



Набор для определения ВИРУСА ГЕРПЕСА ПРОСТОГО 1 IgG в сыворотке человека

Кат. № : 1802
Количество : 96
Производитель : DRG (США)

Методика от 24-04-2007

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

ТОЛЬКО ДЛЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ЦЕЛЕЙ

НАЗНАЧЕНИЕ

Этот набор предназначен для оценки серологического статуса пациента относительно вируса герпеса простого (HSV) или для оценки сыворотки на значительное увеличение в HSV-1 специфического IgG.

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-1 специфических антител IgG в образце сыворотки.

ПРИНЦИП ТЕСТА

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 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 лунки:** покрытые очищенным HSV-1 антигеном (12x8 лунок).
2. **Ферментный конъюгат** (красного цвета): 1 фл. (12 мл).
3. **Разбавитель образца** (зеленого цвета): 1 бут. (22 мл).
4. **Отрицательный контроль:** диапазон указан на этикетке. Прозрачная крышка (150 мкл/фл.).
5. **Cut-off калибратор:** желтая крышка. Индекс HSV-1 IgG = 1 (150 мкл/фл.).
6. **Положительный контроль:** диапазон указан на этикетке. Красная крышка (150 мкл/фл.).
7. **Концентрат промывочного буфера** (20x): 1 бут. (50 мл).
8. **ТМБ реагент** (одностадийный) – 1 фл. (11 мл).
9. **Стоп раствор** (1N 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 инфекционными.
2. Этот набор предназначен для исследовательских целей.
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 партий.
5. Этот продукт содержит азид натрия в качестве консерванта. Он может реагировать со свинцом и медью и формировать взрывоопасное вещество. При уничтожении смойте большим количеством воды.

СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови и отделите сыворотку.
2. Образцы могут храниться при 2-8°C до 7 дней или замороженными до 6 месяцев. Избегайте повторных циклов замораживания и размораживания.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Перед использованием приведите все реагенты к комнатной температуре (20-25°C).
2. Разбавить 1 объем промывочного буфера (20x) 19 объемами дистиллированной воды. Например, разбавьте 50 мл промывочного буфера (20x) дистиллированной водой, чтобы приготовить 1000 мл промывочного буфера (1x). Промывочный буфер стабилен в течении 1-месяца при 2-8°C. Перед использованием хорошо перемешайте.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Поместите необходимое количество покрытых стрипов в держатель.
 2. Проведите разбавление 1:40 анализируемых образцов, отрицательного контроля, положительного контроля и калибратора добавлением 5 мкл образца к 200 мкл разбавителя образца. Тщательно перемешайте.
 3. Внесите 100 мкл разбавленной сыворотки, калибратора и контролей в соответствующие лунки. Для реагента бланка, внесите 100 мкл разбавителя образца в лунку A1. Удалите из жидкости все воздушные пузыри, постукиванием по держателю и тщательно перемешайте.
 4. Инкубируйте 30 мин. при 37°C.
 5. В конце инкубационного периода удалите жидкость со всех лунок. **Промойте разбавленным промывочным буфером (1x) и постучите по микротитровальным лункам 5 раз.**
 6. Внесите 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку. Осторожно перемешивайте в течении 10 сек.
 7. Инкубируйте 30 мин. при 37°C.
 8. Удалите ферментный конъюгат из всех лунок. **Промойте разбавленным промывочным буфером (1x) и постучите по микротитровальным лункам 5 раз.**
 9. Внесите 100 мкл ТМБ субстрата в каждую лунку. Осторожно перемешивайте в течении 10 сек.
 10. Инкубируйте 15 мин. при 37°C.
 11. Добавьте 100 мкл стоп раствора для остановки реакции.
 12. Осторожно перемешивайте в течении 30 сек. Важно убедиться, что весь синий цвет полностью становится желтым.
- Примечание:** перед считыванием результатов убедитесь, что в каждой лунке нет воздушных пузырей.
13. Считайте ОП микропланшетным считывателем при 450 нм в **течении 15 минут.**

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Вычислите среднее значение дубликатов калибратора x_k .
2. Вычислите среднее значение дубликатов положительного контроля (x_n), отрицательного контроля (x_o) и образцов пациентов (x_o).
3. Вычислите Индекс HSV-1 IgG каждого определения делением среднего значения каждого образца (x_o) на среднее значение калибратора (x_k).

