

TRADUCERE



Citiți cu atenție instrucțiunile de utilizare înainte de testare. Urmăți instrucțiunile și nu le modificați. Rezultatele eronate pot fi evitate și performanța optimă a setului ELISA AiD™ HBsAg poate fi obținută doar urmând instrucțiunile cu deosebită strictețe.

DESTINAȚIA

ELISA AiD™ HBsAg este un set de diagnosticare imunoenzimatic a detecției calitative *in vitro* a HBsAg în ser sau plasma umană.

SUMAR

Virusul hepatitei B (HBV) este un virus ADN dublu helicant cu înveliș ce aparține familiei Hepadnaviridae și este cunoscut ca fiind cauza majoră a hepatitei transmisibile prin sânge, împreună cu virusul hepatitei C (HCV). Infectarea cu HBV induce un spectru de manifestări clinice, începând cu boli moderate, neaparente, la hepatita fulminantă, boli cronice de ficat, care în unele cazuri pot duce la ciroză și carcinom de ficat. Clasificarea infecției cu hepatita B necesită identificarea unui număr de markeri serologici ce se manifestă în decursul a trei faze de infectare (de incubare, de acutizare și de convalescență). În prezent se folosesc mai multe tipuri de teste de diagnosticare pentru screening, diagnosticarea și gestionarea bolii. Antigena de suprafață a hepatitei B sau HBsAg, numită până acum *antigena australia*, este una dintre cele mai importante proteine ale învelișului hepatitei virale B. Antigena de suprafață conține determinantul „a”, comun tuturor subtipurilor virale cunoscute și împărțite imunologic în două subgrupe diferite (ay și ad). HBV are 10 subtipuri mari și 4 subtipuri HBsAg au fost recunoscute (adw, ady, ayw și ayr). HBsAg poate fi detectat de la 2 la 4 săptămâni înainte ca nivelele ATL să devină anormale și de la 3 la 5 săptămâni înainte ca să se dezvolte simptomele. Detectarea serologică a HBsAg este o metodă efektivă pentru diagnosticarea și prevenirea infecției HBV, iar ELISA a devenit un sistem analitic de screening al donatorilor de sânge și al diagnosticării clinice a HBV la indivizii infectați, folosit pe larg.

PRINCIPIUL DE TESTARE

Acest set ELISA AiDTM HBsAg folosește metoda *sandwich*, pentru detectarea HBsAg, în care stripurile din polistiren sunt acoperite anterior cu anticorpi monoclonali specifici pentru HBsAg. Se adaugă în godeu proba de plasmă sau ser al pacientului. Pe durata incubării, imunocomplexul specific format în cazul prezenței HBsAg în probă, este capturat în faza solidă. Apoi este adăugat al doilea anticorp conjugat cu enzima peroxidazei de hrean (HRP-conjugat)

îndreptați spre un alt epitop al HBsAg. Pe durata celui de-al doilea pas de incubare, anticorpii HRP-conjugat se vor lega de orice complex anti-HBs-HBsAg format anterior pe durata celei dintâi incubări, iar HRP-conjugat nelegat este apoi înlăturat prin spălare. Soluția de cromogen ce conține tetrametilbenzidină (TMB) și peroxid de uree este adăugată godeurilor. În prezența complexului imunologic (HRP) *sandwich* anticorp-antigen-anticorp, soluțiile de cromogen incolore sunt hidrolizate cu conjugatul HRP legat cu produsul colorat albastru. Culoarea albastră se schimbă în galben după stoparea reacției cu acidul sulfuric. Intensitatea culorii poate fi măsurată și este proporțională cu cantitatea de antigen capturat în godeuri, și respectiv cu proba. Godeurile ce conțin probe negative față de HBsAg rămân incolore.

IVD DOAR pentru diagnosticare IN VITRO

Acest set conține reagenți suficienți pentru testarea a maximum 91 probe la o testare.

UUU | PLATE

Cod 5 (1x96 godeuri)
8x12/12x8-godeuri per placă

PLACĂ CU MICROGODEURI: Stripuri blanc ale microgodeurilor fixate pe un suport alb de stripuri. Placa este sigilată în punga de aluminiu cu desicant. Fiecare godeu conține anticorpi monoclonali reactivi față de HBsAg (anti-HBs). Stripurile godeurilor pot fi detașate pentru a se folosi separat. Depozitați godeurile sau stripurile nefolosite la 2~8°C într-o pungă de plastic împreună cu desicantul și sigilați-o. Odată ce ați deschis ambalajul, placa e stabilă o lună la 2~8°C.

CONTROL | -

Cod 8 (1x1ml per fiolă)
Conserv. 0.1%ProClin™ 300

CONTROL NEGATIV: Lichid gălbui în fiolă cu capac verde filetat. Soluție tampon protein-stabilizată testată, fiind nereactivă față de HBsAg. Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis, stabil timp de o lună la 2-8°C.

