НоваЛіза®

Вірус простого герпесу 1 типу, антитіла IgG ІФА

Тільки для діагностики in vitro

Інструкції з використання

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1,тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

REF HSV1G0500 (96 визначень)

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

ІФА-тест HSV 1 IgG призначений для якісного визначення антитіл класу IgG проти вірусу простого герпесу 1 типу (HSV 1) у сироватці або плазмі людини (цитрат, гепарин).

2. ПРИНЦИП ДОСЛІДЖЕННЯ

Якісне імуноферментне визначення специфічних антитіл базується на методі ІФА (імуноферментний аналіз).
Мікропланшети покривають специфічними антигенами для зв'язування відповідних антитіл зразка. Після промивання лунок для видалення всього незв'язаного матеріалу зразка додають кон'югат, мічений пероксидазою хрону (HRP). Цей кон'югат зв'язується із захопленими антитілами. На другому етапі промивання незв'язаний кон'югат видаляють. Імунний комплекс, утворений зв'язаним кон'югатом, візуалізують шляхом додавання субстрату тетраметилбензидину (ТМБ), що дає синій продукт реакції. Інтенсивність цього продукту пропорційна кількості специфічних антитіл у зразку. Для зупинки реакції додають сірчану кислоту. Це призводить до жовтого забарвлення кінцевої точки. Поглинання при 450/620 нм зчитують за допомогою рідера мікропланшетів ІФА.

3. МАТЕРІАЛИ

3.1. Реагенти, що постачаються

- **Мікротитровальний планшет:**12 розбірних 8-лункових стріпів, покритих рекомбінантними антигенами HSV типу 1 gG1; у алюмінієвій фользі, що багаторазово закривається.
- ДІЛ **DIL розчинник:**1 пляшка, що містить 100 мл фосфатного буфера (10 мМ) для розведення зразка; pH 7,2 ± 0,2; жовтого кольору; готовий до використання; білий ковпачок; ≤ 0,0015% (об./об.) CMIT/MIT (3:1).
  СОЛН | СТОП **SOLN /STOP Стоп розчин:**1 пляшка, що містить 15 мл сірчаної кислоти, 0,2 моль/л; готовий до використання; червоний ковпачок.
- WASH | BUF | 20x **:**1 флакон, що містить 50 мл 20-кратно концентрованого фосфатного буфера (0,2 М), pH 7,2 ± 0,2, для промивання лунок; білий ковпачок; 0,2% (мас./об.) 5-бром-5-нітро-1,3-діоксану.
- **Кон'югат:**1 флакон, що містить 20 мл мічених пероксидазою антитіл до людського IgG у фосфатному буфері (10 мМ); синього кольору; готовий до використання; чорний ковпачок.
- SUB | TMB **:**1 флакон, що містить 15 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидину (ТМБ), < 0,1%; готовий до використання; жовтий ковпачок.
- **Позитивний контроль:**1 флакон, що містить 2 мл контролю; жовтого кольору; готовий до використання; червоний ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) MIT.
- **Контроль пороговий:**1 флакон, що містить 3 мл контролю; жовтого кольору; готовий до використання; зелений ковпачок; ≤ 0,02% (об./об.) MIT.
- **Негативний контроль:**1 флакон, що містить 2 мл контролю; жовтого кольору; готовий до використання; синій ковпачок; ≤ 0,0015% (об./об.) CMIT/MIT (3:1). Щодо застережень та запобіжних заходів див.11.1.

3.2. Матеріали, що постачаються

- 1 Покривна фольга
- 1 Інструкція із застосування (ІЗЗ)

3.3. Необхідні матеріали та обладнання

- Рідер для мікропланшетів ІФА, обладнаний для вимірювання поглинання при 450/620 нм
- Інкубатор 37°C
- Ручне або автоматичне обладнання для промивання мікротитровальних планшетів
- Піпетки для подачі об'ємів від 10 до 1000 мкл
- Вихровий змішувач пробірок
- Дистильована вода
- Одноразові пробірки

4. СТАБІЛЬНІСТЬ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Зберігайте набір при температурі 2...8 °C. Відкриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, за умови зберігання при температурі 2...8 °C.

5. ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Дуже важливо довести всі реагенти та зразки до кімнатної температури (20…25 °C) та перемішати їх перед початком тестового запуску!

5.1. Мікропланшет

Розбірні стріпи покриті рекомбінантними антигенами HSV 1 gG1. Відразу після видалення стріпів решту стріпів слід знову запечатати в алюмінієву фольгу разом із доданим осушувачем та зберігати при температурі 2...8 °C.

5.2. WASH | BUF | 20x

Розведіть WASH│BUF│20x 1 + 19; наприклад, 10 мл WASH│BUF│20x + 190 мл дистильованої води. Розведений буфер (WASH│BUF│1x) стабільний протягом 5 днів за кімнатної температури (20…25 °C). У разі появи кристалів у концентраті, підігрійте розчин до 37 °C, наприклад, на водяній бані. Добре перемішайте перед розведенням.

5.3. SUB | TMB

Реагент готовий до використання та повинен зберігатися при температурі 2...8 °C, захищеному від світла місці. SUB│TMB має бути безбарвним або мати легкий блакитний відтінок. Якщо SUB│TMB посиніє, можливо, він забруднений і його слід викинути

6. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Використовуйте для цього аналізу зразки сироватки або плазми людини (цитрат, гепарин). Якщо аналіз проводиться протягом 5 днів після збору зразка, зразки слід зберігати при температурі 2...8 °C; в іншому випадку їх слід розділити на аліквоти та зберігати глибоко замороженими (-70...-20 °C). Якщо зразки зберігаються замороженими, добре перемішайте розморожені зразки перед тестуванням. Уникайте повторного заморожування та розморожування.

Теплова інактивація зразків не рекомендується.

6.1. Розведення зразка

Перед аналізом усі зразки слід розвести розчином (DIL) у співвідношенні 1:100. Розподіліть 10 мкл зразка та 1 мл DIL у пробірки, щоб отримати розведення 1:100, та ретельно перемішайте за допомогою віхрового міксеру.

7. ПРОЦЕДУРА ДОСЛІДЖЕННЯ

Будь ласка, уважно прочитайте інструкцію з використання перед проведенням аналізу. Надійність результату залежить від суворого дотримання інструкцій з використання, як описано. Наведена нижче процедура тестування валідована лише для ручного проведення. Якщо тест проводиться на автоматичних системах ІФА, ми рекомендуємо збільшити кількість кроків промивання з трьох до п'яти, а також об'єм з від 300 мкл до 350 мкл, щоб уникнути ефектів промивання. Зверніть увагу на розділ11.Перед початком аналізу, слід ретельно розробити план розподілу та ідентифікації всіх зразків і стандартів/контролів (рекомендуються дублікати). Виберіть необхідну кількість мікротитровальних стріпів або лунок та вставте їх у тримач. Виконуйте всі кроки аналізу у зазначеному порядку та без будь-яких затримок. Для дозування кожного стандарту/контролю та зразка слід використовувати чистий одноразовий наконечник. Налаштуйте інкубатор на 37 ± 1 °C.

