

丙型肝炎病毒抗体检测（酶联免疫法）

1、原理：本法采用间接法酶联免疫吸附试验原理。在微孔条上预包被基因重组 HCV 结构和非结构区，配以酶标记 IgG 抗体及 TMB 显色等其他试剂，检测人血清或血浆中的丙型肝炎病毒抗体。

2、标本采集与处理□

2.1 受检者准备：对于体检对象抽血前保持平时的饮食习惯，采血前应禁食 4—6 小时。

2.2 静脉采血：除非是卧床病人，一般在采血时取坐位。体位影响水分在血管内外的分布，因此影响测定水平。故在采血前至少应静坐 5 分钟。一般从肘静脉取血，使用止血带的时间不超过 1 分钟，穿刺成功后立即松开止血带。

2.3 采血管：一般采用血清做检验，可以用一般洁净的塑料管或玻璃试管作为容器。

2.4 标本处理：血液标本应尽快地送实验室。本试剂使用样品为人血清或血浆，含 EDTA、柠檬酸钠或肝素等抗凝剂的样品可用于本实验。

2.5 标本接收：接收标本时应检查标本是否符合要求（要求密封、无溶血、无杂物）、所用试管是否正确、试管是否填写完整、并询问采血日期，对不合格标本应退回重采，并填写记录。

2.6 标本储存：样品中应无微生物，可在 2-8℃ 储存 1 周，长期储存应低温冻存，避免反复冻融。

3、试剂与仪器：□

3.1 测定试剂：

3.1.1 生产厂商：北京万泰生物药业股份有限公司

3.1.2 批准文号：国药准字 S20010014

3.1.3 包装：96T×1

3.1.3 试剂配置：

浓缩洗涤液	50ml×1 瓶
样品稀释液	12ml×1 瓶

HCV 酶标板 8×12 孔或 12×8 孔

HCV 酶标试剂 12 ml×1 瓶

HCV 阳性对照 0.2ml×1 支

HCV 阴性对照 0.2ml×1 支

底物液 A、B 液 各 6ml×1 瓶

终止液 6ml×1 瓶

自封袋 1 个

封版膜 2 张

说明书 1 份

3.2 测定仪器：

3.2.1 酶标仪：上海安泰 model MT-858

3.2.2 洗板机：ANALYTECH 828

4、操作步骤：

4.1 配液：浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水 20 倍稀释。

4. 2 编号:将样品对应微孔按序编号, 每板应设阴性对照 3 孔, 阳性对照 2 孔和空白对照 1 孔(空白对照孔只加稀释液不加样品及酶标试剂) 其余各孔加入 100UL 样本稀释液。

4. 3 加样:分别在相应孔中加入待测样品, 阴, 阳对照 10 微升, 轻轻振荡混匀。

4. 4 温育: 用封版膜封版后, 置 37℃ 温育 60 分钟。

4. 5 洗涤: 揭掉封版膜, 用洗板机洗涤 5 遍, 最后一次尽量扣干。

4. 6 加酶标抗体: 空白对照孔不加 酶标试剂, 每孔加入酶标记抗体 100 微升, 轻轻振荡混匀。

4. 7 温育: 置 37℃ 温育 30 分钟。

4. 8 洗涤: 揭掉封版膜, 用洗板机洗涤 5 遍, 最后一次尽量扣干

4. 9 显色: 每孔加入显色剂 A,B 液各 1 滴 (50 微升), 轻轻振荡匀, 37℃ 避光显色 30 分钟。

4. 10 终止: 每孔加终止液 1 滴 (50 微升), 轻轻振荡混匀。

4. 11 测定: 10 分钟内测定结果, 设定酶标仪单波长 450 nm 或双波长 450 nm /600—650 nm 测定。用空白孔调零点后测定各孔 A 值。

5: 结果判断

5. 1 目测:

在白色背景下观察各孔显色情况, 有明显黄色者为丙型肝炎病毒抗体 (抗 HCV) 阳性; 无色者为丙型肝炎病毒抗体 (抗 HCV) 阴性。

5. 2 酶标仪检测:

