DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch-technischen Produkten und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.
IZ NOE-Sued, Hondastrasse, Objekt M55, 2351 Wr. Neudorf, Austria
Tel: +43 (0) 2236 660910-0, Fax: +43 (0) 2236 660910-30, e-mail: office@dialab.at

HBsAg Sensitive ELISA

(en) Engleză

REF **Z12360**

Σ **96**

Conținut

- 1 placă microgodeuri: 96 de godeuri (12 x benzi cu 8 godeuri acoperite cu anticorpi, separare individuală)
- 1x 1 mL Control pozitiv
- 1x 1 ml control negativ
- 1x 6 mL Conjugat enzimatic
- 1x 5 ml diluant pentru probe
- 1x 6 ml soluție substrat A
- 1x 6 ml soluție substrat B
- 1x 6 ml soluție de oprire
- 1x 30 mL tampon de spălare
- 3 capace de plăci din carton
- 1 pungă de plastic
- 1 pachet de inserție
- 1 certificat de analiză

Numai pentru uz profesional de diagnostic in vitro.

UTILIZARE PRECONIZATĂ

HBsAg Sensitive ELISA este un test imunoenzimatic (ELISA) pentru detectarea calitativă a antigenului de suprafață al hepatitei B (AgHBs) în serul sau plasma umană. Este destinat pentru depistarea donatorilor de sânge și pentru diagnosticarea pacienților infectați cu virusul hepatitei B.

SEMNIFICAȚIA DIAGNOSTICĂ

Virusul hepatitei B (VHB) este un virus ADN dublu catenar, învelit, aparținând familiei *Hepadnaviridae* și este recunoscut ca principala cauză a hepatitelor transmise prin sânge, alături de virusul hepatitei C (VHC). Infecția cu VHB induce un spectru de manifestări clinice care variază de la boala ușoară, inaparentă, la hepatită fulminantă, afecțiuni hepatice cronice severe, care în unele cazuri pot duce la ciroză și carcinom hepatic. Clasificarea unei infecții cu hepatită B necesită identificarea mai multor markeri serologici exprimați în timpul celor trei faze (incubație, acută și convalescență) ale infecției. În prezent, mai multe teste de diagnostic sunt utilizate pentru depistarea, diagnosticul clinic și gestionarea bolii. Antigenul de suprafață al hepatitei B sau AgHBs, descris anterior ca antigen Australia, este cea mai importantă proteină a învelișului virusului hepatitei B. Antigenul de suprafață conține determinantul "a", comun tuturor subtipurilor virale cunoscute și distins imunologic în două subgrupe distincte (ay și ad). HBV are 10 serotipuri majore și au fost recunoscute patru subtipuri AgHBs (adw, ady, ayw și ayr). AgHBs poate fi detectat cu 2 până la 4 săptămâni înainte ca nivelurile ALT să devină anormale și cu 3 până la 5 săptămâni înainte de apariția simptomelor. Detectarea serologică a AgHBs este o metodă puternică pentru diagnosticarea și prevenirea infecției cu VHB, iar ELISA a devenit un sistem analitic utilizat pe scară largă pentru depistarea donatorilor de sânge și diagnosticarea clinică a VHB la persoanele infectate.

PRINCIPIU DE TESTARE

Pentru detectarea HBsAg, Dialab HBsAg Sensitive ELISA utilizează metoda ELISA "sandwich" cu anticorpi, în care benzile cu microgodeuri din polistiren sunt preacoperite cu anticorpi monoclonali specifici pentru AgHBs. Proba de ser sau de plasmă a pacientului se adaugă în microgodeuri. În timpul incubării, imunocomplexul specific format în cazul prezenței AgHBs în probă este capturat pe faza solidă. Apoi, al doilea anticorp conjugat cu enzima peroxidază de hrean (conjugatul enzimatic) îndreptat împotriva unui epitop diferit al AgHBs este adăugat în godeuri. În timpul celei de-a doua etape de incubare, acești anticorpi conjugați cu HRP vor fi legați de orice complexe anti-HBs-AgHBs formate anterior în timpul primei incubări, iar conjugatul HRP nelegat este apoi îndepărtat prin spălare. După spălare pentru îndepărtarea conjugatului HRP nelegat, se adaugă în godeuri soluții de cromogen care conțin tetrametil-benzidină (TMB) și peroxid de uree. În prezența imunocomplexului "sandwich" anticorp-antigen-anticorp (HRP), cromogenii incolori sunt hidrolizați de conjugatul HRP legat într-un produs de culoare albastră. Culoarea albastră devine galbenă după oprirea reacției cu acid sulfuric. Intensitatea culorii poate fi măsurată și este proporțională cu cantitatea de antigen captată în godeuri și, respectiv, cu cantitatea sa din probă. Puțurile care conțin probe negative pentru AgHBs rămân incolore.

