

MAGYAR

Katalógus sz.: V18HHV8
Formátum: 6x10 well slides
HHV-427-03



Humán Herpeszvírus-8 IgG Immunfluoreszcens vizsgálat

Egy immunfluoreszcens vizsgálat a humán herpeszvírus-8 IgG lassan bomló
antitesteinek kimutatására



Tartalomjegyzék

Felhasználási terület

Bevezetés

Vizsgálati elv

Óvintézkedések

Biztonsági előírások

Eljárás

A készlet elemei

A szállított anyagok

Szükséges kiegészítő anyagok

Tárolás és állékonyság

Mintavétel és tárolás

Reagens és minta előkészítése

A vizsgálat menete

Az eredmények értékelése

Minőségellenőrzési kritériumok

Várt értékek

A felelősség korlátozása

Teljesítmény jellemzők

A HHV-8 IgG IFA eljárás rövid ismertetése

Referenciák

Jelmagyarázat

Kiegészítő Biotrin termékek

Felhasználási terület

A Humán Herpeszvírus-8 (HHV-8) antitesteket célzó közvetett immunfluoreszcens vizsgálat (IFA) az emberi vérsavóban vagy plazmában található IgG antitestek kvalitatív és szemi-quantitatív meghatározására lett tervezve a HHV-8 lassan bomló antigének függvényében. A HHV-8 IgG antitestek kimutatása emberekben hozzájárulhat az elsődleges vírusfertőzés vagy reaktiválás/újrafertőzés diagnosztizálásához.

Bevezetés

A Humán Herpeszvírus-8 (HHV-8), más néven Kaposi szarkóma herpeszvírus (KSHV), 1994 lett kimutatva, amikor Chang *et al* két herpeszvírushoz hasonló DNS részt azonosított egy AIDS-el kapcsolatos Kaposi szarkómában⁽¹⁾ szenvedő páciens esetén. A vírust a gamma herpeszvírusok (genus rhadinovirus) csoportjába sorolják és hasonlít az EBV-hez a B sejtek iránti tropizmus és a lappangó állapotban történő létezés képessége miatt. Erős járványtani bizonyítékok vannak arra, hogy a HHV-8 okozója a Kaposi szarkóma (KS) kórfejlődésében. A HHV-8 a betegség minden formájában kimutatható: Klasszikus KS (egy ritka rosszindulatú változat, amely idősebb mediterrán éghajlaton élő személyeknél lép fel), az afrikai endemikus KS, átültetéssel kapcsolatos KS és AIDS-el kapcsolatos KS.

A homoszexuális férfiak⁽²⁾ közötti HHV-8 fertőzés terjedésében jelentős szerepet játszik a szexuális kapcsolat. Ugyanakkor, a HHV-8 nyál és átültetett szervek útján is terjed⁽³⁾.

A HHV-8 szeroprevalencia aránya az általános népesség körében a tudományos irodalom szerint 5-35% között változik, az immunológiai vizsgálatról és az adott földrajzi helyről függetlenül. Számos tanulmányban, nagyon magas IgG antitest titeret észleltek KS pácienseknél de nem normális donoroknál. Így, a HHV-8 szeroprevalencia aránya különbözik az EBV, HHV-6, HHV-7, CMV, vagy HSV-1 arányától, ahol >80% a népességből pozitív a vírus antitestekre nézve.

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

A HHV-8 antitestek elterjedése az általános népesség körében összekapcsolható a KS gyakoriságával szervátültetést követően⁽⁷⁾. Dokumentumok léteznek, olyan esetre, amikor a donor allograftjából adódik át fertőzés a fogadónak. A HHV-8 fellépése szervátültetésen átesett pácienseknél azt a javaslatot eredményezte, hogy a szerv donorokat és a fogadókat HHV-8 antitestek szempontjából meg kell vizsgálni^(8,9). AIDS pozitív páciensekben a HHV-8 antitestek megelőzik és előrejelzik a KS kialakulását⁽¹⁰⁾. A KS a leggyakoribb neoplazma a pácienscsoportok körében. A HHV-8 kapcsolatban áll a testüregi nyirokcsomódaganatokkal (PEL), többcentrikus Castleman betegséggel (MCD), nem-Hodgkin nyirokcsomódaganattal és myeloma multiplexszel⁽¹¹⁾.