1. Розлийте по 100 мкл стандартів/контролів та розведених зразків у відповідні лунки. Залиште лунку A1 для бланка субстрату.
2. Накрийте лунки фольгою, що постачається в наборі.
3. **Інкубувати протягом 1 години ± 5 хвилин при температурі 37 ± 1 °C.**
4. Після завершення інкубації зніміть фольгу, аспіруйт вміст лунок та промийте кожну лунку тричі. з 300 мкл WASH BUF 1x. Уникайте переливів з реакційних лунок. Інтервал між промиванням та аспірацією має бути > 5 сек. Наприкінці обережно видаліть залишки рідини, постукуючи стріпами об паперові серветки, перш ніж переходити до наступного кроку! Примітка: Промивання важливе! Недостатнє промивання призводить до низької точності та хибних результатів.
5. Розподіліть по 100 мкл кон'югату у всі лунки, окрім лунки A1 для бланка субстрату.
6. **Інкубувати протягом 30 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C).**Не піддавайте впливу прямих сонячних променів.
7. Повторіть крок 4.
8. Розподіліть 100 мкл SUB TMB в усі лунки.
9. **Інкубуйте рівно 15 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) у темряві.** Синє забарвлення виникає внаслідок ферментативної реакції.
10. Внесіть по 100 мкл розчину SOLN│STOP у всі лунки в тому ж порядку та з тією ж швидкістю, що й для SUB│TMB, таким чином відбудеться зміна кольору з синього на жовтий.
11. Виміряйте поглинання при 450/620 нм протягом 30 хвилин після додавання Стоп розчину. .

7.1. Вимірювання

Встановіть рідер мікропланшетів ІФА на нуль, використовуючи бланк субстрату.

Якщо з технічних причин рідер мікротитровальних планшетів ІФА неможливо налаштувати на нуль за допомогою бланка субстрату, відніміть його значення поглинання від усіх інших виміряних значень поглинання, щоб отримати достовірні результати! **Виміряйте поглинання** усіх лунок при 450 нм та запишіть значення поглинання для кожного стандарту/контролю та зразка. Рекомендується біхроматичне вимірювання з використанням референтної довжини хвилі 620 нм. Де це можливо, обчисліть середні значення поглинання всіх дублікатів.

8. РЕЗУЛЬТАТИ

8.1. Критерії перевірки виконання

Щоб аналіз вважався дійсним, необхідно суворо дотримуватися цих інструкцій із застосування та відповідати наступним критеріям:

- **Заготовка субстрату**: Поглинання значення < 0,100
- **Негативний контроль**: Поглинання значення < 0,200 та < порогове значення
- **Контроль пороговий**: Поглинання значення 0,150 – 1,300
- **Позитивний контроль**: Поглинання значення > Порогове значення

Якщо ці критерії не виконуються, тест недійсний і його необхідно повторити.

8.2. Розрахунок результатів

Порогове значення – це середнє значення поглинання для визначень порогового контролю.

Приклад: Значення поглинання Порогове значення контролю 0,44 + значення поглинання Порогове значення контролю 0,42 = 0,86 / 2 = 0,43 Порогове значення = 0,43

8.2.1. Результати в одиницях [НТОД]

$$\frac{\text{Значення поглинання зразка (середнє)} \times 10}{\text{Порогове значення}} = [\text{Одиниці NovaTec НТод})$$

Приклад: $\frac{1{,}591 \times 10}{0{,}43}$ = 37 НТОД (одиниць)

8.3. Інтерпретація результатів

Порогове	10 НТОД	-
Позитивний	> 11 НТОД	Присутні антитіла проти збудника. Мав місце контакт з антигеном (збудником, відповідно вакциною).
Сумнівний	9 – 11 НТОД	Антитіла проти збудника не могли бути чітко виявлені. Рекомендується повторити тест зі свіжим зразком через 2-4 тижні.
Негативний	< 9 НТОД	Зразок не містить антитіл проти збудника. Попередній контакт з антигеном (збудником, відповідно вакциною) малоймовірний.
Діагноз інфекційного захворювання не слід встановлювати на основі результатів одного тесту. Точний діагноз повинен враховувати клінічний анамнез, симптоматику, а також серологічні дані. У пацієнтів з ослабленим імунітетом та новонароджених серологічні дані мають лише обмежену цінність.		

8.3.1. Ізотипи антитіл та стан інфекції

Серологія	Значення
IgM	Характеристика первинної антитільної відповіді Високий титр IgM з низьким титром IgG: → свідчить про поточну або нещодавню інфекцію. Рідко: → персистуючий IgM.
IgG	Характерна для вторинної антитільної відповіді: може зберігатися протягом кількох років. Високий титр IgG з низьким титром IgM: → може свідчити про перенесену інфекцію

9. СПЕЦИФІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕКСПЛУАТАЦІЇ

Результати стосуються досліджених груп зразків; це не гарантовані характеристики.

