

НАБОР ИФА

ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К ВИРУСУ ГЕРПЕСА 1 ТИПА

1401Z, HSV1 IgG

Каталог. № : 1401Z
Производитель: DAI (США)

Методика от 08-23-2013



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

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

| | |
|----------------------|---|
| Количество тестов | 96 тестов |
| Тест | HSV 1 IgG ИФА |
| Метод | ИФА: Твердофазный иммуносорбентный анализ |
| Принцип | Непрямой ИФА: захват антител |
| Диапазон обнаружения | Качественный: Положительный, Отрицательный Контроль и Cut-off |
| Образец | 5 мкл Сыворотки |
| Специфичность | 100 % |
| Чувствительность | 100 % |
| Общее время | ~ 75 минут |
| Срок хранения | 12-18 месяцев |
| Температура хранения | 2-8 °C |

**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 IgG предназначен для определения серологического статуса пациента при инфекции вируса герпеса простого или оценки парных сывороток при значительном увеличении герпес специфического IgG.

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 микроячеек. Разбавленная сыворотка пациента добавляется в лунки, и специфическое антитело HSV 1 IgG, 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 IgG антитела в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Лунки микропланшета, покрытые очищенным антигеном HSV 1 (12x8 лунок)
2. Разбавитель образца: раствор синего цвета, 1 бут. (22мл)
3. Калибратор: Значение коэффициента (f) указано на этикетке. Красная крышка. 1 флакон, 150 мкл
4. Отрицательный Контроль: Диапазон указан на этикетке. Бесцветная крышка. 1 флакон, 150 мкл
5. Положительный Контроль: Диапазон указан на этикетке. Зеленая крышка. 1 флакон, 150 мкл
6. Промывочный Концентрат 10x: Белая крышка, 1 флакон, 100 мл
7. Ферментный конъюгат: раствор красного цвета, 1 флакон, 12 мл

8. Хромогенный субстрат ТМБ: янтарная бутылка, 1 фл., 12 мл
9. Стоп раствор: 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. Данный набор разработан для использования in vitro.
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 разведенных 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. Для получения Cut-off значения ОП: Умножить ОП калибратора на коэффициент (F), напечатанный на этикетке калибратора.
2. Подсчитать коэффициент IgG каждого определения делением значения ОП каждого образца на полученное Cut-off значение.

Например:

Если Значение фактора (F) на этикетке = 0.4
Этот фактор (F) является величиной переменной. Это может быть 0.35 или 0.5 и т.д. на этикетке калибратора.

Полученное значение O.D. калибратора = 1.100
 Предельное значение O.D. = 1.100 x 0.4 = 0.44 (по определению индекса IgG = 1)
 O.D. Образца пациента = 0.580
 Индекс IgG = 0.580/0.44 = 1.32 (положительный результат)

O.D. Образца пациента = 0.320
 Индекс IgG = 0.320/0.44 = 0.73 (отрицательный результат)

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. HSV 1 IgG для отрицательного и положительного контроля должны быть в пределах, указанных на этикетке.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: коэффициент HSV 1 IgG 90 или ниже является сероотрицательным для антитела класса IgG к HSV 1

Сомнительный: HSV 1 IgG в пределах 91-99 является сомнительным. Образцы следует повторно исследовать

Положительный: HSV 1 IgG 100 или выше является сероположительным

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность:

Исследовались 66 образцов сыворотки для оценки специфичности и чувствительности анализа. Результаты указаны ниже:

| | | Референтный ИФА | | | |
|------------|----------|-----------------|---------|----------|-------|
| | | Отриц. | Сомнит. | Положит. | Всего |
| ИФА ДАИ | Отриц. | 20 (D) | 0 | 0 (B) | 20 |
| | Сомнит. | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | Положит. | 0 (C) | 0 | 45 (A) | 45 |
| | Всего | 20 | 0 | 46 | 66 |

Чувствительность = $A/(A+B) = 45/(45+0) = 100\%$

Специфичность = $D/(C+D) = 20/(0+20) = 100\%$

Точность = $(A+D)/(A+B+C+D) = (45+20)/(45+0+0+20) = 65/65 = 100\%$

Точность

Точность была оценена тестированием трех разных сывороток 8 репликантов в течение одной недели. КВ в анализе и между ними указаны ниже:

| | Отрицательный | Низко положительный | Положительный |
|-----------------|---------------|---------------------|---------------|
| В анализе | 8.9% | 7.5% | 6.8% |
| Между анализами | 10.3% | 8.3% | 7.5% |

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Как и в других серологических анализах, результаты этого анализа должны интерпретироваться совместно с другой клинической информацией.
2. Образцы, полученные слишком рано во время первичной инфекции, могут не содержать определяемый уровень антитела.
3. Один образец сыворотки не должен использоваться в целях диагностики недавней инфекции. Пара образцов сыворотки должна быть собрана и тестирована одновременно на сероконверсию.

СХЕМА ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА

| Шаг | (20-25°C КТ) | Объем | Время инкубации |
|-----|--|---------|-----------------|
| 1 | Разбавление образца 1:40 = 5 мкл/200 мкл | | |
| 2 | Разбавленный образец и калибраторы | 100 мкл | 30 минут |
| 3 | Промывание (3 раза) | 350 мкл | |
| 4 | Ферментный конъюгат | 100 мкл | 30 минут |
| 5 | Промывание (3 раза) | 350 мкл | |
| 6 | ТМБ хромогенный субстрат | 100 мкл | 15 минут |
| 7 | Стоп раствор | 100 мкл | |
| 8 | Считывание ОП при 450 нм | | |



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

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