Napjainkban, a HHV-8 fertőzés PCR elemzéssel és immunológiai vizsgálatokkal mutatható ki, mint az IFA és az ELISA. Ugyanakkor, a HHV-8 DNS perifériás vérésejtben is kimutatható, de csak a fertőzött személyek felében a standard PCR vizsgálatokat használva⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Mivel a PCR vizsgálati rendszerek alacsony érzékenységi fokot mutatnak perifériás vérésejtől vett DNS használata esetén, a szerológiai vizsgálatok hasznosabbnak bizonyultak járványtani vizsgálatok és a HHV-8 fertőzés diagnosztizálásánál, különösen a vírussal történt előzetes fertőzés kimutatásában^(11,12). A szerológiai vizsgálatok a KS betegségben szenvedő AIDS pozitív betegek 80-97%-ánál, a mintavétel után a KS betegséget 5 éven belül elkapó AIDS pozitív betegek 54-100%-ánál, és a KS betegségen

át nem eső páciensek 16-56%-ánál HHV-8 specifikus antitesteket mutattak ki⁽¹³⁾. Ezzel ellentétben, a PCR ugyanezekben a csoportokban csak 40-50%, 30% illetve 5 -10% arányt mutatott ki.

A Biotrin HHV-8 készlet egy sejtvonalon alapszik, amely kifejezi a bomló antigént, lehetővé téve az antitestek kimutatását a bomló vírus fehérjékre nézve.

Számos herpeszvírus elleni gyógyszer, mint pl. a ganciclovir eredményesen hatnak a HHV-8 *in vivo* ellen, de erre nézve csak korlátozott mennyiségű klinikai felmérés létezik. További klinikai kutatás elvégzése szükséges több mintával, a HHV-8 antitest szint emelkedésének és csökkenésének meghatározására, hogy az információt összekapcsolhassák a HHV-8 fertőzéssel és olyan betegségek állapotával mint a KS.

Vizsgálati elv

A Biotrin közvetett immunfluoreszcens vizsgálati módszere egy gyors, egyszerű módszer az antitestek meghatározására a humán herpeszvírus-8 bomló antigénekre vonatkozóan. A fluoreszkáló antitest vizsgálat a közvetett fluoreszcens antitest festési módszert alkalmazza. A folyamat két alapvető lépésben zajlik:

Az első lépésben, a vizsgálandó emberi vérsavó vagy plazma kapcsolatba kerül rögzített fertőzött sejtekkel. Az antitest, ha jelen van a vizsgált mintában, összekapcsolódik az antigénnel a sejt szubsztrátumában. Ha a vizsgált minta nem tartalmaz antitestet erre az antigénre nézve, nem alakul ki vegyület és a vérsavó komponenseit kimossák.

A második lépésben egy fluoreszcenciával megjelölt anti-humán antitestet adagolnak hozzá. Ha a HHV-8 antitest jelen van (pozitív reakció), egy fényes almazöld fluoreszcencia látható a fluoreszcenciás mikroszkóp segítségével.

Óvintézkedések

Biztonsági előírások

- Kizárólag *in vitro* diagnosztikai használatra.
- A készlet kizárólag képzett laboratóriumi személyzet által használható.
- A készlet emberi eredetű anyagokat tartalmaz, amelyek POTENCIÁLISAN FERTŐZŐ ANYAGOKKÉNT KEZELENDŐK. A kontrollmintákat megvizsgálták és a HBsAg és a HIV 1/2 valamint HCV szempontjából negatívnak nyilvánították. Ugyanakkor, mivel egy vizsgálat sem képes teljesen kizárni a vírusok jelenlétének lehetőségét, bánjon azokkal úgy, mint lehetséges fertőző anyagokkal.
- Egyes reagensek Thiomersalt tartalmaznak, amely lenyelés esetén mérgező lehet.
- Az Evans Blue potenciális rákkeltő anyag ezért ne érintse meg. Ha a bőrrel érintkezésbe kerül, bő mossa öblítse le.
- Egyes reagensek nátrium-azidot tartalmaznak, amely potenciálisan robbanékony fém-azid vegyületeket hozhatnak létre ólomból és rézből készült vezetékben. Eldobáskor a reagenseket bő vízzel kell le öblíteni az azid lerakódásának elkerüléséhez.
- Minden klinikai mintát, legyen az fertőzött vagy lehetségesen fertőzött anyag, a megfelelő laboratóriumi előírások szerint dobjon el. Az összes ilyen anyagot úgy kezelje és dobja el, mint lehetséges fertőző anyagot.
- A vegyszereket, a preparátumokat és a készlet elemeit általánosan veszélyes hulladéknak kell tekinteni. Az összes ilyen anyagot úgy kezelje és dobja el, mint lehetséges fertőző anyagot, a megfelelő biztonsági eljárások szerint.
- Viseljen védőruhát, egyszer használatos gumikesztyűt és szemvédőt a minták kezelése és a vizsgálat végrehajtása közben. Befejezés után alaposan mossa meg a kezét.
- Soha ne pipettázza az anyagokat a szája segítségével és ne egyen ill. igyon a laboratóriumi asztalnál.