9.1. Точність

В аналізі	н	Середнє значення(С)	CV(%)
#1	24	0,494	6.47
#2	24	1.168	4.40
#3	24	1.084	4.41

Між аналізами	н	Середнє значення (НТОД)	CV(%)
1	12	25,93	6.87
#2	12	29.34	8.36
#3	12	7.69	8.71

9.2. Діагностична специфічність

Діагностична специфічність визначається як ймовірність негативного результату аналізу за відсутності специфічного аналіту. Вона становить 99,07% (95% довірчий інтервал: 96,68% - 99,89%).

9.3. Діагностична чутливість

Діагностична чутливість визначається як ймовірність позитивного результату аналізу за наявності специфічного аналіту. Вона становить 99,52% (95% довірчий інтервал: 97,36% - 99,99%).

9.4. Вплив

Вплив на гемолітичні, ліпемічні або жовтяничні зразки не спостерігається до концентрації гемоглобіну 10 мг/мл, тригліцеридів 5 мг/мл та білірубіну 0,5 мг/мл.

9.5. Перехресна реактивність

Дослідження панелі зразків з активністю антитіл до потенційно перехресно реагуючих параметрів не виявило ознак хибнопозитивних результатів внаслідок перехресних реакцій.

10. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Бактеріальне забруднення або повторні цикли заморожування-розморожування зразка можуть впливати на значення поглинання.

11. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Процедуру тестування, інформацію, запобіжні заходи та попередження, що містяться в інструкціях із застосування, необхідно суворо дотримуватися. Використання тестових наборів з аналізаторами та подібним обладнанням має бути валідованим. Будь-які зміни в конструкції, складі та процедурі тестування, а також будь-яке використання в поєднанні з іншими продуктами, не схваленими виробником, заборонені; користувач сам несе відповідальність за такі зміни. Виробник не несе відповідальності за хибні результати та інциденти з цих причин. Виробник не несе відповідальності за будь-які результати візуального аналізу зразків пацієнтів.
- Тільки для діагностичного використання in vitro.
- Усі матеріали людського або тваринного походження слід розглядати та обробляти як потенційно інфекційні.
- Усі компоненти людського походження, що використовуються для виробництва цих реагентів, були протестовані на наявність антитіл до ВІЛ, антитіл до ВГС та HBsAg і виявилися нереактивними.
- Не замінюйте реагенти або мікротитровальні планшети різних виробничих партій.
- Не можна використовувати реагенти інших виробників разом з реагентами цього тестового набору.
- Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці.
- Використовуйте лише чисті наконечники піпеток, дозатори та лабораторне посуд.
- Не міняйте місцями кришки флаконів з реагентами, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Щільно закривайте флакони з реагентами одразу після використання, щоб уникнути випаровування та мікробного забруднення.
- Після першого відкриття та подальшого зберігання перевірте флакони з кон'югатом та стандартом/контролем на наявність мікробного забруднення перед подальшим використанням.
- Щоб уникнути перехресного забруднення та хибно завищених результатів, піпетуйте зразки пацієнтів та дозуйте реагенти точно в лунки, не розбризкуючи їх.
- ІФА призначений лише для кваліфікованого персоналу, який дотримується стандартів належної лабораторної практики (GLP).
- Для подальшого внутрішнього контролю якості кожна лабораторія повинна додатково використовувати відомі зразки.

11.1. Примітка щодо безпеки для реагентів, що містять небезпечні речовини

Реагенти можуть містити CMIT/MIT (3:1) або MIT (див.3.1).
Таким чином, застосовуються наступні заяви про небезпеку та запобіжні заходи.

УВАГА	H317	Може викликати алергічну шкірну реакцію.
	П261	Уникайте вдихання аерозолю.
	П280	Використовуйте захисні рукавички/захисний одяг.
	P302+P352	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води з милом.
	P333+P313	Якщо виникне подразнення шкіри або висип: зверніться за медичною допомогою/консультацією.
	P362+P364	Зніміть забруднений одяг та виперіть його перед повторним використанням.

