



Набор ИФА для определения в человеческой сыворотке или плазме поверхностного антигена гепатита В (HBsAg)

Каталог. № : E-HBS-1P

Количество : 96

Производитель: Dima Diagnostika (Германия)

Методика от 11-2005

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

НАЗНАЧЕНИЕ

1. Для скрининга доноров крови.
2. Для мониторинга людей с более высоким чем нормальный риском контакта с гепатитом, например пациентов, техников или медперсонала в почечных диализаторах или клинических лабораториях.
3. Как средство диагноза болезни печени.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

анти-НВs —НВsАg—(анти-НВs)-HRP+Субстрат

антитело	положительный	ферменто-меченное
твердой фазы	образец	антитело

Полистирольные микротитрационные лунки полосок покрыты моноклональным анти-НВs (антитело к НВsАg), который имеет в себе антитело твердой фазы. Тестовый образец инкубируется в такой лунке. НВsАg при его наличии в образце, свяжется с антителом твердой фазы. После этого добавляется анти-НВs гвинейской свиньи, который помечен ферментом пероксидазы хрена (HRP).

При положительной реакции, это меченное антитело связывается с любым, предварительно сформировавшимся НВsАg комплексом антитела твердой фазы. Инкубация с ферментом субстрата производит голубой окрас в тестовой лунке, который становится желтым, когда реакция останавливается серной кислотой. Если образец не содержит НВsАg, именно меченное антитело невозможно обнаружить, только образуется слабый фоновый цвет.

Представление

В наличии реагенты для 96 тестов (включая образцы и контроли). Все компоненты помечены в специфический для набора желтый цвет.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

1. **Микрокачечковые стрипы:** 1 планшет (96 тестов), 12 8-луночных полосок/планшет. Каждая лунка планшета покрыта моноклональным НВsАg (мышиним) и запечатана в алюминиевом мешке с силикагелевым пакетом как осушителем.
2. **Конъюгат:** 1 фл./6,2 мл (HRP-меченый анти-НВs гвинейской свиньи).
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 гидро-пероксид).
7. **Хромогена В:** 1 фл./8 мл (содержащий ТМВ).
8. **Стоп раствор:** 1 фл./7 мл (2 М Н₂SO₄).
9. **Планшетные накрыватели:** 2 шт.
10. **Инструкция пользователя:** 1 копия.

ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Дистиллированная вода.
2. Ручные или автоматические пипетки на 20 мкл, 50 мкл, 100 мкл и 1000 мкл и т.д..
3. Одноразовые наконечники для пипеток.
4. Таймер.
5. Микропланшетный миксер.
6. Инкубатор (37⁰С).

7. Автоматический микропланшетный промыватель (также можно проводить ручную).
8. Микропланшетный ридер с фильтром 450 нм и 630 нм.
9. Перчатки.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ по БЕЗОПАСНОСТИ

Положительный контроль содержит НВsАg. Работайте в перчатках. Отрицательный контроль извлекается из человеческой донорской крови, которая была проверена надежными методами индивидуально на НВsАg также как и на антитела к ВИЧ, и дала отрицательный результат. Однако, поскольку никакой метод тестирования не может предоставить полную гарантию на отсутствие инфекционных носителей, все образцы человеческого происхождения нужно считать потенциально инфекционными и обрабатываться в перчатках.

Раствор ТМВ содержит диметилсульфоксид – раздражитель кожи и слизистых. (Избегайте вдоха испарений).

Утилизируйте все образцы и используемые для проведения теста материалы как будто бы они содержали инфекционные носители. Держатели полосок и оборудование после использования необходимо дезинфицировать, например, глутаральдегидом 2%, рН 7,5-8,0.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Если держать тестовые реагенты при 2-8⁰С, они остаются стабильными до окончания срока годности.
2. После вскрытия алюминиевого пакета неиспользованные полоски нужно разместить в полиэтиленовой сумке вместе с пакетом с силикагелем и хранить при 2-8⁰С.
3. После использования части тестовых реагентов: конъюгата ТМВ раствора, субстрата, концентрированного промывочного раствора или контролей, оставшееся содержимое набора стабильно до окончания срока годности, если хранить при 2-8⁰С в закрытых оригинальных флаконах.