CONTROL | +

Cod 7 (1x1ml per fiolă)
Conserv. 0.1%ProClin™ 300

CONTROL POZITIV: Lichid de culoare roșie în fiolă cu capac roșu filetat. Diluați HBsAg în soluție tampon protein-stabilizată. Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis, stabil timp de o lună la 2-8°C.

Ab | HRP

Cod 6 (1x6ml per fiolă)
Conserv. 0.1%ProClin™ 300

CALIBRATOR: Pentru fiecare lot de reagenți va fi oferit calibrator cu concentrația 0.5 IU/ml.

DIL | SPE

Cod 9 (1x5ml per fiolă)
Conserv. 0.1%ProClin™ 300

HRP-CONJUGAT: Lichid de culoare roșie în fiolă albă cu capac roșu filetat. Peroxidază de hrean conjugat cu anticorpi anti-HBs. Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis, stabil timp de o lună la 2-8°C. **DILUANTUL PROBEI:** Lichid de culoare verde în fiolă albă cu capac albastru filetat. Soluție serică, cazeină, sucroză.

WASH | BUF | 20X

Cod 1 (1x30ml per flacon)
DILUAȚI ÎNAINTE DE FOLOSIRE!
detergent Tween-20

SOLUȚIE TAMPON DE SPĂLARE: Lichid incolor în flacon incolor cu capac alb filetat. PH 7.4, 20 × PBS. Înainte de utilizare, concentratul trebuie diluat 1 la 20 cu apă distilată sau deionizat. Odată diluată, soluția e stabilă 1 săptămână la temperatura camerei sau 2 săptămâni la 2-8°C.

CHROM | SOL | A

Cod 2 (1x6ml per fiolă)

SOLUȚIE DE CROMOGEN A: Lichid incolor în fiolă albă cu capac verde filetat. Soluție peroxid de uree. Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis, stabil timp de o lună la 2-8°C.

CHROM | SOL | B

Cod 3 (1x6ml per fiolă)

SOLUȚIE DE CROMOGEN B: Lichid incolor în fiolă neagră cu capac negru filetat. Soluție TMB (Tetrametilbenzidina dizolvată în acid citric). Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis e stabil timp de o lună la 2-8°C.

STOP | SOL

Cod 4 (1x6ml per fiolă)

SOLUȚIE DE STOPARE: Lichid incolor în fiolă albă cu capac alb filetat. Soluție diluată de acid sulfuric (0.5M H₂SO₄). Gata de utilizare la furnizare. Odată deschis este stabil timp de o lună la 2-8°C.

- **PUNȘĂ DE PLASTIC CU SIGILIU:** Pentru păstrarea stripurilor nefolosite. 1 unitate
- **INSTRUCȚIUNE DE UTILIZARE** 1 copie
- **ACOPERĂMÂNT LAMINAT AL PLĂCII (pelicula de acoperire)** 3 unități

Pentru acoperirea plăcilor în timpul incubăției și prevenirii plăcii de evaporare sau contaminare.

MATERIALE NECESARE DAR NEAPROVIZIONATE

Apă proaspăt distilată sau deionizată; cronometru și mănuși de unică folosință; recipiente pentru deșeuri corespunzătoare pentru materiale potențial contaminate; sistem de dozare și/sau pipetare, vârfuri de pipetă de unică folosință; șervețel absorbant sau uscat; incubare uscată sau la baie de apă, 37±0.5°C; cititor al plăcii cu microgodeuri, cu o lungime de undă 450nm sau dublă 450nm și 630nm; sistem de aspirare/spălare al microgodeurilor.

RECOLTAREA PROBELOR, TRANSPORTAREA ȘI DEPOZITAREA

1. **Recoltarea probelor:** Nu este necesară o pregătire specială a pacientului. Recoltați proba conform procedurilor normale a practicii de laborator. Pentru această testare pot fi folosite probe proaspete de ser sau plasmă. Sângele recoltat prin venipunctură trebuie lăsat să se coaguleze natural și complet - serul/plasma trebuie separate de cheaguri cât mai curând posibil, pentru a evita hemoliza RBC. Asigurați-vă ca probele de ser să fie limpede și să nu fie contaminate cu microorganisme. Orice particule suspendate vizibile în probă trebuie înlăturate prin centrifugarea la 3000 RPM timp de 20 minute la temperatura camerei, sau prin folosirea filtrelor.
2. Probele de plasmă recoltate în EDTA, citrat de sodiu sau heparină pot fi supuse testării, **însă nu și probele intens icterice, lipemice sau hemolizate**, pe cât acestea pot oferi rezultate eronate. **Nu încălziți probele inactive**, aceasta poate duce la deteriorarea analitului țintă. Nu folosiți în nici un caz probele cu contaminarea vizibilă de microbi.
3. Setul ELISA AiD™ HBsAg este destinat DOAR testării probelor individuale de ser sau plasmă. Nu-l folosiți pentru testarea probelor de salivă, urină, probă combinată de sânge sau alte fluide de la cadavre.
4. **Transportarea și depozitarea:** Depozitați probele la 2-8°C. Probele care nu necesită testare în mai puțin de 3 zile, trebuie depozitate congelate (-20°C sau mai puțin). Evitați ciclurile de congelare-decongelare repetată. Pentru transportare, probele trebuiesc ambalate și etichetate conform reglementărilor locale și internaționale în vigoare despre transportul probelor clinice și agenților etiologici.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Componenții setului vor rămâne stabili până la termenul de valabilitate indicat pe etichetă și ambalaj, fiind păstrați la 2-8°C; nu congelați. Pentru a asigura o performanță maximă a setului ELISA AiD™ HBsAg, protejați reagenții de contaminare cu microorganisme sau substanțe chimice pe durata de depozitare.