COMPOZIȚIA REACTIVULUI

Componentă	Descriere
Placă microgodeuri	Benzi goale pentru microgodeuri fixate pe suport alb pentru benzi. Placa este sigilată în pungă de aluminiu cu desicant. 12x benzi cu 8 godeuri per placă. Fiecare godeu conține anticorpi monoclonali reactivi la AgHBs (anti-HBs). Benzile de microgodeuri pot fi rupte pentru a fi utilizate separat. Așezați

	godeurile sau fâșiile nefolosite în punga de plastic sigilabilă împreună cu desicantul și readuceți la 2-8°C. **Odată deschis, este stabil timp de 4 săptămâni la 2-8°C.**
Control pozitiv	Lichid de culoare roșie umplut într-un flacon cu capac cu filet roșu. AgHBs diluat în tampon stabilizat cu proteine. Gata de utilizare conform livrării. Conține 0,1% ProClin™ 300 ca conservant. **Odată deschis, este stabil timp de 4 săptămâni la 2-8°C.**
Control negativ	Lichid gălbui umplut într-o fiolă cu capac cu filet verde. Tampon stabilizat cu proteine testat nereactiv pentru HBsAg. Gata de utilizare așa cum este furnizat. Conține 0,1% ProClin™ 300 ca conservant. **Odată deschis, este stabil timp de 4 săptămâni la 2-8°C.**
Conjugat enzimatic	Lichid de culoare roșie umplut într-un flacon cu capac cu filet roșu. Anticorpi anti HBs conjugați cu peroxidază de hrean. Gata de utilizare așa cum este furnizat. Conține 0,1% ProClin™ 300 ca conservant. **Odată deschis, este stabil timp de 4 săptămâni la 2-8°C.**
Diluant pentru specimene	Lichid de culoare verde într-un flacon cu capac cu filet albastru. Soluție tampon care conține proteine. Gata de utilizare conform livrării. Conține 0,1% ProClin™ 300 ca conservant. **Odată deschis, este stabil timp de 4 săptămâni la 2-8°C.**
Substrat Soluție A	Lichid incolor umplut într-un flacon alb cu capac cu filet verde. Soluție de peroxid de uree. Gata de utilizare, așa cum este furnizat. **Odată deschis, este stabil timp de 4 săptămâni la 2-8°C.**
Substrat Soluție B	Lichid incolor umplut într-un flacon negru cu capac cu filet negru. TMB (Tetrametil benzidină), N, N-dimetilformamidă. Gata de utilizare, așa cum este furnizat. **Odată deschis, este stabil timp de 4 săptămâni la 2-8°C.**
Soluție de oprire	Lichid incolor într-un flacon alb cu capac cu filet galben. Soluție diluată de acid sulfuric (0,5 M H_2SO_4). Gata de utilizare, așa cum este furnizat. **Odată deschis, este stabil timp de 4 săptămâni la 2-8°C.**
Tampon de spălare	Lichid incolor umplut într-o sticlă transparentă cu capac cu filet alb, pH 7,4, 20x PBS. Concentratul trebuie diluat **1 la 20** cu apă distilată/ deionizată înainte de utilizare. Conține Tween 20 ca detergent. **Odată diluat, este stabil timp de o săptămână la temperatura camerei sau timp de două săptămâni când este depozitat la 2-8°C.**

MATERIAL NECESAR, DAR NEFURNIZAT

- Apă proaspăt distilată sau deionizată
- Mănuși de unică folosință și cronometru
- Containere de deșeuri adecvate pentru materialele potențial contaminate
- Sistem de distribuire și/sau pipetă
- Vârfuri de pipetă de unică folosință
- Șervețel absorbant sau prosop curat
- Incubator uscat sau baie de apă 37± 1°C
- Cititor de plăci, lungime de undă unică 450 nm sau lungime de undă dublă 450/600-650 nm
- Sistem de aspirație/spălare a microgodeurilor

PREPARAREA REACTIVILOR

Lăsați reactivii și probele să ajungă la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 15-30 de minute. Verificați concentratul tamponului de spălare pentru prezența cristalelor de sare. Dacă s-au format cristale, se rezolvă prin încălzirea la 37°C până la dizolvarea cristalelor. Se diluează tamponul de spălare 1:20 conform indicațiilor din instrucțiunile de spălare. Folosiți apă distilată sau deionizată și numai vase curate pentru a dilua tamponul. Toți ceilalți reactivi sunt gata de utilizare așa cum sunt furnizați.