Eljárás

- A lejárati idő után ne használja a készletet sem a különálló reagenseket.
- Ne keverjen vagy helyettesítsen olyan reagenseket, amelyek különböző számú csomagokból származnak.
- Ne használjon szennyezett mintákat vagy reagenseket.
- A megadott protokolltól való eltérés hibás eredményekhez vezethet.
- A megadott idő és hőmérséklettartományok átlépése a vizsgálat végrehajtásakor hibás eredményekhez vezethet. A megadott idő- és hőmérséklettartományokat átlépő vizsgálatokat meg kell ismételni.
- A mosópufferhez jó minőségű desztillált vagy deionizált víz szükséges. A gyenge minőségű vagy szennyezett víz háttérrel okozhat. Bizonyosodjon meg, hogy a Mosópuffer koncentrátumot alaposan összevegyítik.
- Használat előtt hagyja, hogy minden reagens szobahőmérsékletűvé váljon (20 - 25°C) és keverje jól össze.
- A lemezt ne vegye ki a védőtasakjából addig, amíg készen nem áll annak használatára. Kinyitás előtt hagyja a lemezt szobahőmérsékletre felmelegedni, így a védőtasak megóvja azt a kondenzációtól.
- Hosszabb ideig ne hagyja a reagenseket közvetlen napfényben és/vagy 2-8°C fokot meghaladó hőmérsékleten.
- Ha több mintát fest egy lemezen, egy viaszceruza segítségével vonjon korlátot a cellák közé, annak érdekében, hogy a minták ne szennyezzék be egymást.
- A túlzott mértékű beágyazó közeg használata homályos fluoreszkálást eredményezhet.

- Mindig használjon tiszta, lehetőleg egyszer használatos üvegedényeket a reagensek előkészítésekor.
- Ügyeljen, hogy ne szennyezze be a komponenseket és mindig használjon friss pipetta hegyeket minden egyes minta és komponens esetén.
- Ne karcolja meg a cella oldalát a pipetta hegyével vagy a csepegtetővel.
- A vizsgálat elkezdése előtt egy azonosítási és elosztási tervet kell meghatározni.

A készlet elemei

A szállított anyagok

1. HHV-8 antigén lemezek:

SLIDE

6 x10 cellás lemez emberi nyiroksejtekkel, amelyek minden egyes üveg cellában képesek a HHV-8 bomló antigén kimutatására. A lemezek a védőtasak eltávolítása után használatra készek.

2. HHV-8 IgG pozitív kontrollminta*:

CONTROL + IgG

1x500µl HHV-8 IgG antitest pozitív emberi kontrollminta. Nátrium-azidot tartalmaz. Használatra kész.

3. Negatív kontrollminta*:

CONTROL - IgG

1x500µl HHV-8 IgG antitest negatív emberi kontrollminta. Nátrium-azidot tartalmaz. Használatra kész.

4. FITC anti-humán IgG konjugátum*:

CONJ IgG

1x1.8ml fluoreszceinnel konjugált kecskéből (inaktivált) származó anti-humán IgG (súlyos és könnyű lánc) Evans Blue és Rhodamine utánszínezővel. Nátrium-azidot tartalmaz. Használatra kész.

5. Beágyazó közeg:

MM

1x2ml Tris pufferes glicerol. Thiomersalt (0,01%) tartalmaz. Használatra kész.

6. Mosópuffer koncentrátum (PBS):

BUF WASH CONC

3x tasakocská. A zárt alumínium tasakocskákban található mosópuffer por egy liter 1x mosópuffer előállításához elegendő.

7. Lemez itató:

BLT

A nedvszívó itatósokon előre kivágott lyukak találhatók a lemez maszk szárításához.

8. Használati utasítás:



* Potenciálisan fertőző anyag

Szükséges kiegészítő anyagok

- Jó minőségű desztillált vagy deionizált víz.
- Pontos 20µl, 100µl és 200µl pipetták és egyszer használatos hegyek.
- Vérsavogyűjtő felszerelés.
- Időmérő.
- Mosószeres üvegek és mosótálca.
- Kémcsövek, rácsok, pipetták, mikrotitre lemezek és biztonsági pipettázó eszközök a minta hígításához.
- 37°C inkubátor.
- Nedves kamra a lemezek inkubálásához.
- Lemeztartó polc és festőedény a lemezek mosására.
- Fedőlemezek: 22x50mm 1 sz. vastagságú üveg.
- Fluoreszcens mikroszkóp: A kontrollminták és a konjugátumok kalibrálásához az alábbiakkal felszerelt fluoreszcens mikroszkópot használták.
- 10x szemlencse.
- 16x vagy 40x objektív.
- Epi-világítóberendezés 50W halogén lámpával.
- FITC-gerjesztőszűrő KP490.
- Sárga nedvszívó szűrő K530.
- Piros visszatartószűrő BG38.

