



Набор для определения антител к HbcAb

Кат. номер : 1704-12
Количество : 96
Производитель : DAI (USA)

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

Методика 10/02

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор используется для определения антител к HbcAg.

ВВЕДЕНИЕ

Анти-HbcAg (HbcAb) является качественным иммуноферментным анализом для определения общего антитела к ядерному антигену вируса гепатита В (Hbc) в человеческой сыворотке или плазме. Данный анализ основывается на конкуренции, является высоко специфическим при простой и быстрой процедуре, с использованием образцов разбавленной сыворотки или плазмы.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Анти-Hbc антитело тест является конкурентным иммуноферментным анализом, в котором анти-Hbc антитела образцов конкурируют с неизменным количеством анти-Hbc антитела конъюгированного пероксидазой хрена за ограниченное число рекомбинанта HbcAg, привитого к ячейкам микропланшета вместе с поликлональными антителами против HbcAg.

Анализ для определения анти-Hbc антитела был описан Гуфнейглом в 1973 г. Результаты теста используются как индикатор при мониторинге прогрессивной вирусной инфекции гепатита В. Анти-Hbc обнаружен в сыворотке после появления поверхностного антигена гепатита В (HbsAg) при острой форме гепатита В и удерживается после исчезновения HbsAg и до появления определяемого антитела к HbsAg. Поэтому определение антитела к HbcAg в сыворотке или плазме может использоваться для целей диагностики предварительной вирусной инфекции гепатита В.

Ячейки микропланшета покрыты поликлональными антителами против HbcAg и HbsAg. Образцы сыворотки добавляются в ячейки микропланшета с HRP конъюгированным анти-Hbc антителом. После инкубации, анти-Hbc антитела в образце конкурируют с неизменным количеством HRP-конъюгированным анти-Hbc за ограниченное количество HbcAg в ячейках. Несвязанный энзимный конъюгат вымывается и добавляется раствор хромогена субстрата,

содержащий перекись водорода в ячейки для развития окраса. Таким образом, количество HRP-конъюгированных анти-Hbc привязывается к ячейкам в образце. Используя микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм, определяется абсорбция контролей и образцов

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ.

1. **Покрытый планшет:** один микропланшет с 96 ячейками с рекомбинантом HbcAg.
2. **Отрицательный контроль:** Один флакон **1,0 мл** анти-Hbc отрицательного контроля.
3. **Положительный контроль:** один флакон **1,0 мл** содержащий человеческое анти-Hbc антитело.
4. **Энзимный конъюгат:** одна бутылка **5 мл**, содержащая HRP-конъюгированное-анти-Hbc для 96 тестов
5. **Концентрат моющего буфера (25X):** Одна бутылка **40 мл** для 96 тестов. Буфер следует разбавить 25 кратно дистиллированной водой перед использованием.
6. **Раствор ТМВ:** Одна бутылка **10 мл** раствора ТМВ для 96 тестов.
7. **Стоп раствор:** Одна бутылка, **5 мл**.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Точные пипетки: 0,02, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 и 1,0 мл
2. Сменные наконечники к пипеткам
3. Дистиллированная вода
4. Увлажняющий бокс, способностью поддержания 37⁰С
5. Абсорбирующая бумага.
6. Промыватель микропланшета или ячеек стрипа.
7. Микропланшетный ридер
8. Раствор хлорида натрия 0,85 %

МЕРЫ ПРЕДУСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики «in vitro».
2. Не используйте набор после окончания срока пригодности.
3. Не смешивайте компоненты набора разных лотов.
4. Избегайте микробиологического загрязнения.
5. Не пипетируйте ртом, не ешьте и не пейте во время использования реагентов.
6. Используйте перчатки во время анализа и избегайте пролива реагентов.
7. Промойте в случае пролива 5% раствором хлорида натрия.
8. Все жидкие и твердые отходы следует обеззараживать перед их выбрасыванием.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотка должна быть приготовлена с образцов цельной крови, полученной применимой мед. технологией. И сыворотка, и плазма может быть использована в этом тесте. Получите сыворотку или плазму со сгустков или кровяных клеток как можно быстрее для предупреждения гемолиза. Образцы с избытком частиц должны быть очищены центрифугированием до начала анализа. Могут использоваться образцы при замораживании до -20⁰С или ниже. Избегайте повторных циклов замораживания – размораживания.

ХРАНЕНИЯ НАБОРА

Невскрытый набор следует хранить при 2-8⁰С, а микропланшет следует хранить в запечатанном пакете для минимизирования попадания влажного воздуха. Используйте реагенты по возможности как можно быстрее после вскрытия набора.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приведите все реагенты к комнатной температуре перед использованием.
2. Внесите 50 мкл образцов или контроля в каждую ячейку. Оставьте один бланк как основной контроль.
 Ячейка А1: Основа
 Ячейка В1: Отрицательный контроль
 Ячейка С1: Отрицательный контроль
 Ячейка D1: Отрицательный контроль
 Ячейка Е1: Положительный контроль
 Ячейка F1: Положительный контроль
 Ячейка G1: Положительный контроль
3. Добавьте 50 мкл ферментного конъюгата в каждую ячейку, кроме ячейки бланка. Тщательно перемешайте.
4. Поместите микропланшет в увлажняющий бокс и инкубируйте при 37⁰С 60 мин.
5. Промойте каждую ячейку 6 раз наполнением каждой ячейки разбавленным моющим буфером, потом быстро переверните планшет для удаления жидкости и накрывая края ячейки абсорбирующей бумагой на несколько секунд.
6. Добавьте 100 мкл ТМВ раствора в каждую ячейку. Тщательно перемешайте и инкубируйте при 37⁰С 15 мин.
7. Добавьте 50 мкл стоп раствора в каждую ячейку, чтобы остановить реакцию окрашивания. Проверьте планшетный ридер относительно ячейки бланка и затем считайте значение ОП для всех образцов при 450 нм и 630 нм как установленная длина волны (по возможности).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**Вычисление величины исключения:**

Присутствие или отсутствие HbсAb антител определяется сравнением значений абсорбции образца со значением величины исключения. Значения величины исключения как описано ниже:

NCM= Среднее отрицательного контроля

PCM= Среднее положительного контроля

В= Основа

CV= Значение величины исключения

Вычислите среднюю абсорбцию отрицательного и положительного контролей при ОП₄₅₀

NCM= (A₄₅₀(B1) + A₄₅₀(C1) + A₄₅₀(D1))/3-В

PCM= (A₄₅₀(E1) + A₄₅₀(F1) + A₄₅₀(G1))/3-В

Вычислите величину исключения:

CV=0,4*NCM+0,6*PCM

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. **Положительный:** Образцы со значениями абсорбции меньше чем значение величины исключения рассматриваются как положительные к HbсAb за критериями теста

2. **Отрицательный:** Образцы со значениями равными или выше чем величина исключения рассматриваются как отрицательные к HbсAb.

Образцы со значениями абсорбции в границах 10% значения величины исключения необходимо повторно тестировать для подтверждения начальных тестовых результатов.

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

1. Данный набор ограничивается определением антител против HbсAg в сыворотке или плазме.
2. Как и другие чувствительные иммуноферментные тесты, этот может дать неверные результаты, поэтому нужно тщательно проводить процедуру аспирации или удалять содержимое ячеек полностью перед добавлением моющего раствора.
3. Клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста. Необходима полная физическая оценка для конечного диагноза.

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