5. 2. 1 临界值 (CUT/OFF) 计算: $CUT/OFF = \text{阴性对照孔 A 均值} + 0$ 。

12. (不足 0.02 按 0.02 计算)

5. 2. 2 阳性判定: 样品 A 值 $\geq$ 临界值 (CUTOFF) 者判为抗 HCV 阳性。(注意初试阳性应重新取样双孔复试)

5. 2. 3 阴性判定: 样品 A 值 $<$ 临界值 (CUTOFF) 者判为抗 HCV 阴性。

6: 注意事项:

6. 1 本品仅用于体外诊断, 操作应按说明书严格进行. 封版膜不能重复使用, 不同批号酶标板、酶标试剂和阴阳对照不可混用, 不能与其他厂家试剂混用。

6. 2 避免在有挥发性物质及次氯酸类消毒剂 (如 84 消毒液) 的环境下操作。

6. 3 使用前请将试剂平衡至室温 (平衡 30 分钟以上) 实验前将试剂轻轻振荡混匀, 使用后立即放回 $2-8^{\circ}\text{C}$. 未用完的微孔板条与干燥剂一起用自封袋密封 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存。过期试剂请勿使用。

6. 4 加样时必须使用加样器, 并经常校对加样器的准确性. 加入不同样品或不同试剂组分时, 用更换加样器吸头和加样槽, 以防出现交叉污染。

6. 5 洗涤时各孔均需加满洗液，防止孔内有游离酶不能洗净。使用洗板机应设定 30-60 秒浸泡时间。再洗板结束后，必须立即进行下一步，不可使酶标板干燥。避免长时间的中断实验步骤，以确保每孔实验条件的均一。

6. 6 结果判定必须以酶标仪读数为准。读取结果时，应擦干酶标板底部，且孔内不能有气泡。不要触碰孔底部的外壁，指印或划痕都可能影响板孔的读值。

6. 7 所有样品、废液和废弃物都应按传染物处理。终止液为硫酸，使用时必须注意安全。

6. 8 显色时必须加显色剂 A 液后再加显色剂 B 液，以免显色过低。

6. 9 由于 ELISA 反应原理的限制，本试剂检测阴性并不排除 HCV 感染的可能。检测的阳性结果必须结合临床信息进行分析。

7：临床意义：

检测人血清或血浆中的 HCV 抗体。适用于血液的筛查及临床丙型肝炎病毒感染的辅助诊断。

梅毒螺旋体抗体（酶联免疫法）

1、原理：本试剂盒采用双抗原夹心法酶联免疫吸附试验原理。在微孔条上预包被梅毒螺旋体抗体基因重组抗原，配以酶标记抗原及 TMB 显色剂等其他试剂，检测人血清或血浆中的梅毒螺旋体抗体。

2、标本采集与处理□

2.1 受检者准备：对于体检对象抽血前保持平时的饮食习惯，采血前应禁食 4—6 小时。

2.2 静脉采血：除非是卧床病人，一般在采血时取坐位。体位影响水分在血管内外的分布，因此影响测定水平。故在采血前至少应静坐 5 分钟。一般从肘静脉取血，使用止血带的时间不超过 1 分钟，穿刺成功后立即松开止血带。

2.3 采血管：一般采用血清做检验，可以用一般洁净的塑料管或玻璃试管作为容器。

2.4 标本处理：血液标本应尽快地送实验室。本试剂使用样品为人血清或血浆，含 EDTA、柠檬酸钠或肝素等抗凝剂的样品可用于本实验。

2.5 标本接收：接收标本时应检查标本是否符合要求（要求密封、无溶血、无杂物）、所用试管是否正确、试管是否填写完整、并问讯采血日期，对不合格标本应退回重采，并填写记录。

2.6 标本储存：样品中应无微生物，可在 2—8℃ 储存 1 周，长期储存应低温冻存，避免反复冻融。

3、试剂与仪器：□

3. 1 测定试剂:

3. 1. 1 生产厂商: 北京万泰生物药业股份有限公司

3. 1. 2 批准文号: 国药准字 S20010013

3. 1. 3 包装: 96T×1

3. 1. 3 试剂配置: 浓缩洗涤液 50ml×1 瓶

TP 酶标板 8×12 孔或 12×8 孔

TP 酶标试剂 12 ml×1 瓶

TP 阳性对照 0.2ml×1 支

TP 阴性对照 0.2ml×1 支

显色剂 A、B 液 各 6ml×1 瓶

终止液 6ml×1 瓶

自封袋 1 个

封版膜 2 张

说明书 1 份

3. 2 测定仪器:

3. 2. 1 酶标仪: 上海安泰 model MT-858

3. 2. 2 洗板机: ANALYTECH 828

4、操作步骤:

4. 1 配液: 浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水 20 倍稀释。

4. 2 编号: 将样品对应微孔按序编号, 每板应设阴性对照 3 孔, 阳性对照 2 孔和空白对照 1 孔 (用双波长检测, 可不设空白对照孔)

4. 3 加样: 分别在相应孔中加入待测样品, 阴, 阳对照 100 微升, 轻轻振荡混匀。

4. 4 温育: 用封版膜封版后, 置 37℃ 温育 60 分钟。

4. 5 洗涤: 揭掉封版膜, 用洗板机洗涤 5 遍, 最后一次尽量扣干。

4. 6 加酶标抗体: 空白对照孔不加酶标试剂, 每孔加入酶标记抗体 100 微升, 轻轻振荡混匀。

4. 7 温育: 用封版膜封板后, 置 37℃ 温育 30 分钟。

4. 8 洗涤: 揭掉封版膜, 用洗板机洗涤 5 遍, 最后一次尽量扣干

4. 9 显色: 每孔加入显色剂 A, B 液各 1 滴 (50 微升), 轻轻振荡匀, 37℃ 避光显色 30 分钟。

4. 10 终止: 每孔加终止液 1 滴 (50 微升), 轻轻振荡混匀。

4. 11 测定: 10 分钟内测定结果, 设定酶标仪波长于 450 nm (建议双波长 450 nm /600-650 nm 测定) 用空白孔调零点后测定各孔 A 值。

5: 结果判断

5. 1 目测:

在白色背景下观察各孔显色情况, 有明显黄色者为梅毒螺旋体抗体 (TP—AB) 阳性; 无色者为梅毒螺旋体抗体 (TP—AB) 阴性。

5. 2 酶标仪检测:

5. 2. 1 临界值 (CUT/OFF) 计算: 临界值=阴性对照孔 A 均值+0。

18。

5. 2. 2 阳性判定: 样品 A 值 $\geq$ 临界值(CUTOFF) 者判为 TP 阳性。

(注意: 初试阳性应重新取样双孔复试)

5. 2. 3 阴性判定: 样品 A 值<临界值 (CUTOFF) 者判为 TP 阴性。

6: 注意事项:

6. 1 本品仅用于体外诊断, 操作应按说明书严格进行. 封版膜不能重复使用, 不同批号酶标板、酶标试剂和阴阳对照不可混用, 不能与其他厂家试剂混用。

6. 2 避免在有挥发性物质及次氯酸类消毒剂 (如 84 消毒液) 的环境下操作。

6. 3 使用前请将试剂平衡至室温 (平衡 30 分钟以上) 实验前将试剂轻轻振荡混匀, 使用后立即放回 2-8℃。未用完的微孔板条与干燥剂一起用自封袋密封 2—8℃ 保存。过期试剂请勿使用。

6. 4 加样时必须使用加样器, 并经常校对加样器的准确性。加入不同样品或不同试剂组分时, 用更换加样器吸头和加样槽, 以防出现交叉污染。

6. 5 洗涤时各孔均需加满洗液, 防止孔内有游离酶不能洗净. 使用洗板机应设定 30-60 秒浸泡时间。再洗板结束后, 必须立即进行下一步, 不可使酶标板干燥。避免长时间的中断实验步骤, 以确保每孔实验条件的均一。

