



## 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](mailto:info@diameb.com)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)