

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного определения
индекса avidности иммуноглобулинов
класса G к вирусу простого герпеса
1 и 2 типов в сыворотке (плазме) крови

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ВектоВПГ-1,2-IgG-авидность

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-2156

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ВектоВПГ-1,2-IgG-авидность» (далее по тексту – набор) предназначен для определения индекса авидности иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов в сыворотке (плазме) крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

1.2. Определение индекса авидности иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 1 и 2 типов позволяет уточнить сроки инфицирования и дифференцировать первичную герпетическую инфекцию от хронической и паст-инфекции.

1.3. Набор рассчитан на проведение анализа 48 исследуемых образцов, включая контроли. Дробное использование набора позволяет проведение 6 независимых постановок ИФА по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе с применением антигенов вируса простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ-1,2) и моноклональных антител. На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках параллельных рядов с иммобилизованными антигенами ВПГ 1 и 2-го типа. Имеющиеся в сыворотке специфические антитела к ВПГ связываются с антигена-

ми, формируя комплекс «антиген-антитело». На второй стадии, после внесения белок-диссоциирующего агента в один из параллельных рядов, происходит диссоциация комплексов «антиген-антитело», включающих IgG с более низкими константами связывания (низкой авидностью). На третьей стадии связавшиеся антитела взаимодействуют с конъюгатом моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Комплекс «антиген–антитело–конъюгат» является реакцией с субстратом пероксидазы – перекисью водорода и хромогеном – тетраметилбензидином. Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках стрипов. Интенсивность окраски пропорциональна количеству связанных в комплекс IgG к ВПГ-1,2 в анализируемых образцах.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами ВПГ 1 и 2 типа, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец, содержащий высокоавидные IgG к ВПГ, инактивированный ($K^+_{ВА}$; прозрачная жидкость красного цвета, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 3,0 мл;

- положительный контрольный образец, содержащий низкоавидные IgG к ВПГ, инактивированный (K^+ _{НА}; прозрачная жидкость желтого цвета, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 3,0 мл;
- отрицательный контрольный образец, инактивированный (K^- ; прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 3,0 мл;
- конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена, концентрат (прозрачная жидкость синего цвета) – 1 фл., 1,5 мл;
- концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином (ФСБ-Т×25; прозрачная бесцветная жидкость, возможно выпадение осадка солей, растворяющегося при температуре от 30 до 40°C в течение 20 мин) – 2 фл. по 28 мл;
- раствор для предварительного разведения сывороток (РПРС; прозрачная жидкость малинового цвета) – 1 фл., 10 мл;
- раствор для разведения конъюгата (РРК; бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения сывороток (РРС; бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость, допускается наличие опалесценции) – 1 фл., 12 мл;
- раствор сравнения (РС; бесцветная или бледно-желтого цвета жидкость) – 1 фл., 8,0 мл;
- раствор белок-диссоциирующего агента (БДА; прозрачная жидкость зеленого цвета) – 1 фл., 8,0 мл;
- субстратный буферный раствор (СБР; прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 13 мл;

- тетраметилбензидин (ТМБ; прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость), концентрат – 1 фл., 1,0 мл;
- стоп-реагент (прозрачная бесцветная жидкость) – 1 фл., 12 мл;
- пленка для заклеивания планшета – 3 шт.;
- пластиковая ванночка для реагентов – 2 шт.;
- наконечники для пипетки – 16 шт.;
- планшет для предварительного разведения исследуемых образцов – 1 шт.;
- инструкция по применению – 1 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность выявления **низкоавидных** IgG к ВПГ 1 и 2-го типа по сывороткам стандартной панели предприятия СПП, содержащим низкоавидные IgG, % – 100.

3.2. Специфичность выявления **высокоавидных** IgG к ВПГ 1 и 2-го типа по сывороткам стандартной панели предприятия СПП, содержащим высокоавидные IgG, % – 100.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (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 пораженный 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 любой другой возбудитель вирусных инфекций.

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

4.6. Запрещается прием 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 ка-

чество 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, которые 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 очень 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:

1. Получением неправильного рабочего разведения исследуемых сывороток (например, 1:70; 1:50 – вместо 1:100).
2. 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:

- а) при отборе 10 мкл сыворотки для предварительного разведения не погружайте наконечник глубоко в сыворотку, чтобы исключить налипание сыворотки на внешнюю поверхность наконечника.
- б) тщательно перемешивайте сыворотку при предварительном разведении 1:10.