6. 6 结果判定必须以酶标仪读数为准。读取结果时，应擦干酶标板底部，且孔内不能有气泡。不要触碰孔底部的外壁，指印或划痕都可能影响板孔的读值。

6. 7 所有样品、废液和废弃物都应按传染物处理。终止液为硫酸，使用时必须注意安全。

6. 8 显色时必须加显色剂 A 液后再加显色剂 B 液，以免显色过低。

6. 9 由于 ELISA 反应原理的限制，本试剂检测阴性并不排除 HCV 感染的可能。检测的阳性结果必须结合临床信息进行分析。

7: 临床意义:

检测人血清或血浆中的梅毒螺旋体抗体。适用于血液的筛查及临床梅毒螺旋体抗体感染的辅助诊断。

乙肝五项操作规程

1、目的：通过对乙型肝炎病毒抗原、抗体系统的检测，用于乙肝的临床诊断，还可应用于对供血员的乙肝筛选、乙肝流行病学的调查，了解各地人群乙型肝炎感染状况。此外，还可用于乙肝疫苗免疫效果的观察。

2、方法：酶联免疫吸附试验（Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA）

试验过程大致分三个步骤：

①包被：将已知抗原或抗体通过物理吸附结合到固相载体表面，使抗原或抗体固相化。

②抗原抗体反应：先后加入被检标本和酶标记物，使之与固相抗原或抗体发生免疫反应而被结合固定，经洗涤除去游离的酶标记物。

③酶促反应：在反应体系中加入酶的相应底物，使之发生酶促反应而显色。

3. 临床意义:HBV 抗原抗体血清学标志与临床关系较为复杂，必须结合临床特点，对各项检测结果进行综合分析，必要时进行 HBV—DNA 的检测。常见的 HBV 抗原、抗体血清学标志物检测结果的分析见下表：

HBsAg	HBsAb	HBcAb		HBeAg	HBeAb	结 果分析
		IgM	IgG			
+	—	—	—	+	—	潜 伏期、 感染早 期或无 症状携 带者
+	—	+	—	+	—	急 性乙型 肝炎
+	—	+	+	+ / —	—	急 性乙型 肝炎后 期或慢 性感染
+	—	—	+	—	+	曾 感染过 HBV
—	+	—	—	—	—	感 染过 HBV 或 接种乙 型肝炎 疫苗后

乙型肝炎表面抗原 (HBsAg)

1、原理: 采用抗—HBs 包被反应板, 加入待测样本, 经孵育后, 加入抗—HBs—HRP, 当样本中存在 HBsAg 时, 该 HBsAg 与包被抗—HBs 结合并与抗—HBs—HRP 结合形成抗—HBs—HBsAg—抗—HBs—HRP 复合物, 加入 TMB 底物产生显色反应, 反之则无显色反应.

2、标本采集与处理□

2.1 受检者准备: 对于体检对象抽血前保持平时的饮食习惯, 采血前应禁食 4—6 小时.

2.2 静脉采血: 除非是卧床病人, 一般在采血时取坐位. 体位影响水分在血管内外的分布, 因此影响测定水平. 故在采血前至少应静坐 5 分钟. 一般从肘静脉取血, 使用止血带的时间不超过 1 分钟, 穿刺成功后立即松开止血带.

2.3 采血管: 一般采用血清做检验, 可以用一般洁净的塑料管或玻璃试管作为容器.

2.4 标本处理: 血清: 采血后, 室温下自然放置 1-2 小时, 待血液凝固、血块收缩后, 在于 3000 转每分钟离心 15 分钟, 吸出血清待用. 血浆: 采血后, 样本和抗凝剂轻轻颠倒混匀 6-8 次后, 充分离心, 将血浆与血细胞分离后, 吸出血浆待用.

