

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
иммуноглобулинов класса G к ядерному
антигену NA вируса Эпштейна-Барр
в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ВекторВЭБ – NA – IgG

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-2170



1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВектоВЭБ – НА – IgG» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления иммуноглобулинов класса G (IgG) к ядерному антигену НА вируса Эпштейна-Барр в сыворотке (плазме) крови человека.

1.2. Набор может быть использован для диагностики заболеваний, обусловленных вирусом Эпштейна-Барр, а также для проведения сероэпидемиологических исследований.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа 93 неизвестных образцов, 3 контрольных образцов, всего 96 определений при использовании всего планшета.

Для исследования небольшой партии проб возможны 12 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения IgG к ядерному антигену вируса Эпштейна-Барр основан на твердофазном иммуноферментном анализе. Основным реагентом набора является очищенный рекомбинантный белок EBNA-1 p72, иммобилизованный на поверхности лунок полистиролового планшета.

На первой стадии анализа исследуемые образцы инкубируют в лунках планшета с иммобилизованным антигеном вируса Эпштейна-Барр. Антитела к вирусу связываются с иммобилизован-

ным антигеном. Несвязавшийся материал удаляют отмывкой. Связавшиеся антитела выявляют при инкубации с конъюгатом антител к IgG человека с пероксидазой хрена. После второй отмывки количество связавшегося конъюгата определяют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и спектрофотометрически измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм, референс-волне в диапазоне 620–650 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству содержащихся в исследуемом образце антител к вирусу Эпштейна-Барр.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованным на внутренней поверхности лунок ядерным антигеном NA вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, инактивированный (K^+ ; жидкость красного цвета), концентрация специфических IgG контрольного образца указана на флаконе – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^- ; бледно-желтая или бесцветная жидкость) – 1 фл., 3,0 мл;
- конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, концентрат (жидкость синего цвета) – 1 фл., 1,5 мл;

- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС, жидкость малинового цвета) – 1 фл., 10 мл;
- раствор для разведения сывороток (РРС, светло-желтая или бесцветная жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК, бледно-желтая или бесцветная жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; бесцветная прозрачная жидкость, возможно выпадение осадка солей) – 2 фл. по 28 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР, прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 13 мл;
- тетраметилбензидин, концентрат (ТМБ; прозрачная бесцветная или светло-жёлтого цвета жидкость) – 1 фл., 1 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- пленка для заклеивания планшета – 2 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипеток – 16 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность – 100% при проверке на сыворотках стандартной панели предприятия (СПП), содержащих и не содержащих иммуноглобулины класса G к ядерному антигену НА вируса Эпштейна-Барр.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть поражённый участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции исследуемых образцов, посуды и материалов, контактирующих с исследуемыми и контрольными образцами, следует использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, например, комбинированные средства на основе ЧАС (четвертичных аммониевых соединений), спиртов, третичных аминов.

Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , дioxлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов ИФА.

4.8. Точность и воспроизводимость результатов анализа зависят от строгого выполнения следующих правил:

– не используйте реагенты с истекшим сроком годности;

– при постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, РПРС, СБР, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах ЗАО «Вектор-Бест»;

– *запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей;*

– не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, кото-

рые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

- используйте стеклянную посуду, тщательно вымытую и ополоснутую дистиллированной водой, или (предпочтительно) одноразовую посуду;

- не допускайте высыхания стрипов в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов;

- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и раствором субстрата;

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- необходимо следить за состоянием промывочного устройства – регулярно обрабатывать шланги и емкости 70% этиловым спиртом;

- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов);

- никогда не используйте одну и ту же емкость для приготовления конъюгата и рабочего раствора ТМБ; **обращаем Ваше особое внимание** на то, что малейшее, даже не видимое глазом загрязнение пипеток раствором конъюгата может

привести к контаминации всего содержимого флаконов с СБР и ТМБ, поэтому необходимо протирать рабочую поверхность стола и конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом перед внесением ТМБ в СБР;

- проверяйте пипетки и другое оборудование на точность и правильность работы;
- не изменяйте протокол исследования;
- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Ложноположительные результаты могут быть обусловлены:

а) получением неправильного рабочего разведения исследуемых сывороток (например, 1:70; 1:50);

б) контаминацией отрицательных сывороток в рабочем и вспомогательных планшетах положительными сыворотками из соседних лунок; вероятность такой контаминации особенно высока при первичном скрининге исследуемых сывороток, так как на весь планшет обычно выявляется всего несколько отрицательных сывороток.

