

INDICACIONES DE USO

Para la detección cualitativa del antígeno de superficie del virus de hepatitis B (HBsAg) en suero humano o plasma.

Agente de diagnóstico in vitro, para uso exclusivo de laboratorio clínico o de gabinete.

RESUMEN Y APLICACIÓN

Las infecciones por virus de hepatitis B (VHB) se producen y presentan serios problemas de salud pública en todas las partes del mundo. Debido a las infecciones por VHB se encuentran ampliamente distribuidos, la detección temprana de la infección es esencial. Una variedad de marcadores serológicos aparece después de la infección con VHB, y uno de primero de estos marcadores es Antígeno de Superficie de la Hepatitis B (HBsAg). Este antígeno se presenta ante evidencia bioquímica de la fase enfermedades del hígado y disminuye durante la convalecencia.

DESCRIPCIÓN

Prueba inmunoenzimática.

Este ensayo se basa en el método sándwich de una etapa. Muestra, Anti-HBs microplaca revestida y se combinan marcando con enzima anti-HBsAg. Durante la incubación, se permite presente en la muestra a reaccionar simultáneamente con los dos anticuerpos, lo que resulta en el HBsAg esta intercalada entre la fase sólida y los anticuerpos, ligados a enzimas. Después del lavado, se genera un complejo entre la fase sólida, el HBsAg dentro de la muestra y el anticuerpo en el conjugado enzima por reacciones inmunológicas. A continuación, se añade el sustrato A y B sustrato y catalizadas por este complejo, resultando en una reacción cromogénica. La reacción cromogénica cromosoma resultante se mide como absorbancia. La intensidad de color es proporcional a la cantidad de HBsAg en la muestra.

MATERIALES SUMINISTRADOS	96 PRUEBAS
Microporos recubiertos con anticuerpos anti-HBs monoclonal de ratón.	12x8x1
Reactivo enzimático conjugado	7.5 mL
Control negativo	1 mL
Control positivo	1 mL
Solución de paro	7.5 mL
Sustrato A	7.5 mL
Solución de lavado concentrado 20x	30 ml
Sustrato B	7.5 mL
Instructivo de uso	1
Papel adherente y bolsa ziplock	1

MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector de micro ELISA con lente a 450 nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

Nota: el valor D. O. del control negativo debe ser menor que 0.1 a 450/630 nm.

El valor D. O. del control positivo debe ser mayor a 0.6 a 450/630 nm.

El resultado negativo indica que no hay ningún HBsAg detectable en la muestra mientras resultado positivo reveló que el paciente que ha sido infectado por el virus de la hepatitis tipo B.

ALMACENAMIENTO

Los kits de prueba sin abrir deben almacenarse a una temperatura de entre 2°C-8°C al recibirla y la microplaca debe mantenerse en una bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición a la humedad del aire.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

1. Todos reactivos deben ser llevados a temperatura ambiente (18-25°C) antes de su uso.
2. Agitar cuidadosamente el reactivo líquido de la botella. No sacuda ni agite la botella de reactivo con fuerza.
3. Prepare solución de lavado mezclando 1 volumen con 19 volúmenes de agua destilada. Mezclar bien antes de usar.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y MANIPULACIÓN

1. La sangre se extrae mediante técnicas de punción venosa convencionales y el suero debe ser separado de las células rojas de la sangre tan pronto como sea posible. Evite muestras excesivamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
2. Las muestras de plasma recogidas en tubos que contienen EDTA, heparina u oxalato pueden interferir con los procedimientos de ensayo y se deben evitar.
3. Las muestras deben ser tapadas y pueden ser almacenados hasta por 48 horas a 2°C - 8°C antes del ensayo. Las muestras almacenadas durante más tiempo se pueden congelar a -20°C para mezclarse antes de la prueba.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos recubiertos con anticuerpos necesarios para las muestras y los controles a probar.
2. Deje el pocillo A1 para el blanco. Agregue 25 µl de diluyente de muestra a cada pocillo y 75 µl de muestra y controles. (el blanco solo es necesario si se hace lectura sin filtro diferencial).
3. Mezclar por 20 segundos. Cubrir los pocillos con papel adherente e incubar a 37°C por 60 minutos.
4. Agregar 50 µl de enzima conjugada a cada pocillo, excepto al blanco. Mezcle bien e incube a 37°C por 60 minutos.
5. Retire la mezcla de incubación vaciando el contenido de los pocillos. Enjuague los pocillos 6 veces con solución de lavado 1x. Golpetee los pocillos firmemente contra papel absorbente para eliminar todas las gotas de agua residuales.
6. Dispensar 50 µl de sustrato A y 50 µl de sustrato B a cada pocillo.
7. Mezclar suavemente e incubar a 37°C durante 20 minutos en la oscuridad.
8. Detener la reacción añadiendo 50 µl de solución de paro a cada pocillo. Agite suavemente los pozos.
9. Medir la densidad óptica de cada pocillo a 450 nm. Con un filtro de 620 a 690 nm como longitud de onda de referencia para optimizar el resultado del ensayo.

Nota Importante:

El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente resultará en el desarrollo del color inadecuado.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

CÁLCULOS

calcule el punto de corte sumando 0.05 a la D.O. del control negativo.