



Набор для определения антител (IgG и IgM) к ядерному антигену гепатита В (анти-НВс) в человеческой сыворотке или плазме.
HBCAb

Кат. номер : 137-E-HBC-1P
Количество : 96

Внимание: основой при проведении анализа есть оригинал инструкции на англ. языке.

Методика 11/05

НАЗНАЧЕНИЕ

1. Как метод диагноза вирусного гепатита.
2. для исследования гуморальной иммунной реакции на вирус гепатита В.
3. Для скрининга состояния анти-НВс перед вакцинацией.

_____ НВсAg _____ анти-НВс (положительный образец)	
_____ НВсAg _____ (анти-НВс)-HRP + субстрат	
антиген твёрдой фазы	ферменто-меченное антитело

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Полистирольные микротитрационные полосочные лунки покрыты ядерным антигеном гепатита В, который имеет в себе антиген твёрдой фазы (НВсAg). Образец и конъюгат (мышинный моноклональный анти-НВс, меченный HRP) инкубируются в той же лунке в то же время. Если образец содержит анти-НВс, покрытый НВсAg будет частично блокирован, или блокирован целиком. Меченное антитело связывается только с незаблокированным антигеном твёрдой фазы. Инкубация с ферментом, гидропероксидом и ТМВ производят голубой окрас в микролунке, который становится желтым, когда реакция останавливается серной кислотой. Если образец содержит анти-НВс, только уменьшается насыщенность окраса сравнительно с образцами отрицательного контроля.

Представление

В наличии реагенты для 96 тестов (включая образцы и контроли).

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

1. **Микроячейковые стрипы:** 1 планшет (48 тестов) 6, 12 8-луночных полосок/планшет (делимые). Каждая ячейка планшета покрыта HBCAb и запечатана в алюминиевом мешке с силикагелевым пакетом как осушителем.
2. **Конъюгат:** 1 фл./3,2 мл меченное пероксидазой хрена HBCAb.
3. **Положительный контроль:** 1 фл./1,0 мл.
4. **Отрицательный контроль:** 1 фл./1,0 мл.
5. **Промывочный раствор:** Концентрат (разбавить 1:25 перед использованием), 1 бут./40 мл.
6. **Хромоген А:** 1 фл./8 мл (содержащий гидропероксид).
7. **Хромогена В:** 1 фл./8 мл (содержащий ТМВ).
8. **Стоп раствор:** 1 фл./7 мл (2 M H₂SO₄).
9. **Планшетные накрыватели** : 2 шт.
10. **Инструкция пользователя:** 1 копия.

ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Дистиллированная вода и обычный солевой раствор.
2. Ручные или автоматические пипетки на 10 мкл, 50 мкл, 1000 мкл и т.д..
3. Одноразовые насадки для пипеток.
4. Таймер.
5. Инкубатор (37°C).
6. Автоматический микропланшетный промыватель (также можно проводить вручную).
7. Микропланшетный ридер с фильтром 450 нм и 655 нм.
8. Абсорбирующая ткань
9. Перчатки.
10. Микропланшетный миксер.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ по БЕЗОПАСНОСТИ

1. обращайтесь с образцами сыворотки и плазмы как с потенциально инфекционными.
2. полоски, покрытые HBCAb, конъюгат. Анти-НВс положительный контроль могут переносить гепатит.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Если держать тестовые реагенты, в том числе полоски и положительные и отрицательные контроли при 2-8°C, они остаются стабильными до окончания срока годности, указанной на коробке. Алюминиевую сумку перед открытием нужно привести к температуре окружающей среды, чтобы предотвратить конденсацию на полосках. Неиспользованные полосы нужно разместить в пластмассовой сумке вместе с пакетом с силикагелем и хранить при 2-8°C. После использования части тестовых реагентов: ТМВ раствор, конъюгат, концентрированный промывочный раствор, контроли, и оставшиеся содержимое набора стабильно до окончания срока годности, если хранить при 2-8°C в закрытых оригинальных флаконах.

Разбавленный промывочный раствор стабилен в течение 8 недель при 2-8°C.

ЗАБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. сыворотка или плазма должны быть свободными от микробиологического заражения при тестировании.
2. Консерванты (кроме азида) и повторное замораживание и размораживание могут дать ошибочные результаты.
3. Осадки, сгустки и клетки крови могут привести к ошибочно положительным результатам, таким образом нерастворимый материал необходимо удалить из образцов путем центрифугирования перед тестированием.

ПРИМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Не проводите тест в присутствии реактивных испарений (например, кислот, щелочей, альдегидов) или пыли, поскольку это может повлиять на ферментную активность конъюгата.
2. Перед использованием убедитесь, что тестовые образцы и контроли гомогенны.
3. Стрипы можно использовать только один раз.
4. Во избежание загрязнения, не касайтесь верхнего края полосок пальцами.
5. Убедитесь, что микропланшет закрыт во время инкубации.
6. Все этапы пипетирования должны исполняться с крайней осторожностью. Во избежание фальшиво положительных результатов, не касайтесь краев лунок пипеткой при внесении конъюгата субстрата
7. Проверьте, что в б не было воздушных пузырей в лунках после всех этапов пипетирования. При их наличии, удалите, например, легким похлопыванием.