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Componentele kitului vor rămâne stabile până la data de expirare indicată pe etichetă și pe ambalaj atunci când sunt depozitate între 2-8°C, nu înghețați. Pentru a asigura performanța maximă a acestui kit HBsAg ELISA Sensitive, în timpul depozitării protejați reactivii de contaminarea cu microorganisme sau substanțe chimice.

AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

ProClin™300:

Avertisment:
H317: Poate provoca o reacție alergică a pielii.
H412: Nociv pentru viața acvatică cu efecte de lungă durată
P273: Evitați eliberarea în mediu
P280: Purtați mănuși de protecție/ îmbrăcăminte de protecție/ protecție pentru ochi/ protecție pentru față.
P333+313: Dacă apar iritații ale pielii sau erupții cutanate: Obțineți consiliere/atenție medicală.
P363: Spălați hainele contaminate înainte de reutilizare.

N,N dimetilformamidă:

Pericol:
H360D: Poate dăuna copilului nenăscut.
P201: Obțineți instrucțiuni speciale înainte de utilizare.
P280: Purtați mănuși de protecție/ îmbrăcăminte de protecție/ protecție pentru ochi/ protecție pentru față.
P308+P313: Dacă sunteți expus sau îngrijorat: Obțineți consiliere/atenție medicală.

SĂ FIE UTILIZAT NUMAI DE CĂTRE PROFESIONIȘTI CALIFICAȚI.

Testul ELISA este o metodă sensibilă la timp și temperatură. Pentru a evita rezultatele incorecte, **urmați cu strictețe etapele procedurii de testare și nu le modificați.**

- Nu schimbați reactivi din loturi diferite și nu utilizați reactivi din alte kituri disponibile în comerț. Componentele kitului sunt adaptate cu precizie pentru a obține performanțe optime ale testului.
- Asigurați-vă că toți reactivii se încadrează în perioada de valabilitate indicată pe cutia kitului și sunt din același lot. Nu utilizați niciodată reactivi după data de expirare indicată pe etichete sau pe cutii.
- **ATENȚIE - ETAPĂ CRITICĂ:** Lăsați reactivii și probele să ajungă la temperatura camerei (18-30°C) înainte de utilizare. Agitați ușor reactivul înainte de utilizare. Se readuce la 2-8°C imediat după utilizare.
- Utilizați numai un volum suficient de probă, conform indicațiilor din etapele procedurii. Nerespectarea acestei cerințe poate duce la o sensibilitate scăzută a testului.
- Nu atingeți fundul exterior al godeurilor; amprentele digitale sau zgârieturile pot interfera cu citirea microgodeurilor. Atunci când citiți rezultatele, asigurați-vă că fundul plăcii este uscat și că nu există bule de aer în interiorul godeurilor.
- Nu lăsați niciodată godeurile microplăcilor să se usuce după etapa de spălare. Treceți imediat la etapa următoare. Evitați formarea de bule de aer la adăugarea reactivilor.
- Evitați întreruperile de lungă durată ale etapelor de analiză. Asigurați aceleași condiții de lucru pentru toate godeurile.
- Calibrați frecvent pipeta pentru a asigura precizia dozării probelor/reagenților. Folosiți vârfuri de pipetă de eliminare diferite pentru fiecare probă și reactiv, pentru a evita contaminarea încrucișată.
- Asigurați-vă că temperatura de incubare este de 37°C în incubator.
- Atunci când adăugați probe, evitați să atingeți fundul godeului cu vârful pipetei.
- Atunci când măsurați cu un cititor de plăci, determinați absorbția la 450 nm sau 450/600-650 nm.
- Activitatea enzimatică a conjugatului enzimatic poate fi afectată de praf, substanțe chimice reactive și substanțe precum hipoclorit de sodiu, acizi, baze etc. Nu efectuați testul în prezența unor astfel de substanțe.
- Dacă se utilizează un echipament complet automatizat, în timpul incubării, nu se acoperă plăcile cu capacul pentru plăci. De asemenea, se poate renunța la extragerea resturilor din interiorul plăcii după spălare.
- Toate specimenele de origine umană trebuie considerate ca fiind potențial infecțioase. Respectarea strictă a normelor BPL (bune practici de laborator) poate asigura siguranța personală.
- **AVERTISMENT:** Materialele de origine umană au fost utilizate la prepararea controlului negativ din trusă. Aceste materiale au fost testate cu truse de testare cu performanțe acceptate și s-au dovedit negative pentru anticorpii HIV 1&2, VHC, TP și AbHBs. Cu toate acestea, nu există nicio metodă analitică care să poată garanta absența completă a agenților infecțioși din probe sau reactivi. Prin urmare, manipulați reactivii și probele cu precauție extremă, ca și cum ar putea transmite boli infecțioase. Serurile de origine bovină au fost utilizate pentru stabilizarea controalelor pozitive și negative. Albumina serică bovină (BSA) și serul fetal de vițel (FCS) provin de la animale din zone geografice fără ESB/EST.
- Nu mâncați, nu beți, nu fumați și nu aplicați produse cosmetice în laboratorul de analize. Nu pipetați niciodată soluții cu gura.
- Substanțele chimice trebuie manipulate și eliminate numai în conformitate cu BPL (bunele practici de laborator) în vigoare și cu reglementările locale sau naționale.
- Vârfurile de pipetă, flacoanele, benzile și recipientele pentru probe trebuie colectate și autoclavate timp de 2 ore la 121°C sau tratate cu hipoclorit de sodiu 10% timp de 30 de minute pentru decontaminare înainte de orice alte etape de eliminare. Soluțiile care conțin hipoclorit de sodiu nu trebuie să fie NICIODATĂ autoclavate.
- Fișa cu date privind siguranța materialelor (MSDS) disponibilă la cerere.
- Unii reactivi pot provoca toxicitate, iritații, arsuri sau pot avea efect cancerigen ca materii prime. Contactul cu pielea și mucoasele trebuie evitat, dar nu se limitează la următorii reactivi: Soluția de oprire, soluțiile de substrat și tamponul de spălare.
- Soluția de oprire (0,5 M H_2SO_4) este un acid. Coroziv. Utilizați-o cu atenția cuvenită. Ștergeți imediat scurgerile sau spălați cu apă dacă intră în contact cu pielea sau ochii.
- ProClin™300 0,1% utilizat ca conservant poate provoca senzații ale pielii. Ștergeți imediat scurgerile sau spălați cu apă dacă intră în contact cu pielea sau cu ochii.