PRECAUȚII ȘI SIGURANȚĂ

DOAR PENTRU UZ PROFESIONAL

Setul ELISA este o metodă cu sensibilitate la timp și temperatură. Pentru a evita rezultate incorecte, **urmați cu strictețe pașii procedurii de testare și nu îi schimbați.**

1. Nu schimbați reagenții din diferite loturi și nu folosiți reagenți din alte seturi comerciale disponibile. Componentele setului corespund în exactitate, asigurând o performanță optimă pe durata testării.
2. Asigurați-vă ca toți reagenții să corespundă termenului de valabilitate indicat pe cutia setului și sunt din același lot. Nu folosiți niciodată reagenți cu termenul de valabilitate expirat.
3. **ATENȚIE – PAS CRITIC:** Lăsați reagenții și probele să revină la temperatura camerei (18-30°C) înainte de a fi folosite. Amestecați cu grijă reagentul înainte de utilizare și imediat după aceasta depozitați-i la temperatura de 2-8°C.
4. Folosiți doar volum deajuns de probă, după cum e indicat în pașii procedurii de testare. Eșuarea poate cauza sensibilitate slabă a testării.
5. Nu atingeți fundul exterior al godeurilor; urmele degetelor sau zgârieturile pot interfera citirii microplăcii. La citirea rezultatelor asigurați-vă ca fundul plăcii să fie uscat și să nu existe bule de aer în godeuri.
6. Nu permiteți niciodată godeurilor microplăcii să se usuce după efectuarea pașilor de spălare. Treceți imediat la următorul pas. Evitați formarea bulelor de aer la adăugarea reagentului.
7. Evitați întreruperile de lungă durată între pașii de testare. Asigurați-vă să fie aceleași condiții de lucru pentru toate godeurile.
8. Calibrați frecvent pipeta pentru a asigura exactitatea de pipetare a probelor/reagenților. Folosiți de fiecare dată vârfuri de pipete de unică folosință pentru fiecare probă și reagenți, pentru a evita contaminarea încrucișată.
9. Asigurați-vă ca temperatura în interiorul incubatorului să fie de 37°C.
10. La adăugarea probelor, evitați atingerea fundului godeurilor cu vârful pipetei.
11. La citirea rezultatelor cu cititorul plăcii, se recomandă determinarea absorbției la 450nm sau la 450nm cu referință la 630nm.
12. Activitatea enzimatică a HRP-conjugat poate fi afectată de praf, soluțiile chimice reactive și substanțe ca hipoclorit de sodiu, acizi, substanțe alcaline, etc. Nu efectuați testul în prezența substanțelor de acest gen.
13. La folosirea sistemului complet automat de procesare al microplăcii, nu acoperiți plăcile cu placa de acoperire. Înlăturarea reziduurilor rămase în placă după spălare prin lovirea ușoară a acesteia, de asemenea poate fi omisă.
14. Toate probele de origine umană trebuie considerate ca și fiind potențial infecțioase. Urmarea cu strictețe a reglementărilor GLP (Buna Practică de Laborator) asigură siguranța personală.
15. **ATENȚIE:** Materialele de origine umană puteau fi folosite la pregătirea controalelor negative din set. Aceste materiale au fost testate cu seturile de testare la performanțele acceptate și au fost găsite a fi negative pentru anticorpii HIV 1/2, HCV, TP și HBsAg. Cu toate acestea, nu există vreo metodă analitică care să asigure lipsa completă a agenților patogeni în probe sau reagenți. Prin urmare, lucrați reagenții și probele cu precauție, ca și fiind capabile de a transmite boli infecțioase. Au fost folosite derivate serice de la bovine pentru stabilizarea controalelor pozitive și negative. Albumina serică bovină (BSA) și ser fetal de vițel (FCS) sunt derivate de la animale din zone geografice cu BSE/TSE (encefalopatii spongiforme bovine/ transmisibile) neatestate.

