

НАБІР ІФА

ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ АНТИТІЛ ІgG ДО ВІРУСУ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ ТИПУ 1 (HSV-1) В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЛЮДИНИ

EIA-1802, HSV 1 IgG

Каталог. №: EIA-1802

Методика від 01-04-2011

Кількість : 96

Версія 5.0

Виробник : DRG (Німеччина)



Основною при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Імуноферментний аналіз для виявлення антитіл ІgG до вірусу простого герпесу типу 1 (HSV-1) в сироватці крові людини

Тільки для діагностики in-Vitro

Зберігати при 2 - 8 ° С.

РЕЗЮМЕ ПРОЦЕДУРИ АНАЛІЗУ

1. Розведення зразка 1:40
5 мкл/200 мкл
2. Три інкубування при 37 ° С

Розведений Зразок	Ферментний Кон'югат	Реагент ТМБ (Один крок)
100 мкл	100 мкл	100 мкл
30 хвилин	30 хвилин	15 хвилин

3. Зупинити додаванням 100 мкл кислоти. Зчитати OD при 450 нм

ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

HSV-1 IgG ELISA призначений для використання при оцінці серологічного статусу пацієнта до інфекції вірусу простого герпесу (HSV) типу 1 або для оцінки парних сироваток на наявність значного збільшення IgG специфічних до HSV-1.

ВСТУП

Вірус простого герпесу є поширеним патогеном і його первинна інфекція зазвичай протікає безсимптомно. Є два імунологічно різних типи HSV: тип 1 і тип 2. HSV-1 асоціюється з оральною інфекцією і поразками вище пояса, і HSV-2 асоціюється зі статевими інфекціями і поразками нижче талії. Клінічними випадками, перш за все, є: (1) екзема герпетична з екзематозними змінами шкіри з численними ураженнями, (2) гінгівостоматит і (3) сепсис герпесу, який виявляється тільки у недоношених новонароджених. DRG HSV-1 IgG ELISA є точним серологічним методом для визначення HSV-1 IgG специфічних антитіл в зразках сироватки.

Принцип тесту

Очищений антиген HSV-1 наносять на поверхню мікропланшетів. Розбавлена сироватка пацієнта додається в лунки, і HSV-1 IgG-специфічні антитіла, якщо вони присутні, зв'язуються з антигеном. Все незв'язані матеріали вимиваються. Додається HRP-кон'югат, який зв'язується з комплексом антитіло-антиген. Надмірна кількість кон'югату пероксидази хрому вимивається і додається розчин ТМБ. Каталітична реакція ферментного кон'югату зупиняється в певний час. Інтенсивність кольору пропорційна кількості HSV-1 IgG-специфічних антитіл в зразку. Результати зчитуються рідером і порівнюються з калібратором і контролями.

Реагенти

Матеріали, що поставляються в наборі:

- Мікротитрувальні лунки: лунки з нанесеним очищеним антигеном ВПГ-1 (12 x 8 лунок)
- Реагент Ферментного Кон'югата (червоний колір): 1 флакон (12 мл)
- Розчинник Зразка (зелений колір): 1 флакон (22 мл)
- Негативний Контроль: Діапазон зазначений на етикетці. Безбарвний ковпачок (100 мкл/флакон)
- Cut-off Калібратор: жовтий ковпачок. Індекс HSV-1 IgG = 1 (100 мкл/флакон)
- Позитивний контроль: Діапазон зазначений на етикетці. Червоний ковпачок. (100 мкл/флакон)

- Концентрат Промивного Буфера (20x): 1 флакон (50 мл)
- ТМБ (One-Step): 1 флакон (11 мл)
- Стоп-розчин (1N HCl): Безбарвний ковпачок. 1 флакон (11 мл)

Зберігання тестових наборів обладнання

1. Зберігати набір при температурі 2-8 °С.
2. Тримайте мікропланшет запечатаним в сухому пакеті з осушувачем.
3. Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності набору.
4. Не піддавати реагенти впливу тепла, сонця або сильного світла під час зберігання або використання.