Для получения правильного рабочего разведения исследуемых сывороток необходимо:

а) при отборе 10 мкл сыворотки для предварительного разведения не погружать нако-

нечник глубоко в сыворотку, чтобы исключить налипание сыворотки на внешнюю поверхность наконечника.

б) тщательно перемешивать сыворотку при предварительном разведении 1:10.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объёмом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 5 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкостей от 5 мкл до 300 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 5%);
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;

- цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 100 мл и 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Для проведения анализа не следует использовать гемолизованную, мутную сыворотку крови.

6.2. Образцы сыворотки (плазмы) крови можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток при условии отсутствия микробной контаминации или при температуре минус 20°C (и ниже) не более 6 мес. Следует избегать многократного замораживания / размораживания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

6.3. Образцы сыворотки (плазмы) крови, содержащие осадок, необходимо очистить центрифугированием при 5000–10000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

6.4. Для отбора исследуемых образцов и компонентов набора реагентов использовать автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед проведением анализа исследуемые образцы и все компоненты набора, в том числе и за-

печатанный пакет с планшетом, следует выдержать при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

7.2. ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ДРОБНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА

7.2.1. Растворы из флаконов отбирать только одноразовыми индивидуальными наконечниками для пипеток.

7.2.2. После отбора части содержимого флаконы сразу плотно закрыть завинчивающимися крышками, поместить в холодильник и хранить при 2–8°C в течение 3 месяцев, но в пределах срока годности набора.

7.3. ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА

Вскрыть пакет выше замка и установить на рамку необходимое для проведения анализа количество стрипов. Оставшиеся неиспользованные стрипы немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух, плотно закрыть замок и поместить в холодильник.

Хранение: при температуре от 2 до 8°C в течение 3 месяцев.

7.4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОМЫВОЧНОГО РАСТВОРА (ФСБ-Т однократный)

Промывочный раствор приготовить разведением исходного концентрата ФСБ-Т в 25 раз. Для этого в соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) вне-

сти в мерный цилиндр необходимое количество концентрата ФСБ-Т и довести до соответствующего объема дистиллированной водой.

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Хранение: не более 5 суток при 2–8°C.

7.5. ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

Положительный и отрицательный контрольные образцы готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием встряхнуть.

7.6. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

В лунки вспомогательного планшета внести по 90 мкл раствора для предварительного разведения сывороток и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы) крови, тщательно перемешать. При этом малиновый цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, ИФА данного образца может дать неправильный результат.

Хранение: до 3 часов при температуре 18–25°C.

7.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЪЮГАТА

В зависимости от числа используемых стрипов (см. таблицу 1 расхода компонентов) в

Расход компонентов набора реагентов

Кол-во использованных стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор тетраметилбензидаина		Промывочный раствор (ФСБ-Т однократный)	
	Конъюгат, концентрат, мл	Раствор для разведения конъюгата, мл	ТМБ, концентрат, мл	Субстратный буферный раствор, мл	Концентрат ФСБ-Т, мл	Вода дистиллированная, мл
1	0,1	1,0	0,05	1,0	2,0	до 50
2	0,2	2,0	0,10	2,0	4,0	до 100
3	0,3	3,0	0,15	3,0	6,0	до 150
4	0,4	4,0	0,20	4,0	8,0	до 200
5	0,5	5,0	0,25	5,0	10,0	до 250
6	0,6	6,0	0,30	6,0	12,0	до 300
7	0,7	7,0	0,35	7,0	14,0	до 350
8	0,8	8,0	0,40	8,0	16,0	до 400
9	0,9	9,0	0,45	9,0	18,0	до 450
10	1,0	10,0	0,50	10,0	20,0	до 500
11	1,1	11,0	0,55	11,0	22,0	до 550
12	1,2	12,0	0,60	12,0	24,0	до 600

отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата (РРК), добавить соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

Хранение: до 3 часов при температуре 18–25°C.