16. Niciodată nu mâncați, beți, fumați sau aplicați produse cosmetice în laboratorul de testare. Nu pipetați soluțiile cu gura.
17. Soluțiile chimice trebuie tratate și aruncate doar în conformitate cu reglementările GLP (Buna Practică de Laborator) și cele locale în vigoare.
18. Vârfurile de pipete, fiolele, stripurile și recipientele probelor trebuie colectate și autoclavate nu mai puțin de 2 ore la 121°C, sau tratate cu soluție hipoclorit de sodiu de 10% timp de 30 min pentru a le decontamina înaintea pașilor ulteriori de folosire. NICIODATĂ nu supuneți soluțiile ce conțin hipoclorit de sodiu autoclavării. Fișa tehnică de securitate a materialelor (MSDS) este disponibilă la cerere.
19. Unii reagenți pot cauza toxicitate, iritare, arsuri, sau pot avea efecte cancerogene în calitate de materiale neprelucrate. Contactul cu pielea și mucoasele trebuie evitat, dar nu și limitat cu următorii reagenți: soluție de stopare, soluțiile de cromogen și soluțiile tampon de spălare.
20. Soluția de stopare 0.5M H₂SO₄ este un acid. Folosiți-o cu grijă sporită. Ștergeți imediat picăturile de soluție vărsată sau spălați cu apă dacă aceasta a intrat în contact cu pielea sau ochii.
21. ProClin™ 300 de 0.1% folosit în calitate de conservant, poate cauza sensibilitatea pielii. Ștergeți imediat picăturile de soluție vărsată sau spălați cu apă dacă aceasta a intrat în contact cu pielea sau ochii.

INDICATOARELE DE INSTABILITATE SAU DETERIORARE A REAGENȚILOR: Valorile controalelor Pozitive sau Negative, care nu se încadrează în diapazonul controlului de calitate specificat, indică la posibila deteriorare a reagenților și/sau erorile efectuate de către operator, sau erorile echipamentului. În astfel de cazuri, rezultatele trebuie considerate nevalide și probele trebuie retestate. În cazuri constante a rezultatelor eronate, menționate în rubrica din motivul deteriorării sau instabilității reagenților, înlocuiți imediat reagenții cu unii noi, sau contactați suportul tehnic pentru asistența ulterioară.



ProClin™ 300
Expresii S: S26-28-36/37/39-45-60-61
Expresii R: 43



Nu mâncați și nu beți în laborator.



Purtați haine protectoare. Purtați protecție pentru ochi.



Atenție: Pericol biologic!

PROCEDURILE DE TESTARE

Pregătirea reagenților: Aduceți reagenții la temperatura camerei (18-30°C). Verificați soluția tampon de spălare de formarea cristalelor de săruri. Dacă acestea s-au format, resolubilizați prin încălzirea la 37°C până la dizolvarea cristalelor. Diluați soluția tampon concentrat de spălare (20X) conform instrucțiunilor de spălare. Folosiți apă distilată sau deionizată și doar recipiente curate la diluarea soluției tampon. Ceilalți reagenți sunt **GATA DE UTILIZARE LA FURNIZARE.**

- Pasul 1 Pregătirea:** Marcați trei godeuri ca fiind controale Negative (**ex. B1, C1, D1**), două ca fiind controale Pozitive (**ex. E1, F1**) și un Blanc (**ex. A1**, nu trebuie adăugate în godeurile blanc nici probele, nici HRP-conjugat). În cazul în care rezultatul va fi determinat folosind cititor al plăcii cu lungime de undă dublă, cerința folosirii godeurilor blanc poate fi omisă. Folosiți doar numărul de stripuri necesare pentru testare.
- Pasul 2 Adăugarea diluentului:** Adăugați **20μl** probă diluantă în fiecare godeu, cu excepția celui Blanc.
- Pasul 3 Adăugarea probei:** Adăugați **100μl** de control Pozitiv, control Negativ și Probe în godeurile respective, cu excepția celui blanc. **Notă: Folosiți un vârf de pipetă separat pentru fiecare probă, control pozitiv și negativ, pentru a evita contaminarea încrucișată. Amestecați lovind ușor placa.**
- Pasul 4 Incubarea:** Acoperiți placa cu pelicula de acoperire și incubați timp de **60 minute la 37°C.**
- Pasul 5 Adăugarea HRP-conjugatului:** La sfârșitul incubării, înlăturați și aruncați pelicula de acoperire a plăcii. Adăugați **50μl** de reagent HRP-conjugat în fiecare godeu cu excepția celui blanc și amestecați lovind ușor placa.
- Pasul 6 Incubarea:** Acoperiți placa și incubați timp de **60 minute la 37°C.**
- Pasul 7 Spălarea:** Înlăturați și aruncați pelicula de acoperire a plăcii. Spălați fiecare godeu de **5 ori** cu soluție tampon diluată de spălare. Înainte de fiecare etapa de spalare lasa-ti microplacile sa se inmoaie timp de 30 – 60 sec. După ultimul ciclu de spălare, întoarceți placa cu fundul în sus pe hirtie de filtru sau șervețel curat și loviți ușor pentru a înlătura orice lichide rămase.
- Pasul 8 Colorarea:** Adăugați **50 μl** soluție de cromogen A și **50 μl** soluție de cromogen B în fiecare godeu, inclusiv cel Blanc. Incubați placa la **37°C timp de 30 min evitând lumina.** Reacția enzimatică dintre soluțiile de cromogen și HRP-conjugat vor produce o culoare albastră în godeurile cu control Pozitiv și cu Probe HBsAg pozitive.
- Pasul 9 Reacție de stopare:** Folosind pipete multicanal sau manual adăugați **50 μl** soluție de stopare în fiecare godeu și amestecați cu grijă. Se va forma un galben intens în godeurile cu control Pozitiv și cu Probe HBsAg pozitive.
- Pasul 10 Măsurarea absorbției:** Calibrați cititorul pentru microplăci cu godeul Blanc și citiți absorbția la **450 nm.** Dacă este folosit aparatul cu sistemul de filtrare dublu, setați lungimea de undă de referință la **630 nm.** Calculați valoarea Cut-off și evaluați rezultatele. (**Notă:** citiți absorbția în decurs de **10 minute** după stoparea reacției).