A fluorescein címke 490nm gerjesztési csúccsal és 520nm emissziós csúccsal rendelkezik. A végpont reaktivitás és a fluoreszcenciás intenzitás közötti különbség a laboratóriumban használt fluoreszcenciás berendezés típusától és állapotától függ.

Tárolás és állékonyság

- A készlet a külső doboz címkéjén megadott lejárat dátum idejéig stabilnak tekinthető, ha 2–8°C hőmérsékleten tárolják. Megjegyzés: Az itatósok 2-25°C között tárolhatók.
- Használat után, minden nem használt komponenst azonnal vissza kell helyezni 2-8°C tárolási hőmérsékletre.
- Az összeállított mosószer 4 hétig tárolható 2-8°C hőmérsékleten.

Mintavétel és tárolás

- A mintákat aseptikus laboratóriumi módszerek segítségével kell begyűjteni. A minták 1 hétig tárolhatók 2-8°C hőmérsékleten és –20°C hőmérsékleten ennél tovább is. Kerülni kell a többszörös fagyasztást és olvasztást.
- A több időn keresztül összegyűjtött vérsavó vagy plazma mintákat a szerokonverzió vagy jelentős titre növekedés bizonyítására, 7-14 napra kell egymástól gyűjteni és -20°C hőmérsékleten tárolni. Ezeket a mintákat ezután szimultán kell vizsgálni.

Reagens és minta előkészítése

Reagens előkészítés

Mosópuffer: A PBS tasak teljes tartalmát adja hozzá 1 l friss desztillált vagy deionizált vízhez. Tárolja tiszta, zárt tartályban 2-8°C fokon, max. 4 hétig.

Megjegyzés: Ha gyors keverés közben sót ad hozzá, elősegíti az oldódást.

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

Minta előkészítés

Kvalitatív vizsgálat: Hígítsa a mintát 1:64 mértékben mosópufferrel. Az összes hígítást minimum 100µl mosópufferben készítse elő.

Kvantitatív vizsgálat: A minta titer a minta mosópufferben történő kétszeres sorozatos hígításának előkészítésével határozható meg, kezdve 1:64 hígítástól, egyforma mennyiségű hígított minta és mosópuffer hozzáadásával minden egyes hígításnál, amíg egy '+1' fokú fluoreszcenciát érünk el (lásd 'Az eredmények értékelése' részt).

A vizsgálat menete

Használat előtt hagyja, hogy minden komponens szobahőmérsékletűvé váljon (20 -25°C).

1. Lemezek előkészítése

Vegye ki a kívánt számú lemezt a védőtasakból és egy viaszceruza segítségével húzzon vonalat a cellák elválasztásához. A számozott cellákba csepegtessen 1 cseppet (kb. 20µl) mindegyik hígított vizsgálati mintából és 1 cseppet (kb. 20µl) a használatra kész pozitív és negatív kontrollmintákból és 1 cseppet a mosópufferből. Megjegyzés: Adagoljon elég mennyiséget a cellák teljes betöltéséhez, de a cellák tartalmát ne keverje össze.

2. Inkubálja a mintákat

Inkubálja a lemezeket nedves kamrában 30 percig 35-39°C fokon.

3. Mossa le a lemezeket

A peremük mentén mossa le a lemezeket gyenge sugarú mosópufferben egy mosóüveggel. A sugarat ne irányítsa a cellák felé. Helyezze a lemezeket egy mosópuffert tartalmazó mosótálcára 10 percig szobahőmérsékleten (20-25°C) és cserélje ki a mosópuffer oldatot 5 perc múlva, enyhe rázogatás kíséretében. A cellákat körülvevő festékmazskot színezzé be a mellékelt színezővel.

4. Inkubálás konjugátummal

Tegyen 1 cseppet (kb. 20µl) a használatra kész konjugátumból mindegyik vizsgálati cellába. Inkubálja a lemezeket nedves kamrában 30 percig 35-39°C fokon.

5. Mossa le a lemezeket

Ismételje meg a 3. lépést.

6. Alkalmazza a beágyazó közeget

Mindegyik cella közepébe tegyen 1 kis csepp beágyazó közeget és tegye fel a fedelet.