7.8. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА ТЕТРАМЕТИЛБЕНЗИДИНА

Внимание! Рекомендуется выделить наконечники для пипеток, которые использовать только для работы с тетраметилбензидином. Посуду и наконечники для пипетки, контактирующие с раствором ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому разложению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду и наконечники ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество СБР, добавить соответствующее количество концентрата ТМБ, тщательно перемешать.

Допустимо голубое окрашивание рабочего раствора ГМБ, которое не оказывает влияния на результаты анализа.

Хранение: не более 3 часов при 18–25°C в темноте.

7.9. Стоп-реагент готов к использованию.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Раствор для разведения сывороток перед употреблением встряхивать!

8.1. В лунку планшета, например А-1, внести 100 мкл раствора для разведения сывороток (РРС). Лунка А-1 будет являться контролем поглощения субстратного буферного раствора с тетраметилбензидином.

Внести контрольные образцы:

- **1 лунка** – 100 мкл K^+ ;
- **2 лунки** – по 100 мкл K^- .

Например, в лунки В-1 и С-1 внести по 100 мкл K^- , в лунку D-1 – 100 мкл K^+ .

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток и по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых сывороток (п. 7.6), тщательно перемешать.

Внесение образцов необходимо производить быстро, в течение времени не более 5–7 мин.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 37°C.

8.2. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.4.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

8.3. В лунку А-1 внести 100 мкл РРК. Во все остальные лунки по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 7.7). Планшет заклеить пленкой и инкубировать в термостате в течение 30 мин при температуре 37°C.

Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.4. По окончании инкубации содержимое лунок удалить в сосуд с дезинфицирующим раствором, лунки промыть, как описано в п. 8.2.

8.5. Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидаина (п. 7.8).

Планшет инкубировать в защищенном от света месте в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C.

Для внесения рабочего раствора тетраметилбензидина использовать пластиковую ванночку и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

8.6. Внести во все лунки с той же скоростью и в той же последовательности, как и рабочий раствор тетраметилбензидина, по 100 мкл стоп-реагента.

Убедитесь в чистоте основания стрипов. В случае загрязнения – тщательно протрите основание стрипов.

8.7. Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности на одной длине волны – 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

9. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

Внести: 100 мкл РРС (лунка А-1);
по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 90 мкл РРС и по 10 мкл анализируемых образцов, предварительно разведенных в РПРС.

Инкубировать: 30 мин, 37°C.

- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** 100 мкл РРК (лунка А-1); по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

10.1. Рассчитать среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{ср} К⁻).

10.2. Значение оптической плотности в лунке с раствором для разведения сывороток не должно превышать 0,10 ед. опт. плотн.

Среднее значение ОП в лунках с К⁻ не должно превышать 0,25 ед. опт. пл.

Значение ОП в лунке с К⁺ должно быть не менее 0,80 ед. опт. пл.

10.3. Только при соблюдении положений п. 10.2 можно учитывать результаты, полученные для анализируемых образцов сыворотки (плазмы) крови.

10.4. На основании полученных данных вычислить критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$).

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср. К^-} + 0,1$$

10.5. Результат анализа считают **положительным**, если $ОП_{обр.} \geq ОП_{крит.}$.

Результат анализа считают **отрицательным**, если $ОП_{обр.} < 0,8 \times ОП_{крит.}$.

где $ОП_{обр.}$ – оптическая плотность в лунке с анализируемым образцом сыворотки крови.

Образцы сывороток, имеющие оптическую плотность в диапазоне от $0,8 \times ОП_{крит.}$ до $ОП_{крит.}$, считать **сомнительными**. Рекомендуется повторно проанализировать эти образцы параллельно с сыворотками данных больных, взятыми через 10–15 дней.

При **количественной** оценке результатов расчет концентрации в у.е./мл анти-ЕВНА-1-IgG к вирусу Эпштейна-Барр для положительных сывороток в исследуемом образце ($С_{иссл.}$) производится по формуле:

$$С_{иссл.} = \frac{ОП_{обр.} \times K_1}{ОП_{ср. К^+} \times K_2} \times C$$

где: $ОП_{ср. К^+}$ – среднее значение оптической плотности положительного контрольного образца;

C – величина концентрации анти-ЕВНА-1-IgG контрольного образца в у.е./мл в данной серии (указана на флаконе).

Таблица 2

Коэффициенты коррекции для ОП_{обр} и ОП_{ср}К⁺.