2.5 标本接收: 接收标本时应检查标本是否符合要求 (要求密封、无溶血、无杂物)、所用试管是否正确、试管是否填写完整、并问讯采血日期, 对不合格标本应退回重采, 并填写记录.

2.6 标本储存：一般该标本应随到随做，血清和血浆标本在 2—8℃ 保存. 如需长期保存, 可在-20℃ 保存，并避免反复冻融。

3、试剂与仪器：

3.1 测定试剂：

3.1.1 生产厂商：英科新创（厦门）科技有限公司

3.1.2 批准文号：国药准字 S10910148

3.1.3 包装：48T×1、96T×1

3.1.3 试剂配置： 25 倍浓缩稀释液 40ml×1 瓶

HBsAg 微孔反应板 96 孔

HBsAg 酶结合物 6.2 ml×1 瓶

HBsAg 阳性对照 1.0 ml×1 瓶

HBsAg 阴性对照 1.0 ml×1 瓶

显色液 A、B 液 各 8.0 ml×1 瓶

终止液 7 ml×1 瓶

封板纸 5 片

说明书 1 份

3.2 测定仪器：

3.2.1 酶标仪： 上海安泰 MODEL MT—858

3.2.2 洗板机： ANALYTECH828

4、操作步骤：

4.1 配液：配制工作浓度洗涤液（以纯化水做 25 倍稀释）

4. 2 编号：将样品对应微孔按序编号(共预留阴性对照孔 3 孔、阳性对照 1 孔、建议预留空白对照 1 孔)

4. 3 加样：加入 75 微升待测样本和阴、阳性对照与反应孔中.

4. 4 温育：用封片纸覆盖反应板后，置 37℃ 温育 60 分钟.

4. 5 加酶标抗体：取出反应板，撕去封片，在已加入待测样本和阴性、阳性对照孔中加入 50 微升酶结合物。微孔振荡器或手工轻轻振荡 10 秒钟。

4. 6 温育：用封片纸覆盖反应板后，置 37℃ 温育 30 分钟。

4. 6 洗涤：

4. 6. 1 手工：扣去孔内液体，用洗涤液注满各孔，静置 20 秒，扣去洗涤液，重复 5 次在吸水纸上拍干.

4. 6. 2 洗板机：将孔内液体甩干。选择 5 次洗涤程序，洗板后在吸水纸上拍干.

4. 7 显色：每孔加入显色剂 A,B 液各 1 滴（50 微升），轻轻振荡匀，用封板纸覆盖反应板后，将反应板放置 37℃ 孵育 30 分钟。

4. 8 终止：每孔加终止液 1 滴（50 微升），混匀.

4. 9 测定：用酶标仪读数，波长 450nm。（建议使用双波长的酶标仪比色，参考波长 630nm 或 630 相近的波长）若需扣除显色剂空白，则先用显色剂空白对照孔校零，然后读取各孔 OD 值.

5: 结果判断

5. 1 目测：

在白色背景下观察各孔显色情况，有明显黄色者为乙型肝炎表面抗原（HBsAg）阳性；无色者为乙型肝炎表面抗原（HBsAg）阴性。

5. 2 酶标仪检测：

5. 2. 1 临界值(CUT/OFF) 计算：COV: Cut—off Value 参考值

PC: 阳性对照 OD 值

NCx: 阴性对照平均 OD 值.

$$NCx = (NC1 + NC2 + NC3) \div 3$$

检测有效性：NCx ≤ 0.1、PC ≥ 1.0, 则检测结果有效。

$$COV = NCx \times 100$$

S: 待测样品的 OD 值，S/COV: 待测样本和 COV 的比值。

5. 2. 2 阳性判定：样品 OD 值 S/COV ≥ 1.0 者判为 HBsAg 阳性.

5. 2. 3 阴性判定: 样品 OD 值 S/COV < 1.0 者判为 HBsAg 阴性。

6: 注意事项：

6. 1 从冷藏环境中取出时应室温平衡至室温后方可使用, 未用完的微孔条用加有干燥剂的自封袋密封保存. 在平衡试剂的同时，待测样本需平衡至室温后再行测试。

6. 2 使用前试剂应摇匀。

6. 3 显色过程必须封片. 所有封片纸不能重复使用。

6. 4 结果判断须在反应终止后 10 分钟内完成.