Реагенти можуть містити 5-бром-5-нітро-1,3-діоксан (див.3.1).
Таким чином, застосовуються наступні заяви про небезпеку та запобіжні заходи.

УВАГА	H315	Викликає подразнення шкіри.
	H319	Викликає серйозне подразнення очей
	П280	Використовуйте захисні рукавички/захисний одяг.
	P302+P352	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води з милом.
	P305+P351+P338	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ В ОЧІ: Обережно промивайте очі водою протягом кількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо вони є і їх легко зняти. Продовжуйте промивання.
	P337+P313	Якщо подразнення очей не проходить: зверніться за медичною допомогою/консультацією.

Додаткову інформацію можна знайти в паспорті безпеки.

11.2. Міркування щодо утилізації

Залишки хімічних речовин та препаратів зазвичай вважаються небезпечними відходами. Утилізація таких відходів регулюється національними та регіональними законами та нормативними актами. Зверніться до місцевих органів влади або компаній з управління відходами, які нададуть вам поради щодо утилізації небезпечних відходів.

Інформацію про пакувальні матеріали див. у розділі ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ.

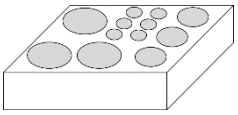
12. ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ЗАМОВЛЕННЯ

REF	HSV1G0500	Вірус простого герпесу 1 типу, антитіла IgG ІФА (96Визначення)

СКОРОЧЕННЯ

CMIT	5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он
MIT	2-метил-2H-ізотіазол-3-он

ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ

<table>
<tr><td>
PAP 21</td><td> 
PAP 21</td><td>
PAP 22</td></tr>
<tr><td colspan="2">SOLN | STOP   WASH | BUF | 20x   SUB | TMB   DIL
CONJ   CONTROL | +   CONTROL | -   CUT OFF</td><td>МТП</td></tr>
<tr><td>
HDPE 2</td><td>
PP 5</td><td>
PET / ALU / LDPE 90</td></tr>
</table>

РЕЗЮМЕ ПРОЦЕДУРИ ДОСЛІДЖЕННЯ

СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ

Вірус простого герпесу 1 типу (ВПГ 1) IgG

Підготовка до тесту

Підготуйте реагенти та зразки, як описано.
Розробіть план розподілу та ідентифікації для всіх зразків і стандартів/контролів.
Виберіть необхідну кількість мікротитровальних стріпів або лунок та вставте їх у тримач.

Процедура аналізу

	Бланк субстрату (A1)	Негативний контроль	Контроль пороговий	Позитивний контроль	Зразок (розведений 1+100)
Негативний контроль	-	100 мкл	-	-	-
Контроль пороговий	-	-	100 мкл	-	-
Позитивний контроль	-	-	-	100 мкл	-
Зразок (розведений 1+100)	-	-	-	-	100 мкл
Накрийте лунки фольгою, що постачається в наборі **Інкубувати протягом 1 години при температурі 37 ± 1 °C** Промийте кожну лунку тричі по 300 мкл промивного буферного розчину 1x					
Кон'югат	-	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубувати протягом 30 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) Не піддавайте впливу прямих сонячних променів Промийте кожну лунку тричі по 300 мкл промивного буферного розчину 1x					
SUB TMB	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Інкубувати рівно 15 хвилин за кімнатної температури (20...25 °C) у темряві					
SOLN STOP	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл	100 мкл
Фотометричне вимірювання при 450 нм (референтна довжина хвилі: 620 нм)					

Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH
Waldstrasse 23 A6
63128 Dietzenbach, Germany
Tel.: +49 6074 23698-0
Fax: +49 6074 23698-900
E-Mail: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com
Website: clinical.goldstandarddiagnostics.com

Версія HSV1G0500_IFU_rev01_fromLot_137N