

Human HBeAg(hepatitis B virus E Antigen) ELISA Kit

(严禁混用不同批号、不同货号试剂盒内的各组试剂，否则试剂盒无法正常工作)

货号: EH20041

规格: 96T

适用种属: Human

应用: 用于定性检测人血清或血浆中的 HBeAg。

储存条件: 2-8℃

保质期: 见试剂盒标签

实验方法: 双抗体夹心法

注: 仅供科研使用

试剂盒组件:

Item	Specifications(96T)	Storage
Micro ELISA Plate(Dismountable)	12 × 8	2-8℃/-20℃
HbeAg Positive Control	1ml×1	2-8℃
HbeAg Negative Control	1ml×1	2-8℃
Biotin- HBeAb (Concentrated, 100X)	120ul×1	2-8℃(Avoid Direct Light)
Antibody Dilution Buffer	10ml×1	2-8℃
HRP-Streptavidin(Ready to use)	10ml×1	2-8℃(Avoid Direct Light)
Sample dilution buffer	20ml×1	2-8℃
TMB substrate	10ml×1	2-8℃(Avoid Direct Light)
Stop solution	10ml×1	2-8℃
Wash buffer (25X)	30ml×1	2-8℃
Plate Sealer	3pieces	
Product Description	1 copy	

武汉菲恩生物科技有限公司.

湖北省武汉东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 1.2 期 C22 栋一层、二层

电话: 027-86697005

邮箱: sales2@fn-test.com

网址: <https://www.fn-test.cn/>

操作步骤

实验原理

该试剂盒采用双抗体夹心法原理定性检测人血清或血浆样品中 HBeAg。将 HBeAb 预包被到 96 孔板上。将待测样品和 Biotin 偶联 HBeAb 加入孔中。如果样品中含有 HBeAg，则会形成 HBeAb-HBeAg-Biotin-HBeAb 复合物。孵育后洗去未结合的成分，加入 HRP-链霉亲和素(HRP-Streptavidin)。孵育后洗去未结合的成分，再将 TMB 底物溶液添加到每个孔中进行显色（蓝色）。通过添加终止溶液终止酶-底物反应，并通过分光光度法在 450nm 的波长处测量 OD 值。

注意事项

1. 本品仅供科研使用。
2. 洗涤时各孔均须加满，防止孔口内有游离酶未能洗净。
3. 加试剂前应将试剂瓶翻转数次，使液体混匀。注意勿将试剂滴在孔壁上。
4. 终止液中含强氧化性酸，虽浓度不高，使用时仍应避免直接接触皮肤和黏膜，如不慎接触，应立即用抹布小心拭干，并用大量清水冲洗。
5. 所有样本、废液和废弃物均按传染源处理。
6. 按《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》相关规定执行，下列有关注意事项但不限于此：
 - (1)戴手套处理样本和试剂。
 - (2)不要用嘴吸样。
 - (3)不可在处理这些物品时吸烟、进食、喝饮料、美容和处理隐形眼镜。
 - (4)用消毒剂对溅出的样本和试剂进行消毒。
 - (5)按当地的有关条例来消毒和处理所有样本、试剂和潜在的污染物。
7. 封板膜使用说明：
 - (1)微孔板拆封后，在取出当天所需的微孔条后，其余微孔条可以封板膜封存避免受潮。在封存时，注意勿把封板膜粘贴到微孔条底部，以免影响其透光性。
 - (2)微孔板温育时，以封板膜覆盖孔口，可避免其它因素对实验带来的非预期的影响。
 - (3)封板膜为一次性使用物品，不可重复使用。
8. 试剂各组分在正当处理和保存的情况下至效期均保持稳定，不能使用过期的试剂盒。

试剂盒组件外所需器材和试剂

1. 酶标仪（波长：450nm）
2. 37℃ 恒温箱
3. 自动洗板机
4. 精密的单道和多道移液器以及干净的一次性枪头
5. 干净的 EP 管
6. 去离子水或蒸馏水

洗板方法

手动洗板：将微孔板中的溶液倒出，在吸收性滤纸或其他吸收性材料上中度力拍打。每孔中加入 350ul 洗液，并浸泡 1 至 2 分钟后，将洗液从板中倒出，在吸收性滤纸或其他吸收性材料上中度力拍打。

自动洗板：用自动洗板机洗板，设定洗板次数，浸泡时间及每孔洗液加样量。每孔的洗液加液量不少于 350ul。最后一次洗板后，翻转微孔板，在吸收性滤纸或其他吸收性材料上中度力拍打除去残留洗液。建议将洗板机设置为浸泡 1 分钟。

（注意：设置自动洗板机的针高度，以确保可以完全吸出液体）

武汉菲恩生物科技有限公司.