INSTRUCȚIUNI PENTRU SPĂLARE

1. Este esențială o procedură reușită de spălare pentru a obține datele analitice corecte și precise.
2. Prin urmare se recomandă de a folosi un sistem de spălare al microplăcii ELISA de calitate, păstrând cel mai bun nivel de performanță al spălării. În general, este nevoie de nu mai puțin de **5 cicluri** de spălare automată, cu dozare de 350-400μl/godeu, pentru a evita reacții fals pozitive și fundal de alertă.
3. Pentru a evita contaminarea încrucișată a plăcii cu probele sau HRP-conjugat, nu aruncați conținutul godeurilor după incubare, ci lăsați sistemul de spălare al microplăcii să aspire automat.

- Asigurați-vă că canalele pentru lichide ale sistemului de spălare al microplăcii nu sunt blocate sau contaminate și că de fiecare dată în godeuri este distribuit un volum suficient de soluție tampon de spălare.
- În cazul spălării manuale, recomandăm efectuarea a **5 cicluri** lucrute la 350-400 μl/godeu și aspirarea lichidului de **5 ori**. Dacă observați rezultate slabe (fundal de alertă), măriți numărul de cicluri de spălare sau timpul de uscare per godeu.
- Și totuși, lichidul aspirat din stripuri trebuie tratat cu soluție hipoclorit de sodiu (concentrat final de 2.5%) pentru 24 ore, înainte de a fi aruncat conform reglementărilor convenite.
- Soluția de spălare concentrată necesită diluare de **1 la 20** înainte de utilizare. Dacă se folosește mai puțin de o placă, pregătiți volumul proporțional de soluție.

CONTROLUL CALITĂȚII ȘI CALCULAREA REZULTATELOR

La calcularea și interpretarea rezultatelor testării, fiecare microplacă trebuie considerată aparte, indiferent de numărul de plăci procesate curent. Rezultatele sunt calculate comparând valoarea absorbției (A) a fiecărei probe cu valoarea Cut-off (CO) a plăcii. Dacă citirea Cut-off este bazată pe cititor al plăcii cu un singur filtru, rezultatele trebuie calculate prin extragerea valorii A a godeului blanc din raportul imprimat cu valorile probelor și a controalelor. În cazul în care citirea este bazată pe cititor al plăcii cu două filtre, nu extrageți valoarea A a blancului din rapoartele cu valorile probelor și a controalelor.

Calcularea valorii Cut-off (CO) = $Nc + 0.06$ (Nc = valoarea medie a absorbției pentru trei controale negative).

Controlul calității (validarea testării): Rezultatele testării sunt valide odată ce sunt îndeplinite cerințele controlului calității. Se recomandă ca fiecare laborator să-și stabilească un sistem corespunzător al controlului calității cu materiale ale controlului calității similare sau identice cu proba pacient analizată.

- Valoarea A al godeului blanc, ce conține doar soluțiile de cromogen și de stopare, este <0.080 la 450 nm.
- Valoarea A a controlului pozitiv trebuie să fie ≥ 0.800 la 450/630 nm sau la 450 nm, după efectuarea blancului.
- Valoarea A a controlului negativ trebuie să fie ≥ 0.100 la 450/630 nm sau la 450 nm, după efectuarea blancului.

Dacă una dintre valorile A a controlului negativ nu corespunde cerințelor controlului calității, aceasta trebuie eliminată și valoarea medie recalculată folosind cele două valori rămase. Dacă mai mult de o valoare A a controlului negativ nu corespunde specificațiilor controlului calității, testul nu e valid și trebuie retestat.

Exemplu:

1. Controlul calității

Valoarea A a godeului blanc: $A1=0.025$ la 450 nm (Notă: efectuarea blancului este necesară doar la citirea cu folosirea unui singur filtru la 450 nm)

Nr. godeurilor: **B1** **C1** **D1**
 Val. A a contr. negativ după blanc 0.020 0.012 0.016

Nr. godeurilor: **E1** **F1**
 Val. A a contr. pozitiv după blanc 2.421 2.369

Toate valorile controalelor se încadrează în diapazonul valorilor controlului calității specificate.