Для исключения взаимной контаминации сывороток во вспомогательном планшете для предварительного разведения сывороток и в рабочем планшете необходима тщательная и аккуратная работа, без разбрызгивания растворов.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр вертикального сканирования, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов в двухволновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм; или при длине волны 450 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $(37\pm 1)^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл;
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 мкл до 300 мкл;
- промывочное устройство для планшетов;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;
- планшет для иммунологических исследований разборный однократного применения;
- цилиндр мерный 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 / оттаивания, так как это может привести к получению неправильных результатов. После размораживания образцы следует тщательно перемешать.

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

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

7.1. Перед проведением анализа исследуемые образцы и все компоненты набора, в том числе и запечатанный 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) внести 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

Контрольные образцы (K^+_{BA} , K^+_{HA} , K^-) готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

7.6. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Исследуемые образцы развести в 10 раз раствором для предварительного разведения сывороток. Для этого во вспомогательный ряд пробирок или в лунки вспомогательного планшета внести по 90 мкл РПРС и добавить по 10 мкл цельного образца сыворотки (плазмы), тщательно перемешать. При этом малиновый цвет должен измениться на желтый. Если изменения цвета не произошло, данный образец может дать неправильный результат.

Хранение: при 18–25°C не более 3 ч.

7.7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧЕГО РАСТВОРА КОНЬЮГАТА

В соответствии с числом используемых стрипов (см таблицу) отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество раствора для разведения конъюгата, добавить необходимое количество концентрата конъюгата и тщательно перемешать.

Хранение: не более 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, контакти-

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Количество одновременно используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор тетраметилбензидаина		Промывочный раствор	
	Конъюгат, концентрат мл	Раствор для разведения конъюгата мл	ТМБ, концентрат, мл	Субстратный буферный раствор мл	ФСБ-Т, концентрат мл	Дистил. вода мл
2	0,2	2,0	0,10	2,0	4,0	до 100
4	0,4	4,0	0,20	4,0	8,0	до 200
6	0,6	6,0	0,30	6,0	12,0	до 300
8	0,8	8,0	0,40	8,0	16,0	до 400
10	1,0	10,0	0,50	10,0	20,0	до 500
12	1,2	12,0	0,60	12,0	24,0	до 600

рующие 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 ТМБ, 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 АНАЛИЗА

В растворе РРС возможно выпадение осадка. Перед использованием встряхнуть.

8.1. В лунки стрипов внести попарно по 100 мкл контрольных образцов для прямого (нечетные стрипы) и диссоциирующего (четные стрипы) ИФА. Например, в лунки А-1, А-2 и В-1, В-2 – K^- , в лунки С-1, С-2 – K^+_{HA} , в лунки D-1, D-2 – K^+_{BA} (см. схему).

В остальные лунки внести по 90 мкл раствора для разведения сывороток, затем попарно в соседние лунки двух стрипов внести по 10 мкл предварительно разведенных исследуемых сывороток, тщательно перемешать. Таким образом, исследуемая сыворотка в лунке разбавляется в 100 раз.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать 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 2 раза промывочным раствором (п. 7.4.), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жид-

Схема

	1	2	3	4	5	6
A	K ⁻	K ⁻	СЫВ. 5	СЫВ. 5		
B	K ⁻	K ⁻	СЫВ. 6	СЫВ. 6		
C	K ⁺ _{НА}	K ⁺ _{НА}	СЫВ. 7	СЫВ. 7		
D	K ⁺ _{ВА}	K ⁺ _{ВА}	СЫВ. 8	СЫВ. 8		
E	СЫВ. 1	СЫВ. 1	СЫВ. 9	СЫВ. 9		
F	СЫВ. 2	СЫВ. 2	СЫВ. 10	СЫВ. 10		
G	СЫВ. 3	СЫВ. 3	СЫВ. 11	СЫВ. 11		
H	СЫВ. 4	СЫВ. 4	СЫВ. 12	СЫВ. 12		
	РС	БДА	РС	БДА		

кости 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. Во все лунки нечетных стрипов (для прямого ИФА) внести по 100 мкл раствора сравнения. Во все лунки четных стрипов (для диссоциирующего ИФА) внести по 100 мкл белок-диссоциирующего агента.

Заклеить планшет пленкой и инкубировать в течение 15 мин при температуре от 18 до 25°C.

8.4. По окончании инкубации промыть лунки 3 раза как описано в п. 8.2.

