

HBsAg EIA Test Kit

Este un test imunoenzimatic pentru detectarea calitativă a antigenilor de suprafață ai Hepatitei B în plasmă sau ser uman. Numai pentru diagnostic in vitro, pentru utilizarea profesională.

Principii

HBsAg EIA Test Kit-ul este un test imunoenzimatic calitativ, faza solidă, bazat pe principiul sandwich de detectare a antigenilor Hepatitei B în plasma sau ser uman. Placa microalveolă este acoperită cu anticorpi monoclonali specifici diverselor subtipuri de anticorpi ai Hepatitei B. În timpul testării, specimenul și antigenele enzimatic conjugate ai Hb se adaugă la placa microalveolă acoperită cu anticorpi, apoi se incubează. Dacă specimenul conține HbsAg, se vor forma de anticorpii de pe placă și simultan de conjugat, pentru a forma complexe de anticorpi-conjugat ai HbsAg imobilizați. Dacă specimenul nu conține HbsAg, atunci aceste complexe nu se vor forma. După incubarea inițială, placa microalveolă este spălată pentru a îndepărta materialele nefixate. Se adaugă Substratul A și B apoi se incubează pentru a produce o culoare albastră ce indică cantitatea de antigeni ai Hepatitei B în specimen. Se adaugă o soluție de acid sulfuric pe placa microalveolă pentru a stopa reacția care produce o schimbare de culoare din albastru în galben. Intensitatea culorii care corespunde cantității de HbsAg, este măsurată cu un cititor de microplacă la 450/630-700 nm sau 450 nm.

Precauții

1. Numai pentru diagnostic in vitro, pentru utilizarea profesională. Nu utilizați după data de expirare.
2. Nu amestecați reagenții din diferite loturi sau kit-uri.
3. Preveniți contaminarea încrucișată dintre reagenți pentru a asigura rezultate corecte.
4. Urmăriți / realizați procedura de spălare pentru a asigura o performanță optimă a testului.
5. Acoperiți microplaca alveolă cu sigiliu pentru placă în timpul incubăției pentru a minimiza evaporarea.
6. Folosiți un vîrf de pipetă nou pentru fiecare specimen testat.
7. Asigurați-vă că fundul plăcii este uscat și curat și că suprafața lichidului nu conține bule înainte de citirea plăcii. Nu lăsați să se usuce godeurile în timpul testării
8. Nu atingeți fundul godeurilor cu vîrfurile pipetei. Nu atingeți fundul microplăcii cu degetele.
9. Nu lăsați aburii să intre în contact cu microplaca în timpul testului, pentru că poate inhiba reacția de culoare.

Păstrare și Stabilitate

Test kit-urile nedeschise se depozitează la temperatura de 2-8°C la primire. Odată deschis, reagenții sunt stabili 3 luni de la prima deschidere dacă se păstrează la temperatura de 2-8°C. Permiteți pungii sigilate să atingă temperatura camerei înainte de a o deschide pentru a preveni condensarea pe microplacă. Buffer-ul pentru spălare concentrate se păstrează la temperatura camerei pentru a preveni cristalizarea. Nu expuneți reagenții, în special Substratul, la aburii de Hipoclorit sau lumină puternică. Nu depozitați Stop Soluția în vesela puțin adîncă sau în sticla de origine după utilizare

Testul poate fi realizat doar utilizînd plasma sau ser uman colectat prin venipunctura singelui integru.

Componente:

Nr.	Reagenți	Descrierea componentului	Cantitatea	
			96 god./kit	480god./kit
	HbsAg microplaca alveolă	Microplaca alveolă acoperită cu anticorpi ai Hb	1 placă (96 godeuri/placă)	5 plăci(96 godeuri/placă)
1	HbsAg conjugat	Anticorpi HbsAg legați de peroxidază; Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1 x 8 mL	5 x 8 mL
2	Buffer pentru spălare concentrate (25x)	Tris-HCl buffer conține 0.1% Tween 20; Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1x 40 ml	5x 40 ml
3	Substratul A	Citrate-phosphate buffer conține peroxid de hidrogen Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1x8 ml	5x 8 ml
4	Substratul B	Bufferul conține tetramethylbenzidine (TMB); Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1x8 ml	5x 8 ml
5	Stop Soluția	Acid sulfuric 0,5 M	1x8 ml	5x 8 ml
6	HbsAg Control Negativ	Ser normal non-reactiv pentru HBsAg, HCV, HIV-1, și HIV-2; Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1x1 ml	5x 1 ml
7	HbsAg Control Pozitiv	Ser inactivat ce conține HbsAG și negativ pentru HCV, HIV-1, și HIV-2; Conservanți: 0.1% ProClin™ 300	1x1 ml	5x 1 ml

Direcții de utilizare

Permiteți reagenților și specimenilor să atingă temperatura camerei înainte de testare (15-30 °C). Procedura trebuie urmată strict. Testul trebuie realizat în liumitele timpului. Pașii:

1. Prepară Bufferul pentru spălare gata de utilizare prin diluarea concentrației 1:25. Dacă sunt prezente cristale în Buffer- încălziți-l pînă la 37°C pînă se dizolvă cristalele.
2. Lăsați godeul A1 gol.
3. B1 și C1 : Aduagă 100 µL de Control Negativ. D1 și E1 : Aduagă 100 µL de Control Pozitiv. Începînd cu F1 adaugă cîte 100 µL de specimen.
4. Aduagă cîte 50 µL de conjugat în fiecare godeu, excepție godeul A1(gol)
5. Amestecați atent. Acoperiți microplaca alveolă cu sigiliu pentru placă și incubați la:
Procedura standard-37°C pentru 60 min.
Procedura îmbunătățită-37°C pentru 120 min
6. Îndepărtați sigiliul pentru placă . Spălați fiecare godeu de 5 ori cu 350 µL de Buffer pentru spălare pregătit. Întoarceți microplaca invers pe un material absorbant.
7. Aduagați 50 µL de Substrat A în fiecare godeu.
8. Aduagați 50 µL de Substrat B în fiecare godeu
9. Sau adaugați 100 µL de Soluție de Substrat gata de utilizare în fiecare godeu.
10. Amestecați și acoperiți, apoi incubați la 37°C timp de 10 min
11. Îndepărtați sigiliul pentru placă . Aduagați 50 µL de stop soluție în fiecare godeu.
12. Citiți la 450/630-700 nm în timp de 30 min.

Controlul Calității

1. Calculați absorbția medie a Controlului Negativ și Pozitiv conform tabelului de mai jos:

Exemplu de calculare a Controlului Negativ

Item	Absorbție
Control Negativ : Godeu B1	0.023
Control Negativ : Godeu C1	0.021
Absorbția totală a Controlului Negativ	$0.023 + 0.021 = 0.044$
Absorbția medie a Controlului Negativ	$0.044/2 = 0.022$
Absorbția în godeul A1(gol)	0.002
CNx: Absorbția Medie a Controlului Negativ- Absorbția în godeul A1(gol)	$0.022 - 0.002 = 0.020$

2. Verificați cerințele validării de mai jos pentru a determina dacă rezultatele testului sunt valide.

Item	Cerințele Validării
Godeul gol	Absorbția în godeul gol trebuie să fie mai mică de < 0.050 dacă e citit la 450/630-700 nm
Control Negativ	Absorbția medie după scădere(absorbția în godeul gol) trebuie să fie mai mică de < 0.100
Control Pozitiv	Absorbția medie după scădere(absorbția în godeul gol) trebuie să fie mai mică de < 1.000

Notă: Rezultatele testului se consideră invalide dacă cerințele de mai sus nu se îndeplinesc.

3. Calculați valoarea limită folosind formula de mai jos, dacă testul este valid.

Item	Absorbție
CNx	0.020
Valoarea limită: $CNx + 0.070$	$0.020 + 0.070 = 0.090$

Interpretarea Rezultatelor

Non – reactiv : Specimenii cu absorbție mai mică de valoarea limită sunt non-reactivi la HbsAg și poate fi considerat ca rezultat negativ

Reactiv: Specimenii cu absorbția egală sau mai mare de valoarea limită sunt inițial considerați reactivi la HbsAg. Specimenii ar trebui retestați pentru o interpretare finală. Dacă un rezultat din aceste două testări este reactiv și unul negativ, se consideră reactiv și ar trebui de confirmat utilizând alți markeri hepatici sau un test de confirmare. Dacă specimenii sunt non-reactivi la ambele testări , atunci se consideră rezultat non – reactiv.

Notă: Specimenii cu valori între +/- 10% din valoarea limită ar trebui retestați pentru o interpretare finală.

Informație pentru Siguranță și Sănătate

1. Unele componente ale acestui kit conține derivați ale sîngelui uman. Nici o metodă de testare cunoscută nu poate asigura pe deplin că produsele derivate din sînge uman nu conțin agenți infecțioși. De aceea, toate derivatele din sînge uman ar trebui de considerat ca potențial infecțioase. Se recomandă ca acești reagenți și probe(specimeni) umane să fie mînuite utilizînd bunele practici de laborator.
2. Poartă mănuși de unică folosință și alte haine de protecție, protejează ochii. Spală mîinile foarte bine după ce ai terminat.

3. ProClin™ 300 este inclus ca un conservant în Conjugat, în Bufferul pentru spălare concentrat, Substrat și Controale. Evită orice contact cu pielea și ochii.
4. Nu mînca, bea sau fuma în zona unde se lucrează cu reagenții și probele.
5. Evitați orice contact a pielii sau mucoasei cu Substratul A,B și Stop Soluția. Stop soluția conține 0.5 M de Acid Sulfuric care este un acid puternic. Dacă apar scurgeri, spală imediat cu mari cantități de apă.