Indicii de instabilitate sau deteriorare a reactivului:
Valorile controalelor pozitive sau negative, care ies din intervalul de control al calității indicat, sunt indicatori ai unei posibile deteriorări a reactivilor și/sau erori ale operatorului sau ale echipamentului. În acest caz, rezultatele trebuie considerate invalide, iar probele trebuie retestate.

În cazul unor rezultate eronate constante și al deteriorării sau instabilității dovedite a reactivilor, înlocuiți imediat reactivii cu unul nou sau contactați Dialab pentru asistență suplimentară.

COLECTAREA ȘI DEPOZITAREA SPECIMENELOR

- **Colectarea probelor:** Nu este necesară pregătirea specială a pacientului. Colectați specimenul în conformitate cu practicile normale de laborator. Cu acest test se pot utiliza probe proaspete de ser sau de plasmă. Sângele recoltat prin puncție venoasă trebuie lăsat să se coaguleze natural și complet - serul/plasma trebuie separat(ă) de cheag cât mai curând posibil pentru a evita hemoliza globulelor roșii. Trebuie să se acorde atenție ca probele de ser să fie limpezi și să nu fie contaminate de microorganisme. Orice particule vizibile din specimen trebuie eliminate prin centrifugare la 3 000 RPM (rotații pe minut) timp de 20 de minute la temperatura camerei sau prin filtrare.
- Se pot testa specimenele de plasmă colectate în EDTA, citrat de sodiu sau heparină, **dar nu trebuie utilizate specimene foarte lipaemice, icterice sau hemolitice**, deoarece acestea pot da rezultate false în test. **Nu inactivați termic specimenele**. Acest lucru poate provoca deteriorarea analitului țintă. Specimenele cu contaminare microbiană vizibilă nu trebuie utilizate niciodată.
- Dialab HBsAg Sensitive ELISA este destinat NUMAI pentru testarea probelor individuale de ser sau plasmă. Nu utilizați testul pentru testarea probelor de cadavre, salivă, urină sau alte fluide corporale sau sânge amestecat (mixt).
- **Transport și depozitare**: Păstrați specimenele la 2-8°C. Specimenele care nu sunt necesare pentru analiză în termen de 7 zile trebuie păstrate congelate (-20°C sau mai puțin). Trebuie evitate ciclurile multiple de îngheț-dezgheț. Pentru expediere, specimenele trebuie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările locale și internaționale în vigoare pentru transportul specimenelor clinice și al agenților etologici.