8. Точное промывание после шагов инкубации является очень важным для получения точных результатов. Используйте микропланшетный вошер или строго соблюдайте технологию промывания.
9. Если нет возможности немедленно после промывки заполнить лунки конъюгатом или субстратом, полоски можно положить обратной стороной на влажную абсорбирующую ткань не более чем на 15 минут.
10. Для растворов, содержащие ТМВ и/или гидропероксид не допускать контакта с металлами или ионами металла, поскольку это может привести к нежелательному цветообразованию.
11. Убедитесь, что инкубационное время энзимной реакции в одном тесте одинаковое для всех ячеек, для этого добавляйте серную кислоту в той же последовательности и в те же интервалы, что и раствор субстрата.
12. Не смешивайте компоненты разных наборов с разными номерами партий.

ПРОЦЕДУРА ПРОМЫВКИ

Недостаточная промывка отрицательно повлияет на результат теста. Следует тщательно соблюдать рабочие инструкции по эксплуатации промывочного оборудования. Полностью аспирируйте жидкость из всех лунок, наклоня насадку аспирационной пипетки ко дну каждой лунки. Старайтесь не поцарапать внутренность лунки. После аспирации заполните лунки 0,3 мл разбавленного промывочного раствора. Аспирируйте жидкость по крайней мере через 5 сек. после заполнения. Проведите эти процедуры 5 раз. После конечной аспирации процедура промывки заканчивается высушиванием абсорбирующей тканью. При отсутствии автоматического промывателя, промывку можно делать вручную.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

1. Разбавьте концентрированным промывочный буфер 1:25 дистиллированной водой. Разбавленный моющий буфер использовать при температуре 20-25С.
2. Дайте всем тестовым образцам, контролям, конъюгату, разбавленному промывочному раствору, субстрату и алюминиевому пакету, содержащему ТМВ полоски достичь температуры окружающей среды перед использованием.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Откройте алюминиевый пакет и извлеките планшет необходимым количеством полосок. Неиспользованные полоски следует рвануть в поставляемом полиэтиленовом пакете при наличии мешка с силикагелем (См. раздел Хранение и Стабильность). В процессе анализа полоски остаются в держателе. Полоски можно пометить от нижнего края.
2. В микропланшете оставьте **3 лунки** для отрицательного контроля (50 мкл каждая), **1 лунку** для положительного контроля (50 мкл) и 1 лунку как бланк.
3. Внесите **50 мкл** каждого образца в оставшиеся ячейки. Если образец разбавлен 1:30 обычным солевым раствором, результатом будет клинический диагноз; если образец не разбавлен, результатом будет эпидемический диагноз.
4. Внесите **50 мкл** конъюгата в каждую лунку (кроме лунки бланка).
5. Накройте микропланшет накрывателем для планшета и инкубируйте **30 минут при 37⁰С**.
6. Промойте каждую лунку **5 раз** (см. процедуру промывки).
7. Внесите **50 мкл** хромогена А в каждую ячейку, включая **бланк**.

8. Внесите **50 мкл** хромогена В в каждую ячейку, включая **бланк**.
9. Хорошо перемешайте и накройте планшет новым накрывателем. Инкубируйте **15 минут при 37⁰С**.
10. Остановите реакцию путем внесения **50 мкл стоп раствора** в каждую ячейку (включая лунку бланка) и полностью перемешайте.
11. Считывание с микропланшета:
Выберите лунку бланка, считайте абсорбцию других лунок (в течении 10 минут после этапа 10) при **450 нм**. Если используется инструмент с двойным фильтром, установите длину волны на **630 нм**.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СКРИНИНГОВОГО ТЕСТА

1. Аббревиации

S = абсорбция тестового образца

N = средн. абсорбция отрицательных контролей

P = средн. абсорбция положительных контролей

Вычислите абсорбцию для каждого образца и контроля путем вычитания бланка от каждого образца и значения контроля. Если исправление бланка выполняется автоматически микропланшетным считывателем, пропустите этот этап.

2. Вычисление cut-off значения

Значение cut-off = $0,5xN$ (клинический диагноз), или
Значение cut-off = $0,3xN$ (эпидемический диагноз),

3. Результат анализа

Образец положительный если S меньше cut-off значения
Образец отрицательный если S больше/равно cut-off значению

Проверка действительности процедуры анализа:

Процедура анализа действительна только если $P < 0.07$ и $N > 1.00$.

Интерпретация результатов скринингового теста

Отрицательный результат означает, что проверенный образец или не содержит никаких anti-HBc, или содержит anti-HBc ниже предела обнаружения иммуноанализом. Это случается, когда никакая инфекция гепатита В не обнаружена, в течение периода инкубации или после полного восстановления от давней инфекции с потерей обнаруживаемых антител к HBc. Положительный результат означает, что образец содержит антитело к HBcAg и указывает, что пациент был заражен вирусом гепатита В когда-нибудь раньше.

Как и с другим иммуноанализами, могут происходить случайные ошибочно положительные реакции, которые в большинстве случаев не повторяются. Поэтому рекомендуется повторно проверить все образцы, предоставляющие изначально положительный результат. Чтобы получить больше информации по поводу состояния гепатита В пациента, требуются дополнительные тесты на маркеры гепатита В. Пациенты, положительные к обоим anti-HBc и anti-HBs имеют необходимый гуморальный иммунитет для защиты против повторной инфекции. Однако, необходимо соблюдать международные и /или национальные инструкции по скринингу перед вакцинацией,

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