a 35-39°C.

#### **3. Lavaggio dei vetrini**

Sciacquare i vetrini lungo il bordo facendo defluire un leggero flusso di tampone di lavaggio dalla bottiglia di lavaggio. Non indirizzare il deflusso direttamente sui pozzetti. Collocare i vetrini su una vaschetta di lavaggio contenente tampone di lavaggio per 10 minuti a temperatura ambiente (20-25°C) cambiando il tampone di lavaggio dopo 5 minuti. Asciugare la mascherina tracciata che circonda i pozzetti con i tamponi di carta assorbente forniti nel kit.

#### **4. Incubazione con coniugato**

Mettere 1 goccia (ca. 40µl) di coniugato pronto all'uso in ogni pozzetto. Incubare i vetrini in una camera umida per 30 minuti a 35-39°C.

#### **5. Lavaggio dei vetrini**

Ripetere il passaggio 3.

#### **6. Applicazione del mezzo di montaggio**

Versare 1 goccia scarsa di mezzo di montaggio nel mezzo di ogni pozzetto e coprire con un vetrino coprioggetto.

#### **7. Lettura dei vetrini**

Leggere sotto un microscopio a fluorescenza utilizzando un ingrandimento 200-500x. Per risultati migliori, leggere i vetrini immediatamente al termine del test. (Per ottenere risultati equivalenti, sigillare i vetrini o mantenerli umidi per ridurre al minimo l'essiccazione del mezzo di montaggio. Conservare al buio a 2-8°C. Leggere entro 3 giorni.)

## 8. Classificazione

Una reattività positiva può variare di intensità in fluorescenza da brillante a debole. Classificare la reazione in fluorescenza secondo la seguente scala di intensità: +4 (brillante), +3 (vivace), +2 (moderata), +1 (debole).

### Interpretazione dei risultati

#### **Reazione negativa:**

Un campione viene considerato negativo al test per anticorpi IgG anti-HHV-6 in assenza di fluorescenza nelle cellule infette.

#### **Reazione positiva:**

Si denota una reazione positiva dell'anticorpo HHV-6 solo in presenza di una fluorescenza verde brillante nelle cellule infette ad una diluizione  $\geq 1:20$ . Una reazione positiva indica una pregressa infezione di HHV-6. La sieroconversione ad anticorpi IgG o l'innalzamento di quattro volte o più del titolo anticorpale IgG nei campioni ripetuti di siero indica una recente infezione di HHV-6.

+4 = Fluorescenza verde brillante indicativa di un altissimo titolo di anticorpi IgG anti-HHV-6.

+3 = Fluorescenza verde brillante indicativa di un alto titolo di anticorpi IgG anti-HHV-6.

+2 = Fluorescenza verde indicativa di un titolo medio di anticorpi IgG anti-HHV-6.

+1 = Fluorescenza verde pallido indicativa di un debole titolo di anticorpi IgG anti-HHV-6. Ciò è anche indicativo della diluizione o "titolo" del campione.

- La titolazione dei campioni positivi ad IgG anti-HHV-6 fornisce informazioni quantitative. In una serie di titolazioni la più alta diluizione del siero che mostra una reazione "+1" viene interpretata come titolo.
- Per ottenere un controllo interno, ogni pozzetto sul vetrino del microscopio contiene sia cellule infettate con HHV-6 che non infettate. La preparazione del vetrino in questo modo è voluta. Le cellule non infettate, colorate in rosso dalla colorazione di contrasto, determinano un background di fondo. Queste cellule vengono aggiunte come controlli per reazioni anticorpali anti-nucleari e/o anti-citoplasmatiche, che dovessero essere presenti in pazienti con malattie autoimmuni.

### Interpretazione dei dati

|   |   |
|---|---|
| Non è stata riscontrata alcuna fluorescenza visibile di cellule infette alla diluizione di screening.                             | Il campione testato è negativo all'anticorpo IgG anti-HHV-6.  |
| Cellule verdi irregolari che non mostrano una fluorescenza visibile di cellule infette.   | Il campione testato è negativo all'anticorpo IgG anti-HHV-6.  |
| Viene riscontrata una fluorescenza positiva specifica di cellule infette alla diluizione di screening o a diluizioni più elevate. | Il campione testato è positivo all'anticorpo IgG anti-HHV-6, ciò indica una pregressa infezione di HHV-6. La sierconversione o un innalzamento di quattro volte o più del titolo anticorpale IgG in campioni ripetuti di siero sono indicativi di una infezione recente da HHV-6. |
| Fluorescenza riscontrata in cellule infette e non infette.  | Il campione testato mostra una reazione aspecifica.   |

### Criteri per controllo di qualità

Ogni test deve contenere il controllo positivo e quello negativo. I risultati di un test sono considerati validi se rispondono ai seguenti criteri:

- 1) Il controllo positivo IgG anti-HHV-6 fornito nel kit produce una fluorescenza di intensità  $\geq +2$ .
- 2) Il controllo negativo IgG anti-HHV-6 fornito nel kit produce una fluorescenza non visibile.