PROCEDURA DE TESTARE

1. **Pregătire**: Se marchează trei godeuri ca control negativ (de exemplu, B1, C1, D1), două godeuri ca control pozitiv (de exemplu, E1, F1) și unul neutru (de exemplu, A1, în godeul neutru nu se adaugă nici probe, nici conjugat enzimatic). În cazul în care rezultatele vor fi determinate prin utilizarea unui cititor de plăci cu lungime de undă dublă, se poate omite cerința de utilizare a godeului neutru alb. Se utilizează numai numărul de benzi necesare pentru test.
2. **Adăugarea diluantului:** Adăugați **20 µl** de diluant pentru specimen în fiecare godeu, cu excepția neutrului.
3. **Adăugarea probei:** Adăugați **100 µl** de control pozitiv, control negativ și specimen în godeurile respective, cu excepția neutrului. Notă: Utilizați un vârf de pipetă de eliminare separat pentru fiecare specimen, control negativ, control pozitiv pentru a evita contaminarea încrucișată. Se amestecă prin lovirea ușoară a plăcii.
4. **Incubare:** Acoperiți placa cu capacul plăcii și incubați timp de **60 de minute la 37°C.**
5. **Adăugarea conjugatului enzimatic:** La sfârșitul incubării, îndepărtați și aruncați capacul plăcii. Se adaugă **50 µl** de conjugat enzimatic în fiecare godeu, cu excepția neutrului, și se amestecă prin lovirea ușoară a plăcii.
6. **Incubare:** Acoperiți placa cu capacul plăcii și incubați timp de **30 de minute la 37°C.**
7. **Spălare:** La sfârșitul incubării, îndepărtați și aruncați capacul plăcii. Spălați fiecare godeu **de 5 ori** cu tampon de spălare diluat. De fiecare dată, lăsați microgodeurile la înmuiat timp de **30-60 de secunde**. După ultimul ciclu de spălare, întoarceți placa pe hârtie absorbantă sau pe un prosop curat și bateți-o pentru a îndepărta orice reziduuri.
8. **Colorare:** Se adaugă **50 µl** de soluție de substrat A și **50 µl** de soluție de substrat B în fiecare godeu, inclusiv în cel neutru. Incubați placa la **37°C timp de 30 de minute, evitând lumina**. Reacția enzimatică dintre soluțiile de substrat și conjugatul enzimatic produce culoarea albastră în godeurile de control pozitiv și de probă pozitivă pentru AgHBs.
9. **Oprirea reacției:** Folosind o pipetă cu canale multiple sau manual, se adaugă **50 µl** soluție de oprire în fiecare godeu și se amestecă ușor. Se dezvoltă o culoare galbenă intensă în godeurile de control pozitiv și de probă anti-AgHBs pozitivă.
10. **Măsurarea absorbanței:** Calibrați cititorul de plăci cu godeul neutru citiți absorbția la **450 nm**. Dacă se utilizează un instrument cu filtru dublu, setați lungimea de undă de referință la **600 - 650 nm**. Calculați valoarea limită și evaluați rezultatele. **Notă:** citiți absorbția în termen de **10 minute** după oprirea reacției.

Instrucțiuni pentru spălare:

- O bună procedură de spălare este esențială pentru a obține date analitice corecte și precise.
- Prin urmare, se recomandă utilizarea unui dispozitiv de spălare a microplăcilor ELISA de bună calitate, menținut la cel mai bun nivel de performanță de spălare. În general, nu mai puțin de **5 cicluri automate de spălare** de **350-400 µl/godeu** sunt suficiente pentru a evita reacțiile fals pozitive și fondul ridicat.
- Pentru a evita contaminarea încrucișată a plăcii cu specimen sau conjugat enzimatic, după incubare nu aruncați conținutul godeurilor, ci permiteți spălătorului de plăci să îl aspire automat.
- Asigurați-vă că canalele de distribuire a lichidului de spălare a microplăcilor nu sunt blocate sau contaminate și că un volum suficient de tampon de spălare este distribuit de fiecare dată în godeuri.
- În cazul spălării manuale, vă sugerăm să efectuați **5 cicluri de spălare**, distribuind **350-400µl/godeu** și aspirând lichidul de **5 ori.** Dacă se observă rezultate slabe (fond ridicat), creșteți ciclurile de spălare sau timpul de înmuiere per godeu.
- În orice caz, lichidul aspirat din benzi trebuie tratat cu o soluție de hipoclorit de sodiu (concentrație finală de 2,5%) timp de 24 de ore, înainte ca lichidele să fie eliminate într-un mod adecvat.
- Tamponul de spălare concentrat trebuie diluat **1:20** înainte de utilizare. Dacă se utilizează mai puțin de o placă întreagă, se prepară volumul proporțional de soluție.