ОП _{обр} , ОП _{к⁺}	К ₁ , К ₂	ОП _{обр} , ОП _{к⁺}	К ₁ , К ₂
0,000–1,500	1,00	2,851–2,900	1,75
1,501–2,000	1,10	2,901–2,950	1,80
2,001–2,100	1,20	2,951–3,000	1,85
2,101–2,200	1,25	3,001–3,050	1,90
2,201–2,300	1,30	3,051–3,100	1,95
2,301–2,400	1,35	3,101–3,150	2,00
2,401–2,500	1,40	3,151–3,200	2,05
2,501–2,600	1,45	3,201–3,250	2,10
2,601–2,650	1,50	3,251–3,300	2,15
2,651–2,700	1,55	3,301–3,350	2,20
2,701–2,750	1,60	3,351–3,400	2,25
2,751–2,800	1,65	3,401–3,450	2,30
2,801–2,850	1,70	3,451–3,500	2,35

К₁, К₂ – коэффициенты коррекции, т.к. при значении оптической плотности $\geq 1,5$ о. е. увеличение ОП в контрольном и исследуемых образцах не прямо пропорционально увеличению концентрации антител (см. табл. 2). К₁ – коэффициент коррекции для ОП_{обр}, К₂ – коэффициент коррекции для ОП_{ср}К⁺.

Если значение ОП_{обр} превышает 3,5 о.е., исследуемую сыворотку рекомендуется предварительно развести в 4 раза однократным ФСБ-Т (п. 7.4.) и анализировать далее согласно схеме проведения ИФА.

10.6. При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно

отражающих изменение концентрации IgG к ядерному антигену вируса Эпштейна-Барр в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1. Набор реагентов «ВектоВЭБ – НА – IgG» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия изготовителя при температуре 2–8°C в течение всего срока годности (9 мес). Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание набора не допускается.

11.2. Дробное использование набора может быть реализовано в течение 3 месяцев, но в пределах срока годности.

11.3. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

ПРИЛОЖЕНИЕ

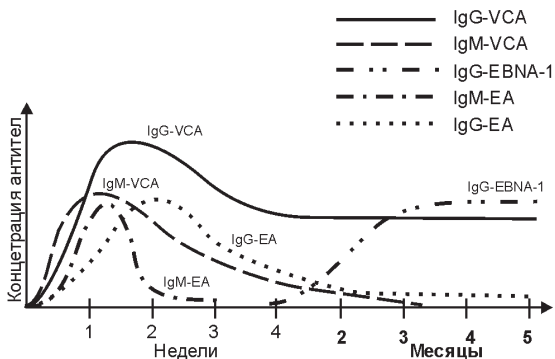
Открытый в 60-х годах вирус герпеса человека 4 типа (ВГЧ-4) или вирус Эпштейн-Барра (ВЭБ) относится к подсемейству *Gammaherpesvirinae* рода *Gymplocryptovirus*. ВЭБ поражает в основном два типа клеток: эпителий верхних дыхательных путей и пищеварительного тракта, а также В-лимфоциты, которые в результате инфицирования immortalizуются. Соответственно, ВЭБ вызывает такие различные заболевания, как инфекционный мононуклеоз или злокачественная лимфома Беркитта, злокачественная носоглоточная карцинома.

Заболевание малокогдаинозно за счет наличия большого числа иммунокомпетентных лиц (до 50% детей и 95% взрослых серопозитивны в отношении ВЭБ) и протекания болезни в стертых и атипичных формах.

У людей без дефектов иммунной системы первичное инфицирование ВЭБ может протекать бессимптомно или вызывать субклинические проявления болезни с положительными серологическими реакциями. В дальнейшем вирус может длительное время персистировать в клетках хозяина в виде латентной инфекции. При массивном поступлении вируса или недостаточности иммунной системы развивается вирусемия, приводящая к острым формам заболевания.

Показана возможность трансфузионной передачи ВЭБ от доноров с острой фазой первичной инфекции.

В процессе репликации вируса экспрессируется свыше 70 различных вирусоспецифических белков, однако к настоящему времени выделены группы иммуногенных белков, определение антител к которым дает возможность дифференцировать стадию инфекции.



Рисунок

- EA** (early antigen) – ранний антиген, включает белки p54, p138.
- EBNA-1** (Epstein-Barr nuclear antigen) – ядерный антиген, белок p72.
- VCA** (Viral capsid antigen) – капсидный антиген, включает комплекс белков p150, p18, p23; к настоящему времени показано, что иммунодоминантными белками в этом комплексе являются p18 и p23.
- LMP** (Latent membrane protein) – латентный мембранный белок, gp125 (BALF4).

