



Набор для определения ВИРУСА ГЕРПЕСА ПРОСТОГО 1+2 IgG

HSV 1+2 IgG kit

Кат. № : 1443
Количество : 96
Производитель : DAI (USA)

Внимание: основой при проведении анализа является инструкция на англ. языке

Методика от 17/08/05

НАЗНАЧЕНИЕ

Этот набор предназначен для оценки серологического статуса пациента относительно вируса герпеса простого (HSV) или для оценки сыворотки на значительное увеличение герпес специфического IgG.

Для диагностики «in vitro».

ВВЕДЕНИЕ

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 половыми инфекциями. Первыми клиническими признаками есть: 1) герпетическая экзема с экзематозными 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 ТЕСТА

Очищенный антиген покрывает поверхность микропланшета. В ячейки добавляется разбавленная сыворотка пациента и специфическое антитело IgG, если оно присутствует, связывается с антигеном. Все несвязанные материалы вымываются. После добавления ферментного 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:** ячейки покрытые очищенным HSV 1/2 антигеном – **12x8 ячеек**
2. **Разбавитель образца:** голубой цвет – **1 бут. 22 мл**
3. **Моющий концентрат:** 10x – **1 бут. 100 мл**
4. **Хромоген ТМБ субстрата:** янтарная бутылка – **1 фл. 15 мл**
5. **Энзимный конъюгат,** красный цвет – **1 фл. 12 мл**
6. **Калибратор величины исключения:** желтая крышка. Индекс HSV 1/2 G = 1,0 – **150 мкл/фл**
7. **Отрицательный контроль:** граница показана на этикетке. Обычная крышка – **150 мкл/фл**

8. **Положительный контроль:** граница указана на этикетке. Красная крышка – **150 мкл/фл**
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.
3. Реагенты стабильны до окончания срока пригодности.
4. Хранить реагенты вдали от тепла, солнца или сильного света.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Обращаться с реагентами как с потенциально инфицированными.
2. Этот набор предназначен для диагностики «in vitro».
3. Не пипетируйте ртом. Не едите, пейте и не курите в местах, где используются реагенты.
4. Компоненты набора предназначены для использования как единого целого. Не смешивайте компоненты разных лотов.
5. Этот продукт содержит азид натрия в качестве презерватора. Он может реагировать со свинцом и медью и формировать взрывоопасное вещество. При попадании, промойте большим количеством воды.

СБОР И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБРАЗЦА

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.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ К АНАЛИЗУ

1. Приготовьте 1x моющего буфера. Приготовьте моющий буфер добавлением дистиллированной или деионизированной воды к 10x моющему концентрату к конечному объему 1 л.
2. Приведите все образцы и реагенты к комнатной температуре (20-25°C) и тщательно смешайте.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

1. Поместите необходимое количество покрытых стрипов в держатель.
2. Приготовьте 1:40 тестового образца, отрицательного контроля, положительного контроля и калибратора добавлением 5 мкл образца к 200 мкл абсорбирующего раствора. Тщательно перемешайте.
3. Внесите 100 мкл разбавленной сыворотки, калибратора и контролей в соответствующие ячейки. Для контрольного реагента, внесите 100 мкл разбавителя образца в ячейку A1. Удалите из жидкости все воздушные пузыри, постукиванием по держателю и тщательно перемешайте. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
4. Удалите жидкость с ячеек и повторите промывание моющим буфером три раза.
5. Внесите 100 мкл ферментного конъюгата в каждую ячейку и инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.
6. Удалите ферментный конъюгат с ячеек. Повторите промывание моющим буфером три раза.
7. Внесите 100 мкл хромогена ТМБ субстрата и инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре.

- Добавьте 100 мкл стоп раствора для остановки реакции. Убедитесь, что нет воздушных пузырей перед считыванием результатов.
- Считайте ОП при 450 нм микропланшетным ридером.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Вычислите среднее значение дубликатов калибратора x_k .
- Вычислите среднее дубликатов положительного контроля, отрицательного контроля и образцов пациента.
- Вычислите Индекс HSV 1/2 G каждого определения делением среднего значения каждого образца среднее значение калибратора x_k .

ПРИМЕР ВЫЧИСЛЕНИЯ

Индекс HSV 1/2 G величины исключения калибратора = 1,0
 ОП величины исключения калибратора = 0,450, 0,482 $x_k=0,466$
 ОП отрицательного контроля = 0,161, 0,135 $x_{отр}=0,148$
 Индекс HSV M = 0,148 / 0,466 = 0,32

ОП положительного контроля = 1,205, 1,248 $x_{пол}=1,227$
 Индекс HSV M = 1,227 / 0,466 = 2.63

ОП образца пациента = 1,837, 1,854 $x_{обр}=1,846$
 Индекс HSV M = 1,846 / 0,466 = 3,96

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Необходимо, что бы тест отвечал следующим критериям:

- ОП контрольного реагента должна быть меньше 0,250
- Если ОП калибратора ниже, чем 0,250, тест нужно повторить.
- Индекс HSV 1/2 G для отрицательного контроля и положительного контроля должны быть в границах, указанных на этикетке.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: Индекс HSV 1/2 G ниже, чем 0,90 принимается как отрицательный для антитела IgG HSV

Сомнительный: Индекс HSV 1/2 G между 0,91 – 0,99 является сомнительным. Образцы должны быть ретестированы.

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

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Точность:

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

Внутри и между тестовая точность показана ниже:

	Отрицательный, %	Низко положительный, %	Положительный, %
Внутри тестовый	8,9	7.5	6.8
Между тестовый	10.3	8.3	7.5

Специфичность и чувствительность

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

		Установленный ELISA			
		N	E	P	Всего
DAI	N	20 (D)	0	0 (B)	20
	E	0	0	1	1
	P	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 = $(A + D) / (A+B+C+D) = 45+20 / (45+0+0+20) = 65/65 = 100\%$

ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

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

СУМИРОВАНИЕ АНАЛИЗА

Шаг	(20-25 ⁰ С при комн. темп.)	Объем	Время инкубации
1	Разбавления образца 1:40=5 мкл/200 мкл		
2	Разбавленные образцы, контроли и калибратор	100 мкл	30 минут
3	Моющий буфер (3 раза)	350 мкл	
4	Энзимный конъюгат	100 мкл	30 минут
5	Моющий буфер (3 раза)	350 мкл	
6	ТМВ субстрат	100 мкл	30 минут
7	Стоп раствор	100 мкл	
8	Считывание ОП при 450 нм		

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.com
www.diameb.com