

# НАБОР ИФА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА IgG К ВИРУСУ ГЕРПЕСА ПРОСТОГО 1,2 ТИПА

## 1443-11, HSV 1,2 IgG

Каталог. № : 1443-11  
Количество : 96  
Производитель: DAI (США)

Методика от 08-31-2012



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

Анализ	HSV 1,2 IgG
Метод	Иммуносорбентный анализ с применением фиксированных ферментов
Принцип	Непрямой ИФА; покрытый антигенами планшет
Диапазон обнаружения	Качественный - положительный; отрицательный контроль и пороговое значение (cut-off)
Образец	5 мкл сыворотки
Специфичность	100 %
Чувствительность	100 %
Общее время	~ 90 мин.
Срок годности	12-18 мес.

### НАЗВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ

Этот набор предназначен для определения антител IgG вируса герпеса простого 1 и 2 типа (HSV 1/2).

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ АНАЛИЗА

HSV является распространенным патогеном и его первичная инфекция часто асимптоматична. Есть два дистинктивных типа HSV: тип 1 и тип 2. HSV 1 ассоциируется с оральной инфекцией, а HSV 2 ассоциируется с инфекциями гениталий. Первыми клиническими признаками есть: 1) герпетическая экзема с экземаতোзными изменениями кожи с численными повреждениями; 2) гингивостоматит; 3) герпесный сепсис, наиболее распространен в новорожденных при преждевременных родах. Данный набор является точным серологическим методом для определения HSV специфических антител IgG в образце сыворотки.

### ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Очищенный антиген покрывает поверхность микропланшета. В лунки добавляется разбавленная сыворотка пациента и специфическое антитело IgG, если оно присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления энзимного конъюгата, он связывается с комплексом антитело-антиген. Остатки конъюгата вымываются и добавляется субстрат и хромоген. Ферментный конъюгат вступает в каталитическую реакцию и останавливается в определенное время. Интенсивность вырабатываемого цвета пропорциональна количеству специфического антитела IgG в образце. Результаты считываются микропланшетным ридером и сравниваются с калибратором и контролями, проводя параллели.

### ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. **Микропланшетные стрипы:** лунки покрытые очищенным антигеном HSV 1/2 – 12x8 лунок.
2. **Разбавитель образца:** раствор синего цвета – 1 бут. 22 мл
3. **Калибратор:** значение коэффициента указано на этикетке. Красный колпачок – 1 флакон, 150 мкл/фл.
4. **Отрицательный контроль:** диапазон указан на этикетке. Прозрачный колпачок – 150 мкл/фл.
5. **Положительный контроль:** диапазон указан на этикетке. Красный колпачок – 150 мкл/фл.
6. **Промывочный концентрат:** 10x, белый колпачок – 1 бут. 100 мл.
7. **Ферментный конъюгат:** раствор красного цвета – 1 фл/12мл.
8. **Хромогенный субстрат ТМБ:** янтарная бутылка – 1 фл/12мл.
9. **Стоп раствор:** 2N HCl – 1 фл. 12 мл.

### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить при 2-8°C.
2. Хранить микропланшет запечатанным в сухом пакете с осушителем. Мы рекомендуем использовать все лунки в течение 4 недель после вскрытия упаковки.
3. Реагенты стабильны до окончания срока пригодности.
4. Хранить реагенты вдали от тепла, солнца или сильного света.

### ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Потенциально инфекционный материал. Несмотря на то, что все компоненты набора, содержащие сыворотку крови человека, проверены на отсутствие вирусов гепатита В и ВИЧ, 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. Не пипетируйте ртом. Не едите, не пейте и не курите в местах использования реагентов.
3. Компоненты набора предназначены для использования как единое целое. Не смешивайте компоненты разных партий реагентов.
4. Это изделие содержит компоненты с азидом натрия. Азид натрия может реагировать с свинцом и медью и формировать взрывоопасное вещество. При попадании промойте большим количеством воды.

### СБОР И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы могут храниться при 2-8°C до семи дней или замороженными до шести месяцев. Избегайте повторных циклов замораживания и оттаивания.

### ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1. Приготовьте 1x промывочный буфер. Приготовьте промывочный буфер добавлением дистиллированной или деионизированной воды в 10x промывочный концентрат до конечного объема 1 л.
2. Приведите все образцы и реагенты к комнатной температуре (20-25°C) и хорошо смешайте.

### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите необходимое количество стрипов в держатель.
2. Приготовьте 1:40 разбавление добавлением 5 мкл образцов, отрицательного контроля, положительного контроля и калибратора в 200 мкл разбавителя образца. Тщательно перемешайте.
3. Внесите 100 мкл разбавленных сывороток, калибратора и контролей в соответствующие лунки. Для реагента бланка, внесите 100 мкл абсорбирующего раствора в лунку A1. Встряхните держатель для удаления пузырей и перемешайте. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
4. Удалите жидкость с лунок. Повторите промывание промывочным буфером три раза.
5. Внесите 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку и инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
6. Удалите ферментный конъюгат с лунок. Повторите промывание промывочным буфером три раза.
7. Внесите 100 мкл ТМБ субстрат и инкубируйте 15 мин. при комнатной температуре.
8. Добавьте 100 мкл стоп раствора для остановки реакции. Перед считыванием убедитесь, что в лунках нет воздушных пузырей
9. Считайте ридером при 450 нм.

### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Для получения порогового значения ОП: умножьте ОП калибратора на коэфф. (f), указанный на этикетке калибратора.
2. Вычислите коэффициент IgG каждого определения, разделив значения ОП каждого образца на полученное значение ОП порогового значения.

### ПРИМЕР

Если значение коэффициента (f) на этикетке = 0,4, этот коэффициент является переменным значением. На этикетке калибратора может быть напечатано 0,35 или 0,5.

Полученная ОП калибратора = 1,100  
ОП порогового значения = 1,100 x 0,4 = 0,44 (по определению коэффициент IgG = 1)

ОП образца пациента = 0,580  
Коэффициент IgG = 0,580 / 0,44 = 1,32 (полож. результат)

ОП образца пациента = 0,320  
Коэффициент IgG = 0,320 / 0,44 = 0,73 (отриц. результат)

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Необходимо, что бы тест отвечал следующим критериям:

1. ОП контрольного реагента должна быть меньше 0,250
2. Если ОП калибратора ниже, чем 0,250, анализ считается недействительным и его нужно повторить.
3. Коэффициент HSV 1/2 G для отрицательного контроля и положительного контроля должны быть в диапазонах, указанных на этикетке.

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: Коэффициент HSV 1/2 G ниже, чем 0,90 принимается как отрицательный для антител IgG HSV.

Сомнительный: Коэффициент HSV 1/ 2 G между 0,91 – 0,99 является сомнительным. Образцы должны быть проанализированы повторно.

Положительный: Коэффициент HSV 1 /2 G – 1,00 или выше является положительным для антитела IgG HSV 1 /2.

## РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Специфичность и чувствительность

Для оценки специфичности и чувствительности были использованы образцы 66 пациентов. Результаты данного теста сравнивались с коммерческим набором ИФА.

		Референтный ИФА			
		О	С	П	Всего
ИФА DAI	О	20 (D)	0	0 (B)	20
	С	0	0	1	1
	П	0 (C)	0	45 (A)	45
	Всего	20	0	46	66

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

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

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

### Точность:

Точность анализа была оценена тестированием трех разных сывороток от восьми репликантов за период – неделю.

Внутри и между тестовая точность указана ниже:

	Отрицательный, %	Низко положительный, %	Положи- тельный, %
В анализе	8,9	7,5	6,8
Между анализами	10,3	8,3	7,5

## ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. Как и для всех серологических анализов, результаты теста обычно используются как вспомогательные к клинической картине пациента и другим диагностическим процедурам.
2. Образцы, полученные слишком рано во время первичной инфекции, могут не содержать определяемого уровня антитела.
3. Не используйте один образец в целях диагностики недавней инфекции. Собирайте пары сывороток и тестируйте одновременно для получения сероконверсии.



### 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](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)