2. Calcularea Nc : = $(0.020+0.012+0.016) = 0.016$

3. Calcularea Cut-off (CO) = $0.016 + 0.06 = 0.076$

INTERPRETAREA REZULTATELOR

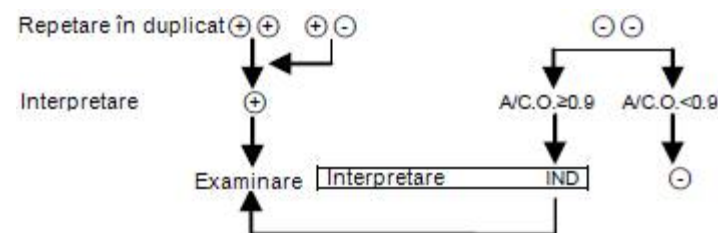
Rezultate negative ($A/CO < 1$): Probele ce redau o absorbție mai mică decât valoarea Cut-off sunt considerate a fi negative, ceea ce indică că nu a fost determinat antigenul de suprafață al hepatitei virale B folosind acest set ELISA AiD™ HBsAg. Prin urmare, pacientul probabil nu este infectat cu virusul HBV, proba de sânge nu conține antigenul de suprafață al hepatitei virale B și poate fi transfuzabil odată ce s-a dovedit a fi negativ și față de alți markeri ale bolilor infecțioase.

Rezultate pozitive ($A/CO \geq 1$): Probele ce redau o absorbție mai mică sau egală cu valoarea Cut-off sunt inițial reactive față de acest test, ceea ce indică faptul că a fost determinată probabilitatea prezenței antigenului de suprafață a hepatitei virale B cu setul de teste ELISA AiD™ HBsAg. Orice probe inițial reactive trebuie retestate în duplicat folosind acest set, înainte de interpretarea finală a rezultatelor. Probele reactive repetat pot fi considerate pozitive față de prezența antigenului de suprafață a hepatitei virale B la acest set.

Limitele ($A/CO = 0.9-1.1$): Probele cu absorbția valorilor Cut-off între 0.9 și 1.1 sunt considerate probele limite și se recomandă retestarea probelor în duplicat pentru confirmarea rezultatelor inițiale.

Este necesară examinarea, confirmarea și testarea auxiliară a tuturor probelor pozitive cu alte sisteme analitice (ex. PCR). Diagnoza clinică nu trebuie stabilită în baza unui singur rezultat de testare, ci să integreze și datele clinice și de laborator.

INTERPRETAREA ȘI EXAMINAREA REZULTATELOR INIȚIALE A TUTUROR PROBELOR LIMITE SAU INIȚIAL REACTIVE



IND = neinterpretabile

- În cazul în care după retestarea probelor inițial reactive ambele godeuri prezintă rezultate negative ($A/CO < 0.9$), aceste probe trebuie considerate ca și nerepetabile pozitiv (sau fals pozitive) și interpretate ca negative. Cât despre testările ELISA extrem de sensibile, rezultatele fals pozitive pot apărea din mai multe motive, majoritatea referindu-se, dar nu limitându-se doar la pașii de spălare inadecvați. Pentru mai multe informații referitoare la Rezolvarea problemelor setului ELISA Wantai, vă rugăm, consultați „Ghidul ELISA și Rezolvarea problemelor”.

- În cazul în care după testarea probelor în duplicat, unul sau ambele godeuri prezintă rezultate pozitive, rezultatul final al acestui test ELISA trebuie considerat ca și reactiv repetabil (pozitiv). Probele reactiv repetabile pot fi considerate pozitive față de prezența antigenului de suprafață a hepatitei virale B și prin urmare, pacientul probabil este infectat cu virusul HBV și probele de sânge trebuie aruncate.

- După testarea probelor în duplicat, probele cu valori apropiate de cele Cut-off trebuie interpretate cu prudență și considerate ca și probe din zone limite sau neinterpretabile în momentul testării.

CARACTERISTICILE DE PERFORMANȚĂ

Evaluarea cercetărilor efectuate în Institutul Paul-Ehrlich (PEI), Institutul german Crucea Roșie Baden-Württemberg-Hessen și trei bănci de sânge din China, au demonstrat următoarele caracteristici de performanță a testului ELISA AiD™ HBsAg.

Specificitatea: Fiind lucrată la donatori de sânge europeni (n=5038), specificitatea de diagnosticare totală a setului de testare a fost de 99.78%.

În urma evaluărilor din centrele de cercetare din China, setul ELISA AiD™ HBsAg a demonstrat o specificitate de 99.92%.

