

НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgA К ВИРУСУ ГЕРПЕСА 1 ТИПА

1400-11, HSV1 IgA

Каталог. № : 1400-11
Количество : 96
Производитель: DAI (США)

Методика от 10-10-2009



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Количество тестов	96 тестов
Тест	HSV 1 IgA ИФА
Метод	ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ
Принцип	Непрямой ИФА: планшет, покрытый антителами
Диапазон обнаружения	Качественный: Положительный, Отрицательный Контроль и Cut-off
Образец	5 мкл Сыворотки
Специфичность	98.70 %
Чувствительность	98 %
Общее время	~ 90 минут
Срок хранения	12-18 месяцев

**Лабораторные анализы не могут быть единственными критериями для медицинского заключения. История болезни пациента и последующие тесты должны быть приняты во внимание.*

НАЗВАНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

Набор HSV 1 IgA предназначен для обнаружения антител IgA к вирусу простого герпеса 1 (ВПГ 1).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Вирус герпеса простого является широко распространенным патогеном и его первичная инфекция обычно асимптоматична. Есть два типа HSV: тип 1 и тип 2. HSV 1 в основном ассоциируется с оральной инфекцией и повреждениями верхней части туловища, HSV 2 ассоциируется с половыми инфекциями и повреждениями нижней части туловища. Клиническими случаями являются: 1) экзема herpeticum с экземными изменениями кожи и численными повреждениями; 2) гингиво-стоматит и 3) герпес сепсис, найденный в большинстве случаев только в новорожденных или преждевременно рожденных детей. Данный набор является чувствительным серологическим методом для определения антитела специфического HSV в образце сыворотки.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Очищенный антиген привит к поверхности микроочеек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки, и специфическое антитело HSV 1 IgA, если оно присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления ферментного конъюгата, он связывается с комплексом антитело-антиген. Остатки ферментного конъюгата вымываются, и добавляются субстрат и хромоген. Каталитическая реакция останавливается в специфическое время. Интенсивность вырабатываемого цвета пропорциональна количеству специфического IgA антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Лунки микроплшета, покрытые очищенным антигеном HSV 1 (12x8 лунок)
2. Абсорбирующий раствор: черная крышка, 1 бут., 22мл
3. Промывочный Концентрат 10x: Белая крышка, 1 бутылка, 100 мл
4. Хромогенный субстрат ТМБ: янтарная бутылка, 1 фл., 15 мл
5. Ферментный конъюгат: раствор красного цвета, 1 флакон, 12 мл
6. Cut-off Калибратор: желтая крышка. Индекс = 1.0, 1 флакон, 150 мкл
7. Отрицательный Контроль: Диапазон указан на этикетке. Бесцветная крышка. 1 флакон, 150 мкл
8. Положительный Контроль: Диапазон указан на этикетке. Красная крышка. 1 флакон, 150 мкл

9. Стоп раствор 2N HCl: 1 фл., 12 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните реагенты при 2-8°C.
2. Микропланшет хранить в закрытой упаковке с осушителем. Рекомендуется использовать все лунки на протяжении недель после открытия.
3. Все реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергать реагенты воздействию тепла, солнца или яркого света во время их хранения или использования.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Потенциально инфекционный материал. Несмотря на то, что все компоненты набора, содержащие сыворотку крови человека, проверены на отсутствие вирусов гепатита В и ВИЧ (1+2), ни один из известных методов не может дать полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому необходимо обращаться с данными реагентами, как с потенциально инфекционным материалом.
2. Запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой при работе с реагентами, пипетировать компоненты набора ртом.
3. Компоненты набора предназначены для использования как единое целое. Не смешивайте компоненты разных серий.
4. Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом и медью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

СБОР И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Собрать образцы крови и отделить сыворотку.
2. Образцы можно хранить при 2-8°C не более одной недели или замороженными в течение 6 месяцев. Избегать повторного замораживания и оттаивания проб.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1. Подготовка 1x промывочного буфера:
Подготовить промывочный буфер, добавляя дистиллированную или деионизированную воду к концентрату 10x промывочного буфера до окончательного объема 1 литр.
2. Приведите все компоненты набора и анализируемые образцы к комнатной температуре (20-25°C) и аккуратно перемешайте.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместить нужное количество стрипов в штатив.
2. Развести разбавителем для образцов в соотношении 1:40, добавляя 5 мкл образца, отрицательного, положительного калибратора и калибратора порогового значения к 200 мкл разбавителя для образцов. Тщательно перемешать.
3. В соответствующие лунки внести по 100 мкл разведённых образцов сыворотки, калибраторов. Для определения фона внести 100 мкл разбавителя для образцов в лунку 1А. Удалить пузырьки воздуха из жидкости и тщательно перемешать содержимое лунок. Инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
4. Удалить жидкость из лунок и промыть их 3 раза промывочным раствором 350 мкл.
5. Внести в каждую лунку по 100 мкл ферментного конъюгата, и инкубировать 30 минут при комнатной температуре.
6. Удалить ферментный конъюгат из всех лунок, и промыть их 3 раза промывочным раствором 350 мкл.
7. Внести 100 мкл ТМБ хромогенного раствора и инкубировать 15 минут при комнатной температуре.
8. Внести 100 мкл стоп раствора для остановки реакции.