8.5. Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (п. 7.7.). Планшет закле-

ить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре 37°C.

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

8.6. По окончании инкубации промыть лунки 5 раз как описано в п. 8.2.

8.7. Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина (п. 7.8.).

Планшет закрыть крышкой и выдержать 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.

8.8. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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.

10. КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Использовать только после тщательного ознакомления с инструкцией!

- Внести:** 100 мкл K^+_{BA} , K^+_{HA} , 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, 2 раза.
- Внести:** по 100 мкл РС и БДА.
- Инкубировать:** 15 мин, 18–25°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 3 раза.
- Внести:** 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.

11. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

11.1. Рассчитать среднее арифметическое значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом в прямом ИФА ($ОП_{ср. K^-}$ прям. ИФА).

11.2. Рассчитать индекс avidности (ИА) (процент подавления сигнала в диссоциирующем ИФА) для положительных контрольных образцов, используя значения ОП в прямом ИФА и в диссоциирующем ИФА, по следующей формуле:

$$ИА = \frac{ОП K^+_{диссоц.ИФА}}{ОП K^+_{прям.ИФА}} \times 100\%$$

11.3. Результаты исследований следует учитывать только при соблюдении следующих условий:

– среднее значение оптической плотности в лунках с отрицательным контрольным образцом в прямом ИФА должно быть не более 0,15 ($ОП_{ср} K^-_{прям. ИФА} \leq 0,15$);

– значение индекса avidности $K^+_{ВА}$ должно быть более 60% ($ИА K^+_{ВА} > 60\%$);

– значение индекса avidности $K^+_{НА}$ должно быть менее 50% ($ИА K^+_{НА} < 50\%$).

11.4. Рассчитать критическое значение оптической плотности ($ОП_{крит.}$) в прямом ИФА:

$$ОП_{крит.} = ОП_{ср} K^-_{прям. ИФА} + 0,1.$$

11.5. Если ОП сыворотки в прямом ИФА превышает $ОП_{крит.}$, вычислить индекс avidности исследуемого образца по формуле:

$$ИА = \frac{ОП_{диссоц.ИФА}}{ОП_{прям.ИФА}} \times 100\%$$

Значение ИА < 50 % указывает на наличие **низкоавидных** антител;
значение ИА > 60% указывает на наличие **высокоавидных** антител;
значение ИА в интервале 50–60 % – **пограничный** результат.

Для образцов с ОП близкой к ОП_{крит.} (в пределах от ОП_{крит.} до $2 \times \text{ОП}_{\text{крит.}}$) ошибка в определении индекса авидности может быть достаточно велика. Сыворотки от таких пациентов необходимо исследовать в динамике.

11.6. Если ОП исследуемой сыворотки выше динамического диапазона измеряемой прибором оптической плотности (для «Sunrise» Тесан выше 3 о.е.), возможна ошибка в определении ИА, а именно, его завышение.

С целью правильного определения индекса авидности специфических иммуноглобулинов в таких сыворотках (особенно при наличии в сыворотке специфических IgM) необходимо предварительно развести исходную сыворотку в 4 раза, используя в качестве разводящего раствора однократный ФСБ-Т (п. 7.4), и повторить тест на авидность в соответствии с Инструкцией, начиная с п. 7

Для того чтобы избежать повторного анализа (с предварительным 4-х кратным разведением) сывороток с высоким содержанием специфических IgG учет результатов ИФА надо проводить при основной длине волны 450 нм

(референс-волна– 620–650 нм), а затем при основной длине волны 405 нм (референс-волна– 620–650 нм). Такой порядок учета результатов позволит не пропустить слабоположительные сыворотки (регистрация ОП на 450 нм), а индекс avidности сывороток с высоким содержанием специфических IgG можно будет рассчитать по оптической плотности, измеренной при длине волны 405 нм.

11.7. При наблюдении пациента в динамике для получения результатов, адекватно отражающих изменение индекса avidности IgG к ВПГ в крови, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

12.1. Набор реагентов «ВектоВПГ-1,2-IgG-авидность» следует хранить и транспортировать в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (9 мес). Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание набора не допускается.