Se i suddetti criteri vengono disattesi, il test è considerato non valido e deve essere ripetuto.

### Valori attesi

La prevalenza dell'anticorpo anti-HHV-6 è riportata come superiore all'80% nei pazienti con più di 2 anni di età. Sebbene la prevalenza dell'anticorpo sia elevata, il titolo anticorpale HHV-6 si riduce a livelli bassi in epoca successiva all'infezione. Quindi, livelli elevati di IgG possono essere indicativi di una recente infezione. Un aumento significativo dei valori di anticorpi IgG in campioni ripetuti è indicativo di un'infezione recente da HHV-6.

### Limiti di utilizzo

- Un test sierologico come l'IFA serve come aiuto nell'identificazione dell'infezione virale, ma il suo utilizzo non può essere l'unico strumento diagnostico. I risultati del test devono essere quindi correlati con il profilo clinico ed epidemiologico dei pazienti ed altri risultati clinici di laboratorio.
- Un singolo risultato positivo di anticorpi IgG anti-HHV-6 è significativo solo perché indica un pregresso contatto o infezione da virus. Per scopi epidemiologici è sufficiente un singolo risultato. Non deve però essere interpretato come indicativo di infezione da virus in corso o recente. Per determinare un'infezione in corso o recente, campioni ripetuti di siero devono essere testati simultaneamente a distanza di 7-14 giorni. Un innalzamento di quattro volte o più del titolo tra il primo ed il secondo campione è indicativo di un'infezione in corso o recente.

### Performance del test

#### *Sensibilità e specificità*

##### *Sensibilità diagnostica*

Sono stati testati 93 campioni da un pool di campioni sicuramente positivi con Biotrin HHV-6 IgG IFA. Tutti i 93 campioni hanno dato un risultato positivo agli anticorpi IgG anti-HHV-6, con una sensibilità del 100%. Il pool di campioni positivi è stato inoltre confermato con HHV-6 IgG a tecnica IFA in un centro di valutazione esterno.

% Sensibilità = Veri positivi / (Veri positivi + Falsi negativi + Equivoci) x 100%

% Sensibilità = 93 / (93 + 0 + 0) x 100 = 100%

% Sensibilità = 100%

##### *Specificità diagnostica*

La specificità di Biotrin HHV-6 IgG IFA è stata accertata testando 67 campioni di siero da donatori normali. Questi campioni sono risultati negativi con Biotrin HHV-6 IgG IFA, con HHV-6 IgG a tecnica IFA di un laboratorio esterno e con un altro test commercialmente disponibile che utilizza la regola del "due su tre". Su 67 campioni testati, 63 sono stati trovati negativi e 4 positivi agli anticorpi IgG anti-HHV-6. La specificità ottenuta è del 94% con la seguente equazione:

% Specificità = Veri negativi / (Falsi positivi + Veri negativi + Equivoci) x 100%

% Specificità = 63 / (63 + 4 + 0) x 100 = 94%

% Specificità = 94%

### **Cross Reattività**

Per stabilire la specificità di Biotrin HHV-6 IgG IFA, sono stati testati 20 campioni di siero. La tabella che segue riassume i risultati ottenuti da campioni di siero di pazienti con patologie indicate di seguito.

**Tabella 1**

| <b>Virus</b>             | <b>Biotrin HHV-6 IgG IFA</b> |
|--------------------------|------------------------------|
| Epstein-Barr Virus IgG   | 0/9                          |
| Citomegalovirus IgG      | 0/9                          |
| Herpes Simplex Virus IgG | 0/2                          |

### **Interferenze (specificità analitica)**

Studi sull'interferenza hanno incluso test per emolisi, lipidi, bilirubina e fattore reumatoide. Non è stata notata alcuna interferenza. E' stata rilevata una colorazione di contrasto rosso mattone su tutti i vetrini colorati.