Попередження і запобіжні заходи

1. Потенційно біологічно небезпечні речовини: Калібратори і контролю містять компоненти людського походження, які були випробувані з дозволеними FDA реагентами і показали відсутність реакції на поверхневий антиген гепатиту В, а також антитіла до ВІЛ. Проте, оскільки не існує методу аналізу, який може запропонувати повну гарантію того, що ВІЛ, вірус гепатиту або інші інфекційні агенти відсутні, ці реагенти повинні бути оброблені на рівні біологічної безпеки 2, як це рекомендовано інструкцією Центру з контролю і профілактики захворювань/Національними Інститутами охорони здоров'я "Біологічна безпека в Мікробіологічних та Біомедичних Лабораторіях." 1984
2. Даний набір призначений для дослідницького використання.
3. Не піпетувати ротом. Не палити, не їсти, не пити в приміщеннях, в яких проводиться робота зі зразками або реагентами набору.
4. Компоненти з різних партій не слід змішувати.
5. Цей продукт містить компоненти з азидом натрію. Азид натрію може реагувати зі свинцем і міддю і формувати вибухонебезпечні азиди металів. При утилізації промийте великою кількістю води.

Забір і підготовка зразків

1. Зібрати зразки крові і відокремити сироватку.
2. Зразки можна зберігати в холодильнику при температурі 2-8 °С протягом до 7 днів або заморозити на строк до 6 місяців. Уникайте повторного заморожування і розморожування зразків сироватки.

Підготовка реагентів

1. Всі реагенти слід довести до кімнатної температури (18-25 °С) перед використанням.
2. Розвести 1 об'єм Промивного Буфера (20x) з 19 об'ємами дистильованої води. Наприклад, розвести 50 мл Промивного Буфера (20x) дистильованою водою до 1000 мл промивного буфера (1x). Промивний буфер стабільний протягом 1 місяця при температурі 2-8 °С. Добре перемішати перед використанням.

Процедура Аналізу

1. Помістити необхідну кількість покритих лунок в тримач.
2. Приготувати 1:40 розчин тестових зразків, негативний контроль, позитивний контроль, калібратор, додавши 5 мкл зразка до 200 мкл розчину для розведення зразків. Добре перемішати.
3. Додати 100 мкл розведеної сироватки, калібратора і контрольні в відповідні лунки. Для реагенту бланка внесіть 100 мкл Розчинника Зразка в лунку А1. Постукати по тримачу, щоб видалити бульбашки повітря з рідини і добре перемішати.
4. Інкубувати при температурі 37 °С протягом 30 хвилин.
5. В кінці періоду інкубації видалити рідину з усіх лунок. Промити і вилити розчин з лунок 5 разів розведеним Промивним Буфером (1x).
6. Внести 100 мкл Ферментного Кон'югату в кожну лунку. Акуратно перемішати протягом 10 секунд.
7. Інкубувати при температурі 37 °С протягом 30 хвилин.
8. Видалити Ферментний Кон'югат з усіх лунок. Промити і вилити розчин з лунок 5 разів розведеним Промивним Буфером (1x).
9. Внести 100 мкл ТМБ Реагенту в кожну лунку. Акуратно перемішати протягом 10 секунд.
10. Інкубувати при температурі 37 °С протягом 15 хвилин.
11. Додати 100 мкл Стоп-Розчину (1N HCl), щоб зупинити реакцію.
12. Акуратно перемішати протягом 30 секунд. **Важливо переконатися, що синій колір повністю змінюється на жовтий колір.**

Примітка: Переконайтеся, що немає повітряних бульбашок в кожній лунці перед зчитуванням результатів.

13. Зчитати ОЩ при 450 нм протягом 15 хвилин з мікропланшетним рідером.

Розрахунок результатів

1. Підрахувати середнє значення дублікатів калібратора X_c .

- Підрахувати середнє значення дублікатів позитивного контролю (X_p), негативного контролю (X_n) і зразків пацієнтів (X_s).
- Обчислити індекс HSV-1 IgG кожного визначення, розділивши середні значення кожного зразка (X_s) на середні значення калібратора, X_c .

ПРИКЛАД ОБЧИСЛЕННЯ: Примітка: Значення ОЩ наведені тільки в якості ілюстрації, і не повинні використовуватися для обчислення. Кожен користувач повинен отримати свої власні дані.

Cut-off Calibrator HSV-1 IgG Index = 1.0

- | | |
|---|---------------|
| 1. ОЩ Калібратора Cut-off = 0.898, 0.851 | $X_c = 0.875$ |
| 2. Негативний контроль = 0.079, 0.077 | $X_n = 0.078$ |
| Індекс HSV-1 IgG = $X_n/X_c = 0.078/0.875 = 0.09$ | |
| 3. ОЩ Позитивного Контролю = 1.539, 1.527 | $X_p = 1.533$ |
| Індекс HSV-1 IgG = $X_p/X_c = 1.533/0.875 = 1.75$ | |
| 4. ОЩ зразка пацієнта = 2.176, 2.171 | $X_s = 2.174$ |
| Індекс HSV-1 IgG = $X_s/X_c = 2.174/0.875 = 2.48$ | |

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Тест може вважатися дійсним при дотриманні наступних умов:

- Значення ОЩ бланка по відношенню до повітря з мікропланшетного рідера має бути менше, ніж 0.250.
- Якщо значення ОЩ Cut-off калібратора нижче, ніж 0.250, тест не є дійсним і повинен бути повторений.
- Індекс HSV-1 IgG для негативного і позитивного контролю повинен бути в діапазоні, зазначеному на сертифікаті аналізу.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ

- Негативний: Індекс HSV-1 IgG менше 0.90 серонегативний для IgG антитіл до ВПГ-1.
- Сумнівний: Індекс HSV-1 IgG між 0.91-0.99. Зразок повинен бути аналізований повторно.
- Позитивний: Індекс HSV-1 IgG 1.00 або вище серопозитивний для IgG антитіл до ВПГ-1.

ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

А. Специфічність і чутливість:

105 зразків пацієнтів використовувалися для визначення специфічності і чутливості методики. Результати випробувань HSV-1 IgG ELISA порівнювали з результатами комерційного набору ELISA:

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

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

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

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

В. Точність:

а) Точність в аналізі

Точність в аналізі була визначена за допомогою визначень чотирьох різних зразків сироватки в дублях в одному аналізі. Результати наведено нижче:

Serum Sample	1	2	3	4
# Reps.	24	24	24	24
Mean A_{450}	2.279	1.119	0.652	0.265
S.D. (A_{450})	0.083	0.041	0.027	0.022
C.V. (%)	3.6	3.6	4.2	8.5

б) Точність між аналізами

Точність між аналізами визначалася повторними вимірами чотирьох різних зразків сироватки в серії індивідуально каліброваних аналізів. Між аналізами варіабельність показано нижче:

Serum Sample	1	2	3	4
# Reps.	20	20	20	20
Mean A_{450}	2.097	0.976	0.556	0.248
S.D. (A_{450})	0.085	0.036	0.025	0.010
C.V. (%)	4.1	3.7	4.5	4.0

Обмеження процедури

- Надійні і відтворювані результати будуть отримані, коли процедура аналізу здійснюється з повним розумінням інструкцій і з дотриманням належної лабораторної практики.
- Процедура промивання є критичною. Недостатня промивка призводить до низької точності і завищеної абсорбції.
- Зразки сироватки, що демонструють ліпемію, гемоліз або мутність, не повинні використовуватися з цим тестом.
- Результати, отримані з використанням цього набору, слід використовувати тільки в якості доповнення до інших діагностичних процедур та інформації для лікаря.



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