Laborator	Nr.	ELISA AiDTM HBsAg		
		-	+	Specificitatea
Banca de sânge Xiamen	1958	1955	3	99.85%
Banca de sânge Hubei	2518	2516	2	99.92%
Banca de sânge Zhejiang	6344	6340	4	99.94%
Total	10820	10811	9	99.92%

Sensibilitatea: Setul ELISA AiD™ HBsAg a fost evaluat la sensibilitate pe 22 paneele de seroconversie HBV disponibile și au fost obținute per total 403 rezultate pozitive la HBsAg, inclusiv 146 HBsAg cu genotip HBV și subtipul HBsAg probe plasma cu deținerea datelor de către Institutul Paul-Ehrlich. În ceea ce privește sensibilitatea de seroconversie, rezultatele pentru testul ELISA AiD™ HBsAg pe 22 paneele de seroconversie HBV au prezentat un nivel de sensibilitate cel puțin echivalent cu specificațiile sensibilității de seroconversie a testărilor de screening HBsAg curente marcate CE, cu deținerea datelor de către PEI. Au fost testate 10 paneele de seroconversie adiționale în laboratoarele interne. Sensibilitatea de seroconversie a fost comparată cu alte teste de screening HBsAg marcate CE. Referitor la sensibilitatea de diagnosticare, setul ELISA AiD™ HBsAg a determinat toate probele pozitive ca fiind pozitive, inclusiv genotipurile A-F HBV și subtipurile HBsAg examinate.

În concluzie, rezultatul total a setului ELISA AiD™ HBsAg pentru sensibilitatea de seroconversie a fost comparată cu alte seturi HBsAg marcate CE, cu deținerea datelor de către PEI și toate 403 probe pozitive HBsAg au fost reactive, generând un total de 100% sensibilitate.

Sensibilitatea analitică: 0.1IU/ml (NIBSC 00/588)

Specificitatea analitică: Nu a fost observată interferența cu probe ale pacienților cu un nivel înalt al factorului reumatoid și ale femeilor însărcinate. Au fost testate probe recoltate în aceeași zi și probe congelate, pentru a verifica interferența în urma recoltării și depozitării. A fost efectuat screeningul pentru HBsAg cu setul ELISA AiD™ HBsAg pentru un total de 100 probe reactive față de anti-HBc, anti-HCV și anti-HIV1. 98 probe din 100 au fost negative la HBsAg. De asemenea, au fost testate 200 probe de sânge cu setul ELISA AiD™ HBsAg. 191 din 200 probe au arătat rezultate negative la screening față de HBsAg. 8 probe din 9 cu rezultate screening inițial reactive, au arătat rezultate repetat reactive la setul ELISA AiD™ HBsAg, însă hepatita virală B nu a fost confirmată în nici unul din cazuri.

Determinarea mutațiilor: Un panel de 108 probe colectate de Universitatea Xiamen (Xiamen, China) urmate de PCR, au fost testate pentru a demonstra performanța setului ELISA AiD™ HBsAg la detectarea mutațiilor HBsAg. Rezultatele sunt afișate în tabelul de mai jos.

	Istoric	Număr	ELISA AiD™ HBsAg
adr (+)	Tip sălbatic	35	33
	4 mutații	5	4
adw (+)	Tip sălbatic	37	34
	16 mutații	25	24
ayw (+)	Tip sălbatic	2	2
	2 mutații	2	2
ayr (+)	2 mutații	2	2
	Total	108	101

Reproductibilitatea:

Reproductibilitatea Tipul probei	Nr. deter- minări	În limitele perioadei		De la perioadă la perioadă	
		OD Mediu	CV%	OD Mediu	CV%
0.1IU/ml HBsAg	10	0.155	10.6%	0.150	11.0%
Slab pozitivă	10	0.457	9.0%	0.432	9.5%
Moderat pozitivă	10	1.572	7.0%	1.437	7.5%
Înalt pozitivă	10	2.327	4.2%	2.302	4.4%
Control pozitiv	10	2.322	4.1%	2.315	4.2%

LIMITELE

1. Rezultatele pozitive trebuie confirmate cu un alt test disponibil și interpretate împreună cu informația clinică a pacientului.
2. Pe parcursul fazei incipiente a bolii, antigenele pot rămâne nedepistate. Prin urmare, rezultatele negative obținute cu setul ELISA AiD™ HBsAg, indică doar la faptul că probele nu conțin un nivel detectabil al antigenului de suprafață a hepatitei virale B și orice rezultate negative nu vor fi considerate ca evidențe concludive a faptului că individul sau proba de sânge nu este infectat cu HBV.
3. În cazul în care după retestarea probelor inițial reactive rezultatele testării sunt negative, aceste probe trebuie considerate ca și nerepetabile (fals pozitive) și interpretate ca negative. Cât despre testările ELISA extrem de sensibile, rezultatele fals pozitive pot apărea din mai multe motive, majoritatea referindu-se, dar nu limitându-se doar, la pașii de spălare inadecvați. Pentru mai multe informații referitoare la Rezolvarea problemelor setului ELISA Wantai, vă rugăm, consultați „Ghidul ELISA și Rezolvarea problemelor” sau luați legătura cu suportul tehnic pentru asistență ulterioară.
4. Motive frecvente de greșeli: seturi cu termen de valabilitate expirat, proceduri de spălare proaste, reagenți contaminați, pași de testare incorecți, aspirare insuficientă pe durata spălării, eșuare la adăugarea probelor sau a reagenților, operarea proastă cu echimamentul de laborator, erori de timp, folosirea probelor intens hemolizate sau ce conțin fibrină, probe de ser coagulate incomplet.
5. Frecvența markerului va afecta valorile predictive ale testării.
6. Acest test nu poate fi folosit pentru testarea probelor combinate de plasmă. Setul ELISA AiD™ HBsAg a fost evaluat doar cu probe individuale de ser sau plasmă.
7. Setul ELISA AiD™ HBsAg este un test calitativ și rezultatele acestuia nu pot fi folosite pentru a măsura concentrațiile antigenelor.