6. 5 严格按操作步骤进行，不同批次试剂不可混用。

6. 6 洗板机洗板是应时常检查加液头,确保其畅通无阻塞,洗板是所用的吸水纸请勿反复使用。洗板机的管路用纯化水冲洗,以防阻塞和腐蚀。

6. 7 待测样品不可用 NaN_3 防腐.

6. 8 本试剂盒应视为有传染性物质,请按传染病实验室检查规程处理。

7: 临床意义:

检测人血清或血浆样本中的乙型肝炎病毒表面抗原,用于血源筛查及临床乙型肝炎病毒感染的辅助判断。

乙型肝炎表面抗体（抗-HBs）

1、原理:采用纯化 HBsAg 包被反应板,加入待测样品,同时加入 HBsAg—HRP,如待测样品中含有抗—HBs 时,该抗—HBs 就与包被 HBsAg、HBsAg—HRP 结合形成 HBsAg—抗—HBs—HBsAg—HRP 复合物.加入 TMB 底物产生显色反应,反之就显色反应。

2、标本采集与处理□

2.1 受检者准备:对于体检对象抽血前保持平时的饮食习惯,采血前应禁食 4-6 小时。

2.2 静脉采血:除非是卧床病人,一般在采血时取坐位。体位影响水分在血管内外的分布,因此影响测定水平。故在采血前至少应静坐 5 分钟。一般从肘静脉取血,使用止血带的时间不超过 1 分钟,穿刺成功后立即松开止血带。

2.3 采血管:一般采用血清做检验,可以用一般洁净的塑料管或玻璃试管作为容器。

2.4 标本处理:血清:采血后,室温下自然放置 1-2 小时,待血液凝固、血块收缩后,在于 3000 转每分钟离心 15 分钟,吸出血清待用.血浆:采血后,样本和抗凝剂轻轻颠倒混匀 6—8 次后,充分离心,将血浆与血细胞分离后,吸出血浆待用。

2.5 标本接收:接收标本时应检查标本是否符合要求(要求密封、无溶血、无杂物)、所用试管是否正确、试管是否填写完整、并问讯采血日期,对不合格标本应退回重采,并填写记录。

2.6 标本储存：一般该标本应随到随做，血清和血浆标本在 2-8℃ 保存。如需长期保存，可在-20℃ 保存，并避免反复冻融。

3、试剂与仪器：

3.1 测定试剂：

3.1.1 生产厂商：英科新创（厦门）科技有限公司

3.1.2 批准文号：国药准字 2009 第 3400702

3.1.3 包装：48T×1、96T×1

3.1.3 试剂配置： 25 倍浓缩稀释液 40ml×1 瓶

HBsAb 包被板 96 孔

HBsAb 酶标记抗体 6.21ml×1 瓶

HBsAb 阳性对照 1.0ml×1 瓶

HBsAb 阴性对照 1.0ml×1 瓶

底物液 A、B 液 8.0ml×1 瓶

终止液 7.0ml×1 瓶

封片 2 片

说明书 1 份

3.2 测定仪器：

3.2.1 酶标仪： 上海安泰 MODEL MT-858

3.2.2 洗板机： ANALYTECH828

4、操作步骤：

4. 1 配液：浓缩洗涤液配置前充分混匀(如有结晶析出应充分溶解)，将浓缩洗涤液（20*）用蒸馏水或去离子水按 1：19 稀释后使用。

4. 2 编号：将样品对应微孔按序编号，每板应设阴阳性对照各 2 孔和空白对照 1 孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂）