ПРИМЕР ВЫЧИСЛЕНИЯ

(Примечание: значения ОП используются только в демонстрационных целях и не должны использоваться для вычисления неизвестных значений. Каждый пользователь должен получить свои собственные данные).

Индекс cut-off калибратора HSV-1 IgG = 1,0

1. ОП cut-off калибратора = 0,898, 0,851 $x_k = 0,875$
2. ОП отрицательного контроля = 0,079, 0,077
Индекс HSV-1 IgG = $x_o / x_k = 0,078 / 0,875 = 0,09$
3. ОП положительного контроля = 1,539, 1,527
Индекс HSV-1 IgG = $x_n / x_k = 1,533 / 0,875 = 1,75$
4. ОП образца пациента = 2,176, 2,171
Индекс HSV-1 IgG = $x_o / x_k = 2,174 / 0,875 = 2,48$

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Необходимо, что бы тест отвечал следующим критериям:

1. ОП реагента бланка должна быть меньше 0,250
2. Если ОП cut-off калибратора ниже 0,250, тест недействительный и его нужно повторить.
3. Индекс HSV-1 IgG для отрицательного и положительного контроля должен быть в пределах, указанных в Сертификате анализа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Отрицательный: Индекс HSV-1 IgG ниже, чем 0,90 принимается как сероотрицательным для IgG антитела к HSV-1.

Сомнительный: Индекс HSV-1 IgG между 0,91 – 0,99 является сомнительным. Образцы должны анализироваться повторно.

Положительный: Индекс HSV-1 IgG – 1,00 или выше является сероположительным.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**1. Специфичность и чувствительность**

Для оценки специфичности и чувствительности были использованы образцы 105 пациентов. Результаты данного теста сравнивались с результатами имеющегося в продаже ELISA набора.

		Контрольный HSV-1 IgG ELISA набор			
		N	E	P	Всего
DRG HSV-1 IgG ELISA набор	N	67 (D)	0	2 (B)	69
	E	0	0	0	0
	P	2 (C)	0	34 (A)	36
	Всего	69	0	36	105

Чувствительность = $A / (A+B) = 34 / 36 = 94.4\%$

Чувствительность = $D / (C+D) = 67 / 69 = 97.1\%$

Тщательность = $(A + D) / (A+B+C+D) = 101 / 105 = 96.2\%$

2. Точность

Точность анализа была оценена тестированием 3 разных сывороток 20 репликантов за 4 дня.

Точность в пределах и между анализами показана ниже:

	Отриц. %	Низко полож., %	Полож., %
Внутри анализа	6,3	5,9	5,2
Между анализами	7,8	6,7	6,2

ОГРАНИЧЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

1. Достоверные и воспроизводимые результаты будут получены, когда процедура анализа выполнена с полным пониманием инструкций внутри упаковки и преданностью хорошей лабораторной практике.

2. Процедура промывки крайне важна. Недостаточная промывка приведет к неполной точности и ошибочно повышенной абсорбции при считывании.

3. Образцы сыворотки, демонстрирующие повышенную липемию, гемолиз, или осадок не должны использоваться в данном анализе.

4. Результаты, полученные в процессе использования этого набора должны использоваться только как дополнение к другим диагностическим процедурам и информации, располагаемой врачом.

СХЕМА АНАЛИЗА**1. Разведение образцов 1:40**

5мкл / 200 мкл

2. Три инкубации при температуре 37°C.

Разведенный образец 100 мкл	Ферментный конъюгат 100 мкл	ТМБ реагент (one-step) 100 мкл
30 мин.	30 мин.	15 мин.

3. Остановить 100 мкл кислоты. Считать 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