



Набор для качественного определения капсульного (e) антигена гепатита В (HBeAg) в человеческой сыворотке или плазме

Кат. номер : 137-E-HEB-1P
Количество : 96
Производитель: Dima Diagnostika (Германия)

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

Методика от 11-2005

НАЗНАЧЕНИЕ

1. Для скрининга доноров крови
2. Для мониторинга за лицами с более чем обычным риском контакта с гепатитом, например, пациентов, техперсонала или медсестер в заведениях почечного диализа или клинических лабораториях.
3. Как метод диагноза болезней печени.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Данный тест является ферментным иммуноанализом, основанный на «сэндвич»-принципе.
анти-HBe—HBeAg—(анти-HBe)-HRP+Субстрат

антитело	положительный	ферменто-меченное
твердой фазы	образец	антитело

Полистирольные микротитрационные полосочные лунки покрыты поликлональным (антителом к HBeAg), который имеет в себе антитело твердой фазы. Тестовый образец инкубируется в такой лунке; если образец содержит HBeAg свяжется с антителом твердой фазы. Затем добавляется моноклональный анти-HBe. Который мечен ферментом пероксидазы хрена (HRP). При положительной реакции это меченное антитело связывается с любым предварительно сформировавшимся комплексом твердой фазы антитело/ HBeAg. Инкубация со субстратом фермента формирует в тестовой лунке голубой окрас, который становится желтым, когда реакция останавливается серной кислотой. Если образец не содержит HBeAg, меченное антитело не может связываться специфически и образуется только слабый фоновый цвет.

Представление

В наличии реагенты для 96 тестов (включая образцы и контроли), которые четко видны; все компоненты мечены специфическим для набора красным цветом.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

1. **Микрокапсульные стрипы:** 1 планшет (96 тестов), 12 8-луночных полосок/планшет. Каждая лунка планшета покрыта поликлональным анти-HBe и запечатана в алюминиевом мешке с силикагелевым пакетом как осушителем.
2. **Конъюгат:** 1 фл./6,2 мл (анти-HBe, меченный пероксидазой хрена).
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 H₂SO₄).
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.
3. Одноразовые наконечники для пипеток.
4. Таймер.
5. Микропланшетный миксер.
6. Инкубатор (37°C).

7. Автоматический микропланшетный промыватель (настоятельно рекомендуется).
8. Микропланшетный считыватель с фильтром 450 нм и 630 нм.
9. Перчатки.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ по БЕЗОПАСНОСТИ

Положительный контроль содержит HBsAg и HBeAg. Используйте в перчатках. Отрицательный контроль получен из человеческой донорской крови, которые индивидуально проверены на HBsAg и HBeAg. также как и на антитело к ВИЧ надежными методами и показали отрицательный результат. Поскольку никакой метод анализа не может предоставить полную гарантию отсутствия носителей инфекций, все образцы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные и обрабатываться в перчатках.

ТМВ раствор содержит диметилсульфоксид, раздражитель для кожи и слизистых.

(Избегайте вдыхания испарений)

Избавьтесь от всех использованных в анализе образцов и материалов, как будто они содержали возбудители инфекции. Держатели полосок и оборудование после использования должны дезинфицироваться, например, глутаральдегидом 2%, pH 7.5-8.0.

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, указанного на коробке. Алюминиевую сумку перед открытием нужно привести к температуре окружающей среды, чтобы предотвратить конденсацию на полосках. Неиспользованные полоски 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.

ЗАБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Сыворотка или плазма во время анализа не должны быть заражены микробиологически.
2. Не следует добавлять азид натрия (NaN₃) к образцам как консервант.
3. Добавки (кроме гентамицина сульфата или проклина) и повторное замораживание и размораживание могут дать ошибочные результаты.
4. Осадки, сгустки и клетки крови могут привести к ошибочному положительным результатам. Таким образом неразстворимый материал необходимо удалить из образцов путем центрифугирования перед тестированием.

ПРИМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. В одной процедуре не меняйте ELISA 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 1 раз.
5. Во избежание загрязнения, не касайтесь краев лунок пипеткой при внесении конъюгата субстрата.
6. Во избежание загрязнения, не касайтесь верхнего края полосок пальцами.
7. Все этапы пипетирования должны исполняться с крайней осторожностью.
8. Проверьте нет ли воздушных пузырей в лунках после всех этапов пипетирования. При их наличии, удалите, например, легким похлопыванием.
9. Для растворов, содержащие ТМВ и/или гидропероксид не допускать контакта с металлами или ионами металла, поскольку это может привести к нежелательному цветообразованию.
10. 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.

РЕКОМЕНДАЦИИ по ПРОМЫВКЕ

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 раствор 1:25 дистиллированной водой.
2. Перед использованием дайте всем тестовым образцам, контролям, конъюгату, разбавленному промывочному раствору, субстрату и алюминиевому пакету, содержащему микропланшет и флакону с ТМВ достичь температуры окружающей среды

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 микропланшете.
2. Внесите **50 мкл** каждого образца в лунки (оставьте **5 лунок** для контролей и бланка), после чего внесите **50 мкл** положительного контроля в каждую из двух лунок, и **50 мкл** отрицательного контроля в каждую из двух лунок и оставьте **1 лунку** как бланк.
3. Внесите **50 мкл** конъюгата в каждую лунку (кроме лунки бланка).
4. Накройте микропланшет накрывателем для планшета и инкубируйте **30 минут при 37°C**.
5. В процессе инкубации разбавьте концентрированный промывочный раствор 1:25.
6. Промойте каждую лунку раствором **5 раз** (см. процедуру промывки).
7. Внесите **50 мкл** субстрата каждую лунку, включая лунку **бланка**.
8. Внесите **50 мкл** ТМВ в каждую лунку, включая **бланк**.
9. Накройте планшет новым накрывателем. Инкубируйте **15 минут при 37°C** инкубатора.
10. Остановите реакцию путем внесения **50 мкл** стоп раствора в каждую лунку (включая лунку бланка) и полностью перемешайте.
11. Фотометрическое считывание: положите микропланшет в микропланшетный считыватель и проведите считывание (в течении 10 минут после этапа 10) абсорбции раствора в лунках при **450 нм** и **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

Установите лунку бланка Вы выбрали как бланк, считайте абсорбцию других лунок.

2. Вычисление cut-off значения

Значение cut-off = $2,1 \times N$

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 если только $N < 0.1$ и $P > 1.0$.

Интерпретация результатов скринингового теста

Отрицательный результат означает, что проверенный образец либо не содержит НВвАg, или содержит НВвАg ниже предела обнаружения D_{lma} НВвАg. Положительный результат означает, что проанализированный образец содержит либо НВвАg или неспецифически реагирующий фактор. Как и в других иммунологических анализах, могут происходить случайные ошибочные положительные реакции, которые в большинстве случаев не повторяются. Поэтому рекомендуется проводить повторный анализ всех образцов, короторые вначале продемонстрировали положительный результат. Только повторный положительный результат должен рассматриваться реактивным к НВвАg.

Информация для заказа:

ЧМП «ДИАМЕБ»

ул. Черновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005

Тел.: (0342) 775122

Факс: (0342) 775612

E-mail: info@diameb.com

www.diameb.com