4. 3 加样：分别在相应孔中加入待测样品 50 微升和阴，阳对照 50 微升及质控血清。

4. 4 加酶标抗体：空白对照孔不加酶标试剂，每孔加入酶结合物 50 微升，轻轻振荡混匀。

4. 5 温育：置 37℃ 温育 30 分钟。

4. 6 洗涤：

4. 6. 1 手工：扣去孔内液体，用洗涤液注满各孔，静置 5 秒，扣去洗涤液，重复 5 次在吸水纸上拍干。

4. 6. 2 洗板机：将孔内液体甩干。选择 4 次洗涤程序，洗板后在吸水纸上拍干。

4. 7 显色：每孔加入显色剂 A,B 液各 1 滴（50 微升），轻轻振荡匀，37℃ 避光显色 15 分钟。

4. 8 终止：每孔加终止液 1 滴（50 微升），混匀。

4. 9 测定：用酶标仪读数，取波长 450nm（建议使用双波长的酶标仪比色，参考波长 630nm）测定各孔 OD 值先用空白孔校零，然后读取各孔 OD 值。

5：结果判断

5. 1 目测:

在白色背景下观察各孔显色情况,有明显黄色者为乙型肝炎表面抗体(抗-HBs)阳性;无色者为乙型肝炎表面抗体(抗-HBs)阴性。

5. 2 酶标仪检测:

5. 2. 1 临界值(CUT/OFF)计算: $COV = \text{阴性对照平均 OD 值} \times 2.1$ 。

(阴性对照孔 OD 值低于 0.05 者按 0.05 计算,高于 0.05 按实际 OD 值计算。

5. 2. 2 阳性判定:样品的 OD 值大于或等于 COV 值时,说明 HBsAg 阳性。

5. 2. 3 阴性判定:样品 OD 值小于 COV 值时,说明为 HBsAg 阴性。

6: 注意事项:

6. 1 从冷藏环境中取出时试剂盒内全部瓶装试剂及待测标本所需微孔反应条应置 37℃应室温平衡 30 分钟方可使用,余者应及时封存于冰箱中以备后用.在平衡试剂的同时,待测样品需置室温平衡 30 分钟后在进行测试。

6. 2 使用前试剂应摇匀,并弃去 1-2 滴后垂直滴加。

6. 3 封片不能重复使用。

6. 4 结果判断须在反应终止后 10 分钟内完成。

6. 5 严格按操作步骤进行,不同批次试剂不得混用。

6. 6 待测标本不可用 NaN₃ 防腐,如需稀释标本,请用小牛血清稀释。

6. 7 本试剂盒应视为有传染性物质,请按传染病实验室检查规程处理。

乙型肝炎核心抗体（抗—HBc）

1、原理：采用基因工程重组 HbcAg 包被反应板,加入待测样品，同时加入抗—HBc—HRP，与抗原形成竞争结合，如待测样品中抗—HbcAg 含量高，则抗—HBc—HRP 与 HbcAg 结合少,加入 TMB 底物时显色淡，反之则显色深.

2、标本采集与处理□

2.1 受检者准备：对于体检对象抽血前保持平时的饮食习惯,采血前应禁食 4-6 小时。

2.2 静脉采血：除非是卧床病人，一般在采血时取坐位。体位影响水分在血管内外的分布，因此影响测定水平.故在采血前至少应静坐 5 分钟.一般从肘静脉取血，使用止血带的时间不超过 1 分钟，穿刺成功后立即松开止血带。

2.3 采血管：一般采用血清做检验，可以用一般洁净的塑料管或玻璃试管作为容器。

2.4 标本处理：血清：采血后，室温下自然放置 1-2 小时，待血液凝固、血块收缩后，在于 3000 转每分钟离心 15 分钟，吸出血清待用.
血浆：采血后，样本和抗凝剂轻轻颠倒混匀 6-8 次后，充分离心，将血浆与血细胞分离后，吸出血浆待用。

2.5 标本接收：接收标本时应检查标本是否符合要求(要求密封、无溶血、无杂物)、所用试管是否正确、试管是否填写完整、并问讯采血日期，对不合格标本应退回重采,并填写记录。