7. Vizsgálja meg a lemezeket

Vizsgálja meg a lemezeket egy fluoreszcens mikroszkóppal 200-500x nagyítást használva. A jobb eredmények érdekében, vizsgálja meg a lemezeket azonnal a vizsgálat elvégzése után. (Hasonló eredmények eléréséhez, zárja le a lemezeket vagy tartsa azokat nedvesen a beágyazó anyag száradásának csökkentésére. Tárolja sötét helyen 2-8°C fokon. Értékelje 3 napon belül.)

8. Osztályozás

A pozitív reakció fluoreszcencia szintjén fényestől halványig terjed. A fluoreszcens reakciót az alábbi intenzitási skála alapján osztályozza: +4 (nagyon fényes), +3 (fényes), +2 (mérsékelt), +1 (gyenge).

Az eredmények értékelése

Negatív reakció

Egy minta akkor negatív HHV-8 IgG antitestekre nézve, ha a fertőzött cellák fluoreszcens színezése hiányzik.

Pozitív reakció

- Bomló antigén esetén, a teljes sejt, a citoplazma és a sejtmag is fluoreszkál.
- Egy minta akkor tekinthető HHV-8 IgG pozitívnak, ha a fertőzött sejtek zöld fluoreszkáló színezése létrejön $\geq 1:64$ hígításnál és a színezési sablon hasonlít a pozitív kontrollminta sablonjához. A homályos zöld sejtek, amelyek nem hasonlítanak a pozitív kontrollmintához, negatívnak tekinthetők.

+4 = nagyon fényes zöld fluoreszcencia amely nagyon magas titer HHV-8 IgG antitest választ jelöl.

+3 = fényes zöld fluoreszcencia amely magas titer HHV-8 IgG antitest választ jelöl.

+2 = zöld fluoreszcencia amely közepes titer HHV-8 IgG antitest választ jelöl.

+1 = homályos zöld fluoreszcencia amely alacsony titer HHV-8 IgG antitest választ jelöl. Ez a minta hígítási végpontját vagy titerjét is jelöli.

- A HHV-8 IgG pozitív minták titrálása kvantitatív eredményeket szolgáltat. Titrálási sorozatban, a legmagasabb vérsavó hígítási szint, amely "+1" reakciót ad, végpont titernek tekintendő.
- Egy belső ellenőrzés érdekében, a mikroszkóp lemezének minden egyes cellája tartalmaz HHV-8 fertőzött és fertőzetlen sejteket. A lemez ilyen fajta előkészítése szándékos. A fertőzetlen sejtek, amelyeket a utánszínezés pirosra festett, kontrasztos hátteret szolgáltatnak.

Az értékelés jelentősége

A vizsgált hígításnál nem találtak megfigyelhető fertőzött sejt fluoreszcenciát.	A vizsgált minta HHV-8 IgG antitest negatív.
Véletlenszerű zöld sejtek a fertőzött sejtek észlelhető fluoreszkálása nélkül.	A vizsgált minta HHV-8 IgG antitest negatív.
A fertőzött sejtek nem adnak legalább 1+ reakciót	A vizsgált minta nem-reaktív és HHV-8 IgG antitest negatívnak nyilvánul.
A vizsgált vagy magasabb fokú hígításnál találtak megfigyelhető fertőzött sejt fluoreszcenciát.	A vizsgált minta HHV-8 IgG antitest pozitív, ami előzetes HHV-8 fertőzésre utal. A szerokonverzió vagy az IgG antitestek titerjének négyszeres vagy nagyobb mértékű megnövekedése párosított vérsavó minták esetén, friss HHV-8 fertőzésre utal.
Fluoreszcencia a fertőzött és a nem fertőzött sejtekben is.	A vizsgált minta nem specifikus reakciót ad.

Minőségellenőrzési kritériumok

Minden vizsgálatnak tartalmaznia kell egy pozitív kontrollmintát, negatív kontrollmintát és egy üres cellát, amely csak mosópuffert tartalmaz. Egy vizsgálat eredményei akkor érvényesek, ha a következő feltételek teljesültek:

1. A készletben található HHV-8 IgG pozitív kontrollminta eléri a $\geq +2$ fluoreszcencia intenzitást.
2. A készletben található HHV-8 IgG negatív kontrollminta nem ad látható fluoreszcenciát.
3. A csak mosópuffert tartalmazó cella nem ad látható fluoreszcenciát.

Megjegyzés: A mosópuffert tartalmazó cella konjugátum kontrollmintaként szolgál és biztosítja, hogy a konjugátum nem lép reakcióba a sejt szubsztrátummal.