REFERINȚE

1. Stevens, C. E., P. E. Taylor, and M. J. Tong. 1988. Viral hepatitis and liver disease. Alan R. Riss, New York, N.Y. 142. Stevens, C. E., P. E. Taylor, M. J. Tong, P. T. Toy, G. N. Vyas, P. V. Nair.

- J. Y. Weissman, and S. Krugman. 1987. Yeast-recombinant hepatitis B vaccine. Efficacy with hepatitis B immune globulin in prevention of perinatal hepatitis B virus transmission. JAMA 257:2612–2616. 143. Stevens, C. E., P. T. Toy, P. E. Taylor, T. Lee, and H. Y. Yip. 1992. Prospects for control of hepatitis B virus infection: implications of childhood vaccination and long term protection. Pediatrics 90(Suppl.):170–173.
- Hurie, M. B., E. E. Mast, and J. P. Davis. 1992. Horizontal transmission of hepatitis B virus infection to U.S. born children of Hmong refugees. Pediatrics 89:269–273.
- Szmunes, W., C. E. Stevens, E. J. Harley, E. A. Zang, W. R. Olesko, D. C. Williams, R. Sadosky, J. M. Morrison, and A. Kellner. 1980. Hepatitis B vaccine: demonstration of efficacy in a controlled trial in a high risk population in the U.S. N. Engl. J. Med. 303:833–841.
- Bhatnagar, P. K., E. Papas, H. E. Blum, D. R. Milich, D. Nitecki, M. J. Karels, and G. N. Vyas. 1982. Immune response to synthetic peptide analogues of hepatitis B surface antigen specific for the a determinant. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:4400–4404.

Schema cu exemple de controale/probe de dozare										
	1	2	3	4	5	6	7	12
A	Blac	S3								
B	Neg.	...								
C	Neg	...								
D	Neg.									
E	Poz.									
F	Poz.									
G	S1									
H	S2									

SUMARUL COMPONENTILOR IMPORTANȚI AI SETULUI:

Folosiți acest sumar doar ca referință și mereu urmați instrucțiunile testării. Notă: componentii fiecărui set aparțin nu pot fi schimbați cu alte seturi.

1. Placa cu microgodeuri	Cod 5	Una
2. Control negativ	Cod 8	1x1 ml
3. Control pozitiv	Cod 7	1x1 ml
4. HRP-conjugat	Cod 6	1x6 ml
5. Diluantul probei	Cod 9	1x5 ml
6. Soluție tampon de spălare	Cod 1	1x30 ml
7. Soluție de cromogen A	Cod 2	1x6 ml
8. Soluție de cromogen B	Cod 3	1x6 ml
9. Soluție de stopare	Cod 4	1x6 ml

SUMARUL PROCEDURII DE TESTARE:

Folosiți acest sumar doar ca referință și mereu urmați instrucțiunile testării.

Adăugați diluantul probei	20 µl
Adăugați proba	100 µl
Incubați	60 minute
Adăugați HRP-conjugat	50 µl
Incubați	30 minute
Spălați	5 ori
Colorarea	50µl A + 50µl B
Incubați	30 minute
Stopați reacția	50µl soluție de stopare
Citiți absorbția	450 sau 450/630 nm

SIMBOLURILE CU MARCAJ CE:

	Dispozitiv medical de diagnosticare <i>in vitro</i>		Condiții de depozitare +2°C~+8°C
	Folosit de		Lotul
	Conținut suficient pentru „n” teste		Instrucțiunile de folosire
	Marcaj CE – IVDD 98/79/EC		Reprezentativ autorizat UE
	Numărul de catalog		Producător

 **Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.**
No.31 Kexueyuan Road, Changping District, Beijing 102206, China
Tel: +86-10-59528888, Fax: +86-10-89705849
Website: www.ystwt.com
Email: wtexport@ystwt.com

 **Qarad b.v.b.a.**
Cipalstraat 3, B-2440 Geel, Belgium
Email: qarad@qarad.com



Versiunea: V. 2014-02 [Eng.]
Data emiterii: 15 Iulie, 2014
Numarul de revizuire: Revizuire 5

Reprezentant autorizat in Rep. Moldova:
„PROFILABDIAGNOSTIC” SRL
MD-2028, str. Docuceaev,6, of.61
Tel/Fax: 022 882 -516
e-mail: profilabdiagnostic@gmail.com