ОБРАЗЕЦ

1. Сыворотка или плазма должны быть свободными от микробиологического заражения при тестировании.
2. Не добавлять азид натрия как консервант.
3. Добавки (гентамицина сульфата или проклина) и повторное замораживание и размораживание могут дать ошибочные результаты.
4. 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. В одной процедуре не меняйте полоски, конъюгат и контроли реагенты разных партий и разных наборов.
2. Не проводите тест в присутствии реактивных испарений (например, кислот, щелочей, альдегидов) или пыли, поскольку это может повлиять на ферментную активность конъюгата.
3. Все сосуды, используемые для приготовления раствора субстрата должны быть тщательно очищены и в конце промыты дистиллированной водой.
4. Полоски использовать только один раз.
5. Во избежание загрязнения, не касайтесь верхнего края полосок пальцами.
6. Все этапы пипетирования должны исполняться с крайней осторожностью.
7. Во избежание загрязнения, не касайтесь краев лунок пипеткой при внесении конъюгата субстрата.
8. Проверьте наличие воздушных пузырей в лунках после всех этапов пипетирования. При их наличии, удалите, например, легким похлопыванием.
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. 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, наклоняя 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. Концентрированный промывочный буфер необходимо привести к температуре окружающей среды.
2. Перед использованием дайте всем тестовым образцам, контролям, конъюгату, разбавленному промывочному раствору, субстрату и алюминиевому пакету, содержащему микропланшет и флаконы с ТМВ, достичь температуры окружающей среды.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Откройте алюминиевый пакет и извлеките планшет необходимым количеством полосок. Неиспользованные полоски следует ранить в поставляемом полиэтиленовом пакете при наличии мешка с силикагелем (См. раздел Хранение и Стабильность). В процессе анализа полоски остаются в держателе.
2. Внесите 50 мкл каждого образца в лунки оставьте **5 лунок** для контролей и бланка). Внесите 50 мкл положительного контроля в каждую из 2 лунок, и 50 мкл отрицательного контроля в каждую из 2 лунок, и после внесения образцов оставьте 1 лунку как бланк.
3. Внесите **50 мкл** конъюгата в каждую лунку (кроме лунки бланка).
4. Накройте микропланшет накрывателем для планшета и инкубируйте **60 минут при 37°C**.
5. Во время инкубации разбавьте концентрированный промывочный раствор 1:25.
6. Промойте вышеуказанным раствором 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. Накройте планшет новым накрывателем. Инкубируйте **15 минут при 37°C**.
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

Оценка результатов основывается на данных фотометрического считывания.

1. Аббревиации

N = средн. абсорбция отрицательных контролей

P = средн. абсорбция положительных контролей

S = абсорбция тестового образца

Настройте выбранную лунку как бланк, считайте абсорбцию других лунок.

2. Вычисление cut-off значения

Значение cut-off = 2,1xN

Если N меньше 0,05, тогда N = 0,05. Если N больше или равно 0,05, тогда N соответствует его фактическому значению.

3. Результат анализа

Тест положительный если $S \geq \text{cut-off}$ значения

Тест отрицательный если $S < \text{cut-off}$ значения

Проверка действительности процедуры анализа:

Процедура анализа действительна только если $N < 0.1$ и $P > 1.0$.

Интерпретация результатов скринингового теста

Отрицательный результат означает, что проверенный образец или не содержит никакого HBsAg, или содержит HBsAg ниже предела обнаружения HBsAg. Положительный результат означает, что образец содержит или HBsAg или неспецифически реагирующий фактор. Как и с другими иммуноанализами, могут происходить случайные ошибочно положительные реакции, которые в большинстве случаев не повторяются. Поэтому рекомендуется повторно проверить все образцы, предоставляющие изначально положительный результат. Только повторный положительный результат следует считать реактивным к HBsAg.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «**ДИАМЕБ**»

Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Тел/факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.com

www.diameb.com