INTERPRETAREA REZULTATELOR

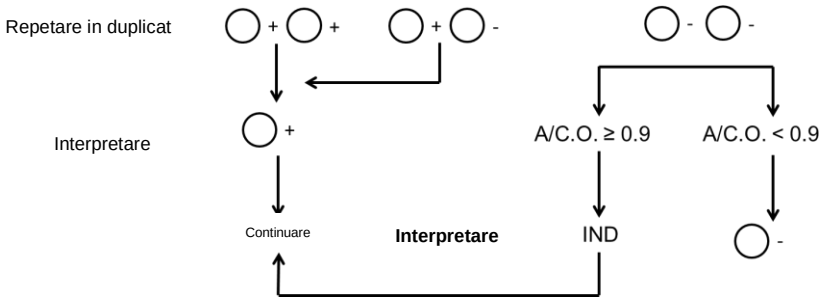
Rezultate negative (A / C.O. < 1): Specimenele care prezintă o absorbție mai mică decât valoarea limită sunt negative pentru acest test, ceea ce indică faptul că nu a fost detectat niciun antigen de suprafață al virusului hepatitei B cu Dialab HBsAg Sensitive ELISA, prin urmare, pacientul nu este probabil infectat cu VHB, iar unitatea de sânge nu conține antigen de suprafață al virusului hepatitei B și ar putea fi transfuzată în cazul în care alți markeri de boli infecțioase sunt, de asemenea, absenți.

Rezultate pozitive (A / C.O. ≥ 1): Specimenele care prezintă o absorbție egală sau mai mare decât valoarea limită sunt considerate inițial reactive, ceea ce indică faptul că antigenul de suprafață al virusului hepatitei B a fost probabil detectat utilizând Dialab HBsAg Sensitive ELISA. Toate specimenele inițial reactive trebuie retestate în duplicat utilizând Dialab HBsAg Sensitive ELISA înainte de interpretarea rezultatelor finale ale testului. Probele reactive repetate pot fi considerate pozitive pentru antigenul de suprafață al virusului hepatitei B cu Dialab HBsAg Sensitive ELISA.

Limită (A / C.O. = 0,9 - 1,1): Specimenele cu absorbție la raportul limită între 0,9 și 1,1 sunt considerate la limită și este necesară retestarea acestor specimene în duplicat pentru a confirma rezultatele inițiale.

Este necesară urmărirea, confirmarea și testarea suplimentară a oricărui specimen pozitiv cu alte sisteme analitice (de exemplu, PCR). Diagnosticul clinic nu ar trebui stabilit pe baza unui singur rezultat al testului. Acesta trebuie să integreze datele și constatările clinice și de laborator.

INTERPRETAREA REZULTATELOR INIȚIALE ȘI URMĂRIREA TUTUROR PROBELOR INIȚIAL REACTIVE SAU LA LIMITĂ



IND= neinterpretabil

- În cazul în care, după retestarea probelor inițial reactive, ambele godeuri sunt negative (A/C.O.<0,9), aceste probe trebuie considerate pozitive nerepetabile (sau fals pozitive) și înregistrate ca negative. La fel ca în cazul multor teste ELISA foarte sensibile, pot apărea rezultate fals pozitive din mai multe motive, dintre care majoritatea sunt legate de o etapă de spălare inadecvată, dar fără a se limita la aceasta.
- În cazul în care, după retestarea în duplicat, una sau ambele godeuri pozitive, rezultatul final al acestui test ELISA trebuie înregistrat ca fiind reactiv în mod repetat. Specimenele reactive în mod repetat ar putea fi considerate pozitive pentru antigenul de suprafață al virusului hepatitei B și, prin urmare, pacientul este probabil infectat cu VHB, iar unitatea de sânge trebuie eliminată.
- După retestarea în duplicat, probele cu valori apropiate de valoarea limită trebuie interpretate cu prudență și considerate probe din zona "limită" sau neinterpretabile pentru momentul testării.

CONTROLUL CALITĂȚII ȘI CALIBRAREA

Fiecare microplacă trebuie considerată separat la calcularea și interpretarea rezultatelor testului, indiferent de numărul de plăci prelucrate simultan. Rezultatele se calculează prin raportarea valorii absorbției (A) fiecărui specimen la valoarea limită (C.O.) a plăcii. În cazul în care citirea limită se bazează pe un cititor de plăci cu filtru unic, rezultatele trebuie calculate prin scăderea valorii A a godeului neutru din valorile rapoartelor de imprimare ale specimenelor și controalelor. În cazul în care citirea se bazează pe un cititor de plăci cu două filtre, nu se scade valoarea godeului neutru A din valorile rapoartelor de imprimare ale specimenelor și controalelor.