2.6 标本储存: 一般该标本应随到随做, 血清和血浆标本在 2—8℃ 保存。如需长期保存, 可在-20℃ 保存, 并避免反复冻融。

3、试剂与仪器:

3.1 测定试剂:

3.1.1 生产厂商: 英科新创 (厦门) 科技有限公司

3.1.2 批准文号: 国药准字 2008 第 3400700

3.1.3 包装: 48T×1、96T×1

3.1.3 试剂配置: 25 倍浓缩稀释液 40ml×1 瓶

HBcAb 包被板 96 孔

HBcAb 酶标记抗体 6.21ml×1 瓶

HBcAb 阳性对照 1.0ml×1 瓶

HBcAb 阴性对照 1.0ml×1 瓶

底物液 A、B 液 8.0ml×1 瓶

终止液 7.0ml×1 瓶

封片 2 片

说明书 1 份

3.2 测定仪器:

3.2.1 酶标仪: 上海安泰 MODEL MT—858

3.2.2 洗板机: ANALYTECH828

4、操作步骤:

4. 1 配液: 浓缩洗涤液配置前充分混匀(如有结晶析出应充分溶解), 将浓缩洗涤液(25*) 用蒸馏水或去离子水按 1: 19 稀释后使用。

4. 2 编号: 将样品对应微孔按序编号, 每板应设阴阳性对照各 2 孔和空白对照 1 孔(空白对照孔不加样品及酶标试剂)

4. 3 加样: 将待测样本用生理盐水 1:30 稀释。(稀释样本检测结果为临床意义; 样本原液加样, 检测结果为流行病学意义。用户可根据实际情况选择。)分别在相应孔中加入稀释样本 50 微升和阴, 阳对照 50 微升及质控血清。

4. 4 加酶标抗体: 空白对照孔不加酶标试剂, 每孔加入酶结合物 50 微升, 轻轻振荡混匀。

4. 5 温育: 置 37℃ 温育 30 分钟。

4. 6 洗涤:

4. 6. 1 手工: 扣去孔内液体, 用洗涤液注满各孔, 静置 20 秒, 扣去洗涤液, 重复 5 次在吸水纸上拍干。

4. 6. 2 洗板机: 将孔内液体甩干. 选择 4 次洗涤程序, 洗板后在吸水纸上拍干。

4. 7 显色: 每孔加入显色剂 A,B 液各 1 滴 (50 微升), 轻轻振荡匀, 37℃ 避光显色 15 分钟。

4. 8 终止: 每孔加终止液 1 滴 (50 微升), 混匀。

4. 9 测定：用酶标仪读数，取波长 450nm(建议使用双波长的酶标仪比色，参考波长 630nm)测定各孔 OD 值先用空白孔校零，然后读取各孔 OD 值。

5：结果判断

5. 1 目测：

在白色背景下观察各孔显色情况，有明显黄色者为乙型肝炎表面抗体（HBcAb）阳性；无色者为乙型肝炎表面抗体（HBcAb）阴性。

5. 2 酶标仪检测：

5. 2. 1 临界值（CUT/OFF）计算：

未稀释样品 $CUT/OFF = \text{阴性对照孔 OD 均值} \times 0.3$ 。

1:30 稀释样品 $CUT/OFF = \text{阴性对照孔 OD 均值} \times 0.5$ 。

5. 2. 2 阳性判定：样品 OD 值小于 COV, 说明该样品 HBcAb 阳性。

5. 2. 3 阴性判定：样品 OD 值大于或等于 COV，说明该样品 HBcAb 阴性。

6：注意事项：

6. 1 从冷藏环境中取出时试剂盒内全部瓶装试剂及待测标本所需微孔反应条应置 37℃ 应室温平衡 30 分钟方可使用，余者应及时封存于冰箱中以备后用. 在平衡试剂的同时，待测样品需置室温平衡 30 分钟后在进行测试。

6. 2 使用前试剂应摇匀, 并弃去 1-2 滴后垂直滴加。

6. 3 封片不能重复使用。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。

如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/806231235104010214>