湖北省武汉东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 1.2 期 C22 栋一层、二层

电话: 027-86697005

邮箱: sales2@fn-test.com

网址: <https://www.fn-test.cn/>

样品采集和储存（通用）

- **血清：**将所有的血清样品在室温下放置 2 小时或在 2-8℃ 下放置过夜，并以大约 1000×g 离心 20 分钟，收集上清液并立即进行测定。采血管要求是一次性的，且不含热原和内毒素。
- **血浆：**使用 EDTA-Na₂ 或肝素作为抗凝剂采集血浆。采集后 30 分钟内于 2-8℃ 以 1000×g 离心 15 分钟，收集上清液并立即进行测定。应避免溶血及含高胆固醇的样品。

注意：5 天内使用的样品可以在 2-8℃ 的环境下保存，否则，必须在 -20℃ 或 -80℃ 或液氮的环境下保存，以避免失去生物活性和污染。避免多次冻融循环。溶血严重的样品不适合这个试验。

样本要求

- 1，采用人血清或血浆样本，血浆样本可以使用常规用量的肝素、枸橼酸钠、EDTA 抗凝。
- 2，样本不能用叠氮钠防腐，以免抑制酶的活性。
- 3，高血脂 高胆红素及溶血样本可能会影响试验结果的准确性，建议不使用。

试剂准备与储存

使用前，将所有试剂和样品置于室温 30 分钟。

1, 洗涤缓冲液:

用去离子水或蒸馏水（推荐电阻率为 18MΩ 的超纯水）将 30ml 浓缩洗涤液稀释至 750ml 并混匀。

2, 生物素-抗体工作液:

实验前 30 分钟内准备好，现用现配，不适合长期存放。

2.1、计算所需工作液的总体积：100ul/孔×孔数。（最好准备比总体积多 100ul-200ul 的量）

2.2、1000×g 低速离心 1 分钟，将浓缩生物素-抗体收集至管底。

2.3、用抗体稀释液按 1/100 的比例稀释浓缩生物素-抗体，充分混匀。（如将 10ul 浓缩生物素-抗体加入 990ul 抗体稀释液中）

测定步骤

1. **平衡：**将试剂盒各组分从盒中取出，平衡至室温 18-25°，微孔板开封后，剩余板条即时以自封袋封存。
2. **编号：**取所需数量微孔条固定于支架，按序编号。设置样本孔、2 个阳性对照、两个阴性对照、一个空白孔。
3. **加稀释液：**向每孔均加入 50ul 样品稀释液。
4. **加样：**分别向相应孔中加入 50ul 阴性对照、阳性对照或待测样本。轻轻混匀 30s。覆膜。
5. **温育：**置 37° C 恒温箱温育 60 分钟。
6. **洗涤：**用洗涤液充分洗涤 2 次，洗涤后扣干（不浸泡）。
7. **加抗体：**分别向每孔中加入 Biotin-HBeAb 100 μL。
8. **温育：**置 37° C 恒温箱温育 30 分钟。
9. **洗涤：**用洗涤液充分洗涤 3 次，洗涤后扣干（每次应保持 30-60 秒的浸泡时间）。
10. **加酶：**分别向每孔中加入 HRP-Streptavidin 100 μL。
11. **温育：**置 37° C 恒温箱温育 30 分钟。
12. **洗涤：**用洗涤液充分洗涤 5 次，洗涤后扣干（每次应保持 30-60 秒的浸泡时间）。

武汉菲恩生物科技有限公司.

湖北省武汉东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 1.2 期 C22 栋一层、二层

电话: 027-86697005

邮箱: sales2@fn-test.com

网址: <https://www.fn-test.cn/>

13. **显色:**每孔加底物 90uL, 轻拍混匀, 37° C 恒温箱暗置 15 分钟。
14. **终止:**每孔加入终止液 50uL, 混匀。
15. **测定:**用酶标仪单波长 450nm 或双波长 450nm/630nm 测定各孔 OD 值(用单波长测定时, 需用空白对照孔调零), 并记录结果。

阳性判断值

临界值 (Cut off) 的计算:

Cutoff (C.O.) = 阴性对照孔 OD 平均值(N) × 2.1

(当阴性对照平均