Calcularea valorii limită (C.O.) = Nc+ 0,06
(**Nc**= valoarea absorbției medii pentru trei controale negative).

Controlul calității (validarea testului): Rezultatele testelor sunt valabile dacă sunt îndeplinite criteriile de control al calității. Se recomandă ca fiecare laborator să stabilească un sistem adecvat de control al calității cu material de control al calității similar sau identic cu proba pacientului analizată.

- Valoarea A a godeului neutru, care conține numai soluții de substrat și soluție de oprire, este <0,080 la 450 nm.
- Valorile A ale controlului pozitiv trebuie să fie ≥0,800 la 450/600-650 nm sau la 450 nm după neutralizare.
- Valorile A ale controlului negativ trebuie să fie≤ 0,100 la 450/600-650 nm sau la 450 nm după neutralizare.

Dacă una dintre valorile controlului negativ A nu îndeplinește criteriile de control al calității, aceasta trebuie eliminată și valoarea medie trebuie calculată din nou folosind celelalte două valori. Dacă mai multe valori ale controlului negativ A nu îndeplinesc specificațiile intervalului de control al calității, testul nu este valabil și trebuie repetat.

Exemplu:

1. Controlul calității

Valoare A godeu neutru: A1 = 0,025 la 450 nm (Notă: neutralizarea este necesară numai la citirea cu un singur filtru la 450 nm)

Godeu nr.:	**B1**	**C1**	**D1**
Valoare A Control negativ după neutralizare:	0.020	0.012	0.016

Godeu nr.:	**E1**	**F1**
Valoare A control pozitiv după neutralizare:	2.421	2.369

Toate valorile de control se încadrează în intervalul de control al calității declarat

2. Calcularea Nc: = (0,020+0,012+0,016)/3 = 0,016

3. Calcularea limitei: (C.O.) = 0,016+ 0,06 = 0,076

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Studiile de evaluare efectuate în institute externe de control al calității, precum și în 3 bănci de sânge, au demonstrat următoarele caracteristici de performanță ale HBsAg Sensitive ELISA.

Specificitate: Atunci când a fost evaluată pe donatori de sânge europeni (n=5038), specificitatea diagnostică globală a kitului a fost de 99,78%.

În timpul evaluării în mai multe centre Dialab HBsAg Sensitive ELISA a demonstrat o specificitate de 99,92%.

Laborator	Număr	Dialab HBsAg Sensitive ELISA		
		-	+	Specificitate
Banca de sânge A	1958	1955	3	99.85%
Banca de sânge B	2518	2516	2	99.92%
Banca de sânge C	6344	6340	4	99.94%
Total	10820	10811	9	99.92%

Sensibilitate: Dialab HBsAg Sensitive ELISA a fost evaluat din punct de vedere al sensibilității pe 22 de panouri de seroconversie VHB disponibile în comerț și pe un total de 403 probe de plasmă AgHBs pozitive, inclusiv 146 de probe de plasmă genotipate și subtipate AgHBs VHB. În ceea ce privește sensibilitatea la seroconversie, rezultatele testului Dialab HBsAg Sensitive ELISA pe cele 22 de panouri de seroconversie VHB au arătat un nivel de sensibilitate cel puțin echivalent cu gama de teste de screening AgHBs actuale marcate CE. Alte 10 panouri de seroconversie au fost testate intern. Sensibilitatea seroconversiei a fost comparabilă cu cea a altor teste de screening AgHBs marcate CE. În ceea ce privește sensibilitatea la diagnostic, Dialab HBsAg Sensitive ELISA a detectat toate probele pozitive ca fiind pozitive, inclusiv genotipurile VHB A-F pentru subtipurile de AgHBs examinate.

În concluzie, scorul general al testului Dialab HBsAg Sensitive ELISA pentru sensibilitatea la seroconversie a fost comparabil cu alte kituri de testare a AgHBs marcate CE pentru care PEI deține date, iar toate cele 403 probe pozitive la AgHBs au fost reactive, ceea ce dă o sensibilitate generală de 100%.

Sensibilitate analitică: 0,067 UI/mL (NIBSC 00/588)

Specificitate analitică: Nu s-a observat nicio interferență cu probele de la pacienții cu nivel ridicat de factor reumatoid și de la însărcinate. Probele congelate și prelevate în aceeași zi au fost testate pentru a verifica interferențele datorate colectării și depozitării. Un total de 100 de probe reactive pentru anti-HBc, anti-HCV și anti-HIV-1 au fost testate pentru AgHBs cu Dialab HBsAg Sensitive ELISA. 98 din 100 de probe au fost negative pentru AgHBs. 200 de probe de sânge de la pacienți au fost, de asemenea, testate cu Dialab HBsAg Sensitive ELISA. 191 din 200 de probe au avut rezultate negative la screening pentru AgHBs. 8 din 9 probe cu rezultate reactive inițiale la screening au avut rezultate reactive repetate la testul Dialab HBsAg Sensitive ELISA, dar virusul hepatitei B nu a fost confirmat în toate cazurile.

Detectarea mutațiilor: Un panel de 108 probe colectate și secvențiate prin PCR au fost testate pentru a demonstra performanța Dialab HBsAg Sensitive ELISA în detectarea mutațiilor AgHBs. Rezultatele sunt prezentate în tabelul de mai jos.

Context		Număr	Dialab HBsAg Sensitive ELISA
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

TRASABILITATE

22 de panouri de seroconversie au fost utilizate ca material de referință pentru Dialab HBsAg Sensitive ELISA.

VALORI AȘTEPTATE

Dialab HBsAg Sensitive ELISA este un test calitativ și nu poate fi utilizat pentru a măsura concentrația de antigen, prin urmare conceptul de valori așteptate nu este aplicabil. Exemple de valori pentru absorbție pot fi găsite în capitolul CONTROL AL CALITĂȚII ȘI CALIBRARE:

LIMITĂRI

- Rezultatele pozitive trebuie confirmate cu o altă metodă disponibilă și interpretate împreună cu informațiile clinice ale pacientului.
- Antigenii pot fi nedetectabili în stadiul incipient al bolii. Prin urmare, rezultatele negative obținute cu Dialab HBsAg Sensitive ELISA indică doar faptul că proba nu conține un nivel detectabil de antigen de suprafață al virusului hepatitei B și orice rezultat negativ nu trebuie considerat o dovadă concludentă că persoana nu este infectată cu VHB sau că unitatea de sânge nu este infectată cu VHB.
- În cazul în care, după retestarea probelor inițial reactive, rezultatele testului sunt negative, aceste probe trebuie considerate nerepetabile (fals pozitive) și interpretate ca negative. La fel ca în cazul multor teste ELISA foarte sensibile, pot apărea rezultate fals pozitive din mai multe motive, dintre care majoritatea sunt legate, fără a se limita la acestea, de etapa de spălare inadecvată.
- Cele mai frecvente greșeli de analiză sunt: utilizarea kiturilor după data de expirare, proceduri de spălare necorespunzătoare, reactivi contaminați, etape incorecte ale procedurii de analiză, aspirație insuficientă în timpul spălării, omisiunea de a adăuga probe sau reactivi, funcționarea necorespunzătoare a echipamentului de laborator, erori de sincronizare, utilizarea de probe puternic hemolizate sau probe care conțin fibrină, probe de ser incomplet coagulate.
- Prevalența markerului va afecta valorile predictive ale testului.
- Acest test nu poate fi utilizat pentru testarea plasmei combinate (mixte). Dialab HBsAg Sensitive ELISA a fost evaluat numai cu probe individuale de ser sau plasmă.
- Dialab HBsAg Sensitive ELISA este un test calitativ, iar rezultatele nu pot fi utilizate pentru a măsura concentrația de antigen.

GESTIONAREA DEȘEURILOR

Reactivii trebuie eliminați în conformitate cu reglementările locale.

BIBLIOGRAFIE

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,
2. 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.
3. 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.
4. Szmuness, W., C. E. Stevens, E. J. Harley, E. A. Zang, W. R. Olesko, D. C. Williams, R. Sadovsky, 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.
5. 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

SIMBOLURI UTILIZATE

Simbol	Descriere
Cont.	Conținut

CE 2854 IVD 2°C 8°C

Subsemnata **PETER HAJNALKA**, interpret şi traducător autorizat pentru limbile engleză, germană şi maghiară, în temeiul Autorizaţiei nr. 22944/2010, eliberată de Ministerul Justiţiei din România, certific exactitatea traducerii efectuate din limba engleză în limba română, că textul prezentat a fost tradus complet, fără omisiuni, şi că, prin traducere, înscrisului nu i-au fost denaturate conţinutul şi sensul.