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

Várt értékek

Szeroprevalencia

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

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

A felelősség korlátozása

- A szerológiai vizsgálatok, mint az IFA a vírusos fertőzés kimutatására szolgálnak, de ez nem lehet az egyetlen kritérium a kiértékelésnél. A vizsgálati eredményeket össze kell hasonlítani a páciens klinikai és járványtani profiljával és más laboratóriumi eredményekkel.
- A HHV-8 IgG antitest egyetlen pozitív eredménye azt jelzi, hogy a vírussal már volt előzetes érintkezés vagy fertőzés. Járványtani célokra egyszeres eredmény megfelelő. Ugyanakkor, azt nem ajánlatos aktuális vagy új keletű fertőzés kimutatására. Aktuális vagy új keletű fertőzés kimutatására a 7-14 npra egymástól begyűjtött párosított plazma vagy vérsavó minták szimultán vizsgálatát kell elvégezni. Egy négyszeres vagy ennél nagyobb mértékű titer növekedés az elsőtől a második mintáig aktuális vagy új keletű fertőzésre utal.
- Autoimmun, mint pl. az anti-nukleáris antitestekkel járó (ANA), betegségben szenvedő páciensek esetén a Biotrin vizsgálat nem-specifikus pozitív reakciókat észlelt. A fertőzött és a nem fertőzött sejtek is fluoreszkálnak, ezzel egy pozitív HHV-8 reakciót adva. Ezért, egy autoimmun reakció megfigyelése nem zárhatja ki a HHV-8 fertőzés lehetőségét. A bomló antitestek vizsgálatánál, létezik a pozitív ANA reakció pozitív bomló antitestként történő értékelésének a veszélye. Az ANA minta értékelésének összehasonlítása a pozitív kontrollminta reakciójával segíthet a hamis pozitívok kiszűrésében.

Teljesítmény jellemzők

Érzékenység és specificitás

Diagnosztikai érzékenység

HHV-8 IgG antitestek elemzésére, egy más ismert pozitív mintaalapból 33 mintát megvizsgáltak a Biotrin HHV-8 IgG IFA módszerrel. Az összes 33 pozitív eredményt adott, 100%-os érzékenységet jelezve. A pozitív mintaalapot egy másik kereskedelemben kapható vizsgálati készlettel vizsgálták meg.

Érzékenység=Valódi pozitívak/(Valódi pozitívak+Hamis negatívak +Határozatlanok) x 100

Érzékenység =33/(33 + 0 + 0) x 100 = 100%

Érzékenység = 100%

Diagnosztikai specificitás

A Biotrin HHV-8 IgG IFA specificitását 122 véradó negatív mintájának megvizsgálásával végezték el. Ezeket a mintákat negatívnak találták miután megvizsgálták azokat a Biotrin HHV-8 IgG IFA módszerrel és két másik - kereskedelemben kapható - vizsgálati készlettel a kettő a háromból szabályt alkalmazva. A 122 mintából, 114 negatív és 8 pozitív lett. 94% specificitást értek el az alábbi egyenlet alapján:

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

% Specificitás 114/(114 +8 + 0) x 100 = 94%

% Specificitás = 94%

Keresztreaktivitás

A Biotrin HHV-8 IgG IFA specificitásának megállapítására, 42 vérsavó mintát vizsgáltak meg. A következő táblázat összefoglalja az eredményeket, a következő betegségben szenvedő betegek vérsavó mintájának megvizsgálását követően:

1. Táblázat

Vírus	Biotrin HHV- 8 IgG IFA
Lyme	0/3
Emberi T-sejt nyirokcsomósorvadás vírus (HTVL)	0/2
Antinukleáris antitest (ANA) ¹	3/3
HHV6 IgG	0/3
HIV-1	0/9
Hep C	0/2
Hep B	0/2
Cytomegalovírus (CMV IgG)	0/4
Epstein Barr Vírus (EBV)	0/2
Herpes Simplex Vírus (HSV)	0/3
Varicella Zoster Vírus (VZV)	0/2

¹ Keresztreakciók (lásd a Felelősség korlátozása részt).

Interferenciák (elemzési specificitás)

Az interferencia vizsgálat a hemolízis, bilirubin és a reumaszerű tényezők vizsgálatát tartalmazta.

Egyes nem-specifikus fluoreszcenciát észleltek. Ugyanakkor, ezek nem interferálódtak a fluoreszcencia intenzitásának értékelésénél pozitív eredmény esetén. Az összes festett lemezen egy téglavörös utánszínezés volt észlelhető.