### **Riproducibilità**

Comprendente: intra-serie, inter-serie e riproducibilità inter-operatore.

I seguenti risultati sono stati ottenuti esaminando 6 campioni di siero con 3 differenti lotti di HHV-6 IgG IFA e 3 differenti operatori in 3 differenti giorni. Il test è stato effettuato in un centro di valutazione esterno utilizzando il seguente metodo: ogni campione è stato prima testato ad una diluizione iniziale di 1:20. Se trovato positivo, ogni campione è stato poi diluito 1:2 da questo punto in poi, cioè 1:20, 1:40, 1:80 ecc. **Ogni risultato registrato corrisponde all'ultima diluizione, che ha dato una fluorescenza chiara, ovvero del valore di 1+.**

Tabella 2

| Campione       | Operatore 1 |          |          | Operatore 2 |          |          | Operatore 3 |          |          |
|----------------|-------------|----------|----------|-------------|----------|----------|-------------|----------|----------|
|                | Giorno 1    | Giorno 2 | Giorno 3 | Giorno 1    | Giorno 2 | Giorno 3 | Giorno 1    | Giorno 2 | Giorno 3 |
| <b>Lotto 1</b> |             |          |          |             |          |          |             |          |          |
| 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       |
| <b>Lotto 2</b> |             |          |          |             |          |          |             |          |          |
| 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       |
| <b>Lotto 3</b> |             |          |          |             |          |          |             |          |          |
| 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       |

Risultati che non differiscono in più di due diluizioni sono da considerarsi di identico significato. Ciò è stato stabilito sulla base di due criteri:

- Viene accettato che possa esistere una differenza di una diluizione tra titoli ottenuti con immunofluorescenza in due differenti procedure sullo stesso campione.
- Una differenza di più di due diluizioni tra due campioni consecutivi per lo stesso paziente viene considerata significativa.

### **Sintesi della procedura HHV-6 IgG IFA**

#### **Nota importante:**

Leggere interamente le istruzioni per l'uso del prodotto prima di iniziare il test.  
Questa sintesi è da considerarsi solo come riferimento rapido



Determinazione qualitativa: Diluire il campione 1:20 con tampone di lavaggio  
Determinazione quantitativa: Iniziare con una diluizione del campione 1:20 con tampone di lavaggio e quindi aggiungere volumi uguali di campione diluito e tampone di lavaggio per ogni diluizione successiva.



Aggiungere ~20µl di controllo positivo al pozzetto #1 del vetrino  
Aggiungere ~20µl di controllo negativo al pozzetto #2 del vetrino  
Aggiungere ~20µl di campione diluito ai rimanenti pozzetti (un campione per pozzetto)



Incubare il vetrino a 35-39°C per 30 minuti



Lavare il vetrino con tampone di lavaggio



Aggiungere 40µl di coniugato ad ogni pozzetto



Incubare il vetrino a 35-39°C per 30 minuti



Lavare il vetrino con tampone di lavaggio



Mettere 10µl di mezzo di montaggio in ogni pozzetto e coprire con un vetrino coprioggetto



Esaminare il vetrino sotto un microscopio a fluorescenza

## Riferimenti

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.

HHV-6 IgG IFA, N. Codice: V3HHV6, HHV-425-03 07/09, IT

15. Briggs, M., Fox. J. and Tedder, R.S. (1988) Age prevalence of antibody to human herpesvirus-6. *Lancet* i:1058-1059.

### Interpretazione dei simboli

Dispositivo medico diagnostico *in-vitro*



Codice del lotto



Numero di codice



Limite di temperatura



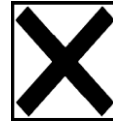
Da usare entro



Produttore



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



Istruzioni per l'uso



### Altri prodotti Biotrin disponibili

Biotrin International offre un ricco portfolio di test per Herpesvirus umano per la diagnosi di routine in laboratorio.

| <b>Cat #:</b> | <b>Description</b>          | <b>No of tests</b>  |
|---------------|-----------------------------|---------------------|
| V3HHV6        | Human Herpesvirus-6 IgG IFA | 4 x 10 wells slides |
| V17HHV6       | Human Herpesvirus-6 IgM IFA | 4 x 10 wells slides |
| V15HHV6       | Human Herpesvirus-6 IgG EIA | 96 well plate EIA   |
| V18HHV8       | Human Herpesvirus-8 IgG IFA | 6 x 10 wells 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)



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

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