

丙肝抗体 HCV ELISA

用途

丙型肝炎由丙型肝炎病毒（HCV）感染所致。但是，如果时间倒退到 1989 年，在美国人 Choo 等从受感染的黑猩猩血液标本中发现 HCV 之前，医学界一直称它为输血后或体液传播型非甲非乙型肝炎病毒。

在电镜下 HCV 为 55nm 直径的球形颗粒，去包膜后为 33nm 直径的核壳蛋白包括的核心部分，内含单股正链 RNA 基因组。基因组两侧分别为 5' 编码区和 3' 非编码区。各自编码不同功能的蛋白质。

根据核苷酸序列同源程度，可将 HCV 分为若干个基因型和亚型。一般分为 6 型。基因型分布具有明显地域性。中国大陆北方以 2a 型为主，南方以 1b 型为主。

HCV 是多变异的病毒，在同型各株间，甚至同一患者不同时期分离的克隆之间亦有差异。基因序列的差异，将导致编码产物抗原型的不同。在制备试剂方面有实际意义。

本试剂盒用于定性和半定量检测人血清中的丙肝 HCV 抗体浓度。

试剂盒组成(储存于 2-8°C)

酶标板	96wells	浓缩洗涤液(20X)	30ml
终止液	12ml	阳性对照	1vial
显色液	12ml	酶联物	12ml
样品稀释液	12ml	阴性对照	1vial

需要但未提供的材料

1. 可在 450nm 处进行读数的酶标仪；
2. 能精确吸取 10-200 μ L 的移液器；
3. 可调多道（8）移液器（50—200 μ L）；
4. 供可调多道移液器使用的试剂存放槽；
5. 洗瓶或洗板机；
6. 蒸馏水或去离子水；
7. 1 升的圆柱形量筒；
8. 血清移液器：1 和（10 或 25 mL）；
9. 移液器枪头；
10. 纸巾；
11. 计时器，用以监控温育步骤；
12. 处理池和消毒剂（例如：0.5% 次氯酸钠, 10% 家用漂白水）；

注意事项:

1. 严格按照规定的时间和温度进行温育以保证准确结果。所有试剂都必须在使用前达到室温 20-25°C。使用后立即冷藏保存试剂。
2. 洗板不正确可以导致假阳性或假阴性结果。在加入底物前确保尽量吸干孔内液体。温育过程中不要让微孔干燥掉。
3. 消除板底残留的液体和手指印，否则影响 OD 值。

4. 底物显色液应呈无色或很浅的颜色，已经变蓝的底物液不能使用。
5. 避免试剂和标本的交叉污染以免造成错误结果。
6. 在储存和温育时避免强光直接照射。
7. 平衡至室温后再打开密封袋以防水滴凝聚在冷板条上。
8. 任何反应试剂不能接触漂白溶剂或漂白溶剂所散发的强烈气体。任何漂白成分都会破坏试剂盒中反应试剂的生物活性。
9. 不能使用过期产品。
10. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。

标本收集

1. 用无菌静脉采血程序采集的新鲜血清和正确保存的血清可用在本试剂盒上。不需添加任何抗凝剂或进行预处理。避免使用溶血标本，脂质标本或微生物污染的血清。
2. 室温（20—25℃）下保存标本不要超过 8 小时。2—10℃保存血清，不超过 48 小时。如耽搁的时间更长，请在-20℃或更低的温度下保存标本。标本避免多次冻融，这样可能会损失抗体活性，产生错误结果。

准备工作

1. 试剂盒应平衡至室温再试验。
2. 20X 浓缩洗涤液用双蒸水稀释成 1X（至 600ml）。未用完的放回 2-8℃。

试验过程

1. 取出所需板条，其余仍密封放回 2-8℃。
2. 加入 100ul 阴性对照、100ul 阳性对照于相应孔中，空白孔中不加任何液体。
3. 样品孔中先加入 100ul 样品稀释液，再加入 5ul 血清样品。
4. 轻轻混匀，封住板孔，37℃ 20 分钟。
5. 洗板：甩尽孔内液体，每孔加入洗涤液 350ul，静置 30 秒后甩尽液体，在厚叠吸水纸上拍干，洗 5 次。
6. 除空白孔外，每孔加入酶联物 100ul，轻轻混匀，封住板孔，37℃ 20 分钟。
7. 洗板：甩尽孔内液体，每孔加入洗涤液 350ul，静置 30 秒后甩尽液体，在厚叠吸水纸上拍干，洗 5 次。
8. 每孔加入显色液 100ul，轻轻混匀，20-25℃ 10 分钟。
9. 每孔加入终止液 50ul，混匀，以空白孔调零，在 450nm 处读数。

结果判断

判断值=阴性对照的 OD 值× 2.1 (当阴性对照的 OD 值小于 0.05 时，以 0.05 计)

阳性：标本的 OD 值≥判断值；

阴性：标本的 OD 值<判断值。