Reprodukálhatóság

Vizsgálaton belüli reprodukálhatóság

Amikor készlet kontrollmintákat, mosópuffer kontrollmintákat, átlagos és magas titerű IgG mintákat vizsgáltak 20 alkalommal 3 különböző termékcsomagból ugyanazon a napon, az eredmények a következők voltak.

2. Táblázat

Kontrollminták	1. csomag	2. csomag	3. csomag
PC	3+/4+	3+-4+	4+
NC	0	0	0
Mosópuffer	0	0	0
MAGAS	1. csomag	2. csomag	3. csomag
1	3+/4+	3+/4+	3+/4+
2	3+	3+/4+	4+
3	3+/4+	3+	4+
4	3+	3+	4+
5	3+/4+	3+	4+
6	3+	3+	4+
7	3+	3+	4+
8	3+	3+/4+	4+
9	3+	3+	4+
10	3+	3+/4+	3+/4+
11	3+	3+	4+
12	3+	3+/4+	3+/4+
13	3+	3+	4+
14	3+	3+	4+
15	3+	3+	4+
16	3+	3+	4+
17	3+	3+	4+
18	3+	3+/4+	3+/4+
19	3+	3+/4+	4+
20	3+/4+	3+/4+	3+/4+
KÖZEPES	1. csomag	2. csomag	3. csomag
1	2+	2+	2+/3+
2	1+/2+	2+	2+
3	2+	2+	2+/3+
4	2+	2+	2+
5	1+/2+	2+	2+
6	2+	2+/3+	2+
7	2+	2+	2+
8	2+	2+	2+/3+
9	1+/2+	2+	2+/3+
10	2+	2+	2+3+
11	2+	2+	2+
12	2+	2+	2+
13	1+/2+	2+	2+
14	1+/2+	2+	2+
15	1+	2+	2+
16	2+	2+	2+3+
17	2+	2+	2+
18	1+/2+	2+	2+/3+
19	2+	2+	2+/3+
20	2+	2+	2+

Vizsgálatok közötti reprodukálhatóság

Amikor készlet kontrollmintákat, mosópuffer kontrollmintákat, alacsony, átlagos és magas titerű IgG vérsavó mintákat vizsgáltak 10 alkalommal 3 különböző termékcsomagból különböző napon, az eredmények a következők voltak.

3a. Táblázat

1. csomag

Minták	1. vizsgálat	2. vizsgálat	3. vizsgálat	4. vizsgálat	5. vizsgálat	6. vizsgálat	7. vizsgálat	8. vizsgálat	9. vizsgálat	10. vizsgálat
PC	3+/4+	3+	3+/4+	3+	3+	3+	3+/4+	3+/4+	4+	3+/4+
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mosópuffer	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Magas	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
Magas	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+	4+	3+/4+
Közepes	1+/2+	2+	2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	2+	1+	1+/2+	1+
Közepes	1+	1+	1+/2+	1+	1+	1+/2+	2+	1+	2+	1+
PC 1:256*	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
Negatív	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Negatív	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3b. Táblázat

2. csomag

Minták	1. vizsgálat	2. vizsgálat	3. vizsgálat	4. vizsgálat	5. vizsgálat	6. vizsgálat	7. vizsgálat	8. vizsgálat	9. vizsgálat	10. vizsgálat
PC	4+	3+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+	3+	3+	3+/4+
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mosópuffer	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Magas	3+/4+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
Magas	4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+
Közepes	2+	2+	1+/2+	2+	2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+	2+
Közepes	1+	1+	1+	1+/2+	1+	1+/2+	1+	1+	1+/2+	1+/2+
PC 1:256*	1+/2+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+/2+
Negatív	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Negatív	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3c. Táblázat

3. csomag

Minták	1. vizsgálat	2. vizsgálat	3. vizsgálat	4. vizsgálat	5. vizsgálat	6. vizsgálat	7. vizsgálat	8. vizsgálat	9. vizsgálat	10. vizsgálat
PC	3+	3+	3+/4+	4+	3+/4+	4+	3+/4+	3+/4+	4+	3+
NC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mosópuffer	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Magas	3+	3+	3+	4+	2+/3+	3+	2+/3+	3+	3+	2+/3+
Magas	4+	3+/4+	3+/4+	4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+/4+	3+
Közepes	1+	1+	1+/2+	2+/3+	1+/2+	1+/2+	2+	1+/2+	2+	1+
Közepes	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+/2+	1+	1+
PC 1:256*	2+	1+/2+	1+/2+	2+	2+	1+/2+	1+	2+	2+	1+
Negatív	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Negatív	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* Tartalmazott egy pozitív kontrollmintát 1:256 mosópufferes hígítással

A HHV-8 IgG IFA eljárás rövid ismertetése

Fontos észrevétel:

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

Kvalitatív meghatározás: Hígítsa a páciens mintát 1:64 mértékben mosópufferrel
Kvantitatív titrálás: Kezdje 1:64 minta hígítással mosópufferben, majd adjon egyforma mennyiségű hígított mintát és mosópuffert minden egyes következő hígításnál



Adagoljon ~20µl pozitív kontrollmintát a lemez 1. sz. cellájába
Adagoljon ~20µl negatív kontrollmintát a lemez 2. sz. cellájába
Adagoljon ~20µl mosópuffert a lemez 3. sz. cellájába
Adagoljon ~20µl hígított mintát a többi cellába (cellánként egy minta)



Inkubálja a lemezt 35-39°C fokon 30 percig



Mossa le a lemezt mosópufferrel



Minden cellába adagoljon 20µl (1 csepp) konjugátumot



Inkubálja a lemezt 35-39°C fokon 30 percig



Mossa le a lemezt mosópufferrel



Helyezzen 10µl beágyazó közeget mindegyik cellába és fedje le



Vizsgálja meg a lemezt egy fluoreszcens mikroszkóppal

Referenciák

1. Chang Y. *et al*/ Science 265:1865-1869, 1994.
2. Dukers *et al.*: Risk factors for Human Herpesvirus 8 seropositivity and seroconversion in a cohort of homosexual men. American J or Epidemiology 2000; 151, 213-24.
3. T. F Schulz: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (Human Herpesvirus 8): epidemiology and pathogenesis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2000; 45, Topic T3, 15-27.
4. Gao SJ *et al.*: KSHV antibodies among Americans, Italians and Ugandans with and without Kaposi's sarcoma. Natl Med 1996; 2:925-8.
5. Whitby D *et al.*: Human herpesvirus 8 seroprevalence in blood donors and lymphoma patients from different regions of Italy. J Natl Cancer Inst 1998;90:395-7.
6. Sitas F *et al.*: Antibodies against human herpesvirus 8 in black South African patients with Cancer. N Engl J of Medicine 1999; 340:1863-71.
7. Francis C: Kaposi's sarcoma after renal transplantation. Nephrol Dial Transport 1998; 13:2768-2773.
8. Frances C *et al.*: Outcome of kidney transplant recipients with previous human herpesvirus-8 infection. Transplantation 2000; 69(9) 1776-1779.
9. J.P. Allain: Emerging viral infections relevant to transfusion medicine. Blood Review 2000; 14, 173-181.
10. Gao *et al.*: Seroconversion to antibodies against Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-related latent nuclear antigens before the development of Kaposi's sarcoma. N Engl J of Med 1996; 335:233-41.
11. Cesarman E, Knowles, D.M.: The role of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV / HHV-8) in lymphoproliferative diseases. Cancer Biology 1999;9, 165-174.
12. Smith M.S. *et al.*: 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. J of Infect Dis 1997; 176:84-93.
13. Spira TJ *et al.*: Comparison of serological assays and PCR for Diagnosis of Human herpesvirus 8 infection. J of Clinical Microbiology 2000; 38 (6): 2174-2180.
14. Antman K: Kaposi's sarcoma. Medical Progress 2000; 342; 14 1027-1037.

Jelmagyarázat

In-vitro diagnosztikai orvosi eszköz

IVD

Csomagkód

LOT

Katalógus szám

REF

Hőmérséklet korlátozás



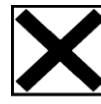
Lejárat dátum



Gyártó



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



Használati utasítás:



Kiegészítő Biotrin termékek

A Biotrin International egy - a rutinszerű laboratóriumi diagnosztikának megfelelő - egyedi Humán herpeszvírus vizsgálati készletet ajánl fel az érdeklődők számára.

Catalogue Number:	Product	Number of tests
V3HHV6	Human Herpesvirus-6 IgG IFA	4 X 10 well slides
V17HHV6	Human Herpesvirus-6 IgM IFA	4 X 10 well slides
V15HHV6	Human Herpesvirus-6 IgG EIA	96 well plate EIA
V18HHV8	Human Herpesvirus-8 IgG IFA	6 X 10 well slides
V19HHV8	Human Herpesvirus-8 IgG EIA	96 well plate EIA

Biotrin International Ltd.
93 The Rise, Mount Merrion
Co. Dublin
Ireland
Tel: +353 (01) 2831166
Fax: +353 (01) 2831232
E-mail: info@biotrin.ie
www.biotrin.com



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

www.biotrin.com