12.2. Дробное использование набора может быть реализовано не позднее 3 месяцев с момента проведения первого иммуноферментного анализа, но в пределах срока годности.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ

Герпетическая инфекция (ГИ) представляет собой важную медико-социальную проблему, поскольку может формировать тяжелую патологию у детей и взрослых, особенно у иммунодефицитных лиц. Наибольшую опасность это заболевание представляет для беременных женщин, у которых в результате первичной инфекции может произойти самопроизвольный выкидыш, либо родиться ребенок с тяжелыми пороками развития. Вследствие этого важной задачей для врача является определение сроков инфицирования беременной. Кроме того, определение формы ГИ (первичная ГИ, первый эпизод непервичной ГИ, рецидивирующая ГИ) важно с точки зрения выбора тактики лечения.

Серологические тесты, в которых у обследуемых лиц определяют наличие антител к вирусу простого герпеса (ВПГ), позволяют выявлять в крови первично инфицированного ВПГ человека вирусспецифические иммуноглобулины класса М (ВПГ-IgM) через 4–6 дней, иммуноглобулины класса G (ВПГ-IgG) через 10–14 дней с момента клинических проявлений заболевания. Продукция ВПГ-IgM достигает максимального значения на 15–20 сутки. ВПГ-IgM сохраняются в организме человека недолго (1–2 месяца). ВПГ-IgG сохраняются у человека на высоком уровне в дальнейшем всю жизнь. Это обусловлено тем, что ВПГ относится к возбудителям, которые могут персистировать в организме человека неограниченно долго (пожизненно) в латентной форме.

Рецидивирующий герпес обычно протекает на фоне высокой концентрации ВПГ-IgG, свидетельству-

ющей о постоянной антигенной стимуляции организма больного. Однако следует иметь в виду, что далеко не всегда высокие титры коррелируют с активностью инфекционного процесса. Появление IgM у таких больных говорит об обострении болезни.

При первичной ГИ диагностическое значение имеет выявление IgM и /или четырехкратное увеличение титров специфических IgG в парных сыворотках крови, полученных от больного с интервалом 10–12 дней. IgM к ВПГ могут образовываться как при первичном инфицировании, так и при реинфекции и при реактивации вируса. Таким образом, выявление специфических IgM не является надежным и достоверным доказательством первичной герпетической инфекции. Кроме того, отсутствие IgM и/или динамики титров специфических IgG могут быть обусловлены поздним сроком забора крови с момента инфицирования или неадекватным иммунным ответом, связанным с нарушениями иммунной системы.

Достоверно диагностировать первичную инфекцию и дифференцировать ее от первого эпизода непервичной ГИ позволяет определение индекса avidности (ИА) специфических IgG. При первичной инфекции более 50% антител, персистирующих в организме, обладают низкой avidностью (сродством) к антигенным детерминантам вируса, поэтому образующийся комплекс «антиген-антитело» является непрочным и разрушается под воздействием диссоциирующих агентов. Основой метода определения avidности является диссоциация специфического комплекса

антиген-антитело хаотропным диссоциирующим агентом, степень которой зависит от константы связывания антител с антигеном. При первичном инфицировании ВПГ индекс avidности с момента появления ВПГ-IgG постепенно возрастает от 5% до 50% в течение 100 дней с момента клинических проявлений. В среднем в течение первых 50 дней индекс avidности выходит на уровень 36%. Средний индекс avidности в диапазоне 50–100 дней составляет 50%. Индекс avidности ВПГ-IgG в диапазоне 50–60% указывает на позднюю стадию первичной инфекции. При паст-инфекции (рецидивирующий герпес, первый эпизод непервичного герпеса) индекс avidности ВПГ-IgG составляет 60–100%.

Если в крови при наличии ВПГ-IgM обнаруживаются ВПГ-IgG с низкой avidностью (ИА < 50%), то это свидетельствует об острой стадии первичной инфекции.

Наличие же высокоавидных ВПГ-IgG (ИА > 60%) в присутствии ВПГ-IgM предполагает реактивацию ГИ, либо свидетельствует о вторичном иммунном ответе в случае реинфекции ВПГ.

Определение высокоавидных ВПГ-IgG в отсутствии ВПГ-IgM свидетельствует о паст-инфекции.

Обнаружение низкоавидных ВПГ-IgG без присутствия ВПГ-IgM может иметь место при сроках инфицирования более 1 месяца. В таких случаях необходимо определять в динамике увеличение титра ВПГ-IgG и изменение индекса avidности.

Таким образом, только с наработкой высокоавидных ВПГ-IgG и стабилизацией их концентрации можно говорить об окончании острой фазы первичной ГИ.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов
следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская обл.,
Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 336-73-46,
тел./факс (383) 332-67-49,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

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

тел. (383) 227-75-43

15.09.10.

**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