Убедиться, что перед помещением планшета в ридер ни в одной лунке нет пузырьков воздуха.

9. С помощью ридера измерить оптическую плотность лунок при 450 нм.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Подсчитать среднее значение дубликатов калибратора Xc.
2. Рассчитать среднее дубликатов положительного контроля, отрицательного контроля и образцов.
3. Рассчитать Индекс HSV 1 A каждого определения делением среднего значения каждого образца на среднее значение калибратора, Xc.

Например:

Индекс HSV 1 A Калибратора Cut-off = 1.0

OD Калибратора = 0.358, 0.365 OD Положительного контроля = 1.305, 1.346
Xc = 0.362

$X_p = 1.326$
 OD Отрицательного контроля = 0.158, 0.162
 $X_n = 0.160$
 Индекс HSV 1 A = $1.326/0.362 = 3.66$
 Индекс HSV 1 A = $0.160/0.362 = 0.44$
 OD Образца пациента = 1.409, 1.459
 $X_s = 1.434$
 Индекс HSV 1 A = $1.434/0.362 = 3.96$



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
 ул. Чорновола, 97
 г. Ивано-Франковск, 76005
 тел.: +38 (0342) 775 122
 факс: +38 (0342) 775 123
 e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Ход анализа можно считать удовлетворительным, если выполняются следующие требования:

1. ОП контрольного реагента с микропланшетного ридера должна быть меньше 0.150
2. Если ОП калибратора будет меньше 0.250, тест считается не действительным и его нужно повторить.
3. Индекс HSV 1 A для отрицательного и положительного контроля должны быть в пределах, указанных на этикетке.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: Индекс HSV 1 A 0.90 или ниже – результат сероотрицательный.

Сомнительный: Индекс HSV 1 A в пределах 0.91-0.99 – результат сомнительный. Образцы следует повторно исследовать.

Положительный: Индекс HSV 1 A 1.00 или выше – результат сероположительный.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

49 образцов сыворотки от случайных бессимптомных доноров были протестированы набором DAI HSV 1 IgA. Из 49 образцов 31 оказался положительным (63.3%) и 18 были отрицательными (36.7%). Из этих 31 IgA положительных образцов оказались положительными также и для IgG. Распространенность может варьироваться в зависимости от различных факторов, таких как географическое положение, возраст, социально-экономический статус, раса, тип теста, который используется, сбор образцов и процедуры обработки, клинический и эпидемиологический анамнез.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точность:

Точность анализа была оценена тестированием трех разных сывороток в восьми дублях в течение 1 недели. Внутри и между сериями C.V. приведены ниже:

	Отрицательный	Низко положительный	Положительный
В анализе	9.8 %	7.5 %	5.6 %
Между анализами	10.8 %	8.9 %	6.7 %

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Для предотвращения фальшиво отрицательных и фальшиво положительных результатов IgA тестирования, что может быть вызвано присутствием специфического IgG и ревматоидного фактора в некоторых образцах, реагенты, поставляемые в этом наборе, разработаны таким образом, чтоб решить эту проблему. Однако, для образцов с высоким RF и высокими аутоиммунными антителами возможность этого влияния не решена.
2. Как и в других серологических анализах, результаты этого анализа должны интерпретироваться совместно с другой клинической информацией.
3. Отрицательный серологический тест не исключает возможности перенесенной инфекции. После первичной инфекции ВПГ, уровень антител может упасть до неопределяемых значений, а затем увеличиться при более позднем клиническом инфицировании. Такое явление может привести к неправильной интерпретации сероконверсии и первичной инфекции или отрицательного статуса антител. Кроме того, образцы, полученные слишком рано во время первичной инфекции, могут не содержать обнаруживаемых антител. У некоторых пациентов могут не развиваться обнаруживаемые антитела после заражения герпесом.