Наиболее специфичными и чувствительными маркерами ВЭБ-инфекции являются IgG и IgM к капсидному антигену (VCA), IgG к раннему антигену (EA) и IgG к ядерному антигену (NA).

На рисунке приведены в общем виде серологические профили наличия антител к различным белкам ВЭБ при типичном течении инфекции.

Активная фаза инфекционного мононуклеоза характеризуется продукцией у больного IgM и IgG к VCA и, в большинстве случаев, наличием IgG и IgM, специфичных к комплексу ранних антигенов.

IgM к VCA появляются в крови у 87–100% больных в первые недели заболевания и определяются в течение 1–3 месяцев. IgG к VCA появляются немного позднее. Их концентрация достигает максимального значения также на первых стадиях заболевания, а затем снижается, но обычно остается на стабильно детектируемом уровне всю жизнь.

IgG к NA начинают детектироваться в крови инфицированных только через 1–6 месяцев. Их концентрация обычно сохраняется на достаточно высоком уровне длительное время, почти всю жизнь.

IgG к EA обнаруживаются у 70–80% больных в сроки от нескольких недель до года после инфицирования. При реактивации инфекции происходит сероконверсия антител (как IgG, так и IgM) к VCA и EA. При этом концентрация антител в крови быстро достигает высоких значений. Следует подчеркнуть, что, как правило, это происходит при наличии у больного высоких титров IgG к NA.

Таким образом, определение IgG к антигенам EBNA, EA и VCA, а также IgM к VCA дает необходимую и достаточную информацию для постановки диагноза и установления стадии инфекции.

В ЗАО «Вектор-Бест» разработаны и выпускаются наборы реагентов для серологической диагностики ВЭБ-инфекции – «ВектоВЭБ-NA-IgG» (D-2170) для выявления IgG к ядерному антигену ВЭБ, «ВектоВЭБ-EA-IgG» (D-2172) для выявления

IgG к раннему антигену ВЭБ, «ВектоВЭБ-VCA-IgG» (D-2184) и «ВектоВЭБ-VCA-IgM» (D-2176) для выявления IgG и IgM к капсидному антигену ВЭБ.

Комплекс этих четырех наборов реагентов позволяет с высокой эффективностью по данным серологических исследований диагностировать различные стадии ВЭБ инфекции. В таблице 3 приведена возможная интерпретация результатов серологических исследований (литературные данные).

Таблица 3.

Интерпретация серологических данных

№	Фаза инфекции	VCA-IgM	VCA-IgG	EA-IgG	NA-IgG
1	Инкубационный период или отсутствие инфицирования	-	-	-	-
2	Очень ранняя первичная инфекция	+	-	-	-
3	Ранняя первичная инфекция	+	+	+	-
4	Поздняя первичная инфекция	±	+	+	± (ОП < 0,5)
5	Атипичная первичная инфекция	-	+	+	± (ОП < 0,5)
6	Хроническая инфекция	±	+	+	-
7	Ранняя паст-инфекция	-	+	+	+
8	Поздняя паст-инфекция	-	+	-	+
9	Реактивация	+	+	+	± (ОП > 0,5)
10	Атипичная реактивация	-	+	+	± (ОП > 0,5)

**По вопросам, касающимся качества набора
«ВектоВЭБ – NA – IgG»**

следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46, 227-75-43,
тел./факс (383), 336-60-30

**За справками и консультацией обращаться
в лабораторию герпес-вирусных инфекций,**

тел. (383) 227-75-43

21.04.10.

**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»**

Федеральная лицензия № 99-04-000086
на производство, хранение и реализацию
лекарственных средств

**КРУПНЕЙШИЙ В РОССИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ
ДИАГНОСТИКУМОВ**

Вирусные гепатиты А, В, С, D
Инфекции, передаваемые
половым путем
ВИЧ-инфекция
TORCH-инфекции
Клещевой энцефалит
Паразитарные болезни
Диагностика беременности
Лабораторное оборудование

***Стабильное качество
и точный результат
для Вашей лаборатории!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52
E-mail: vbmarket@vector-best.ru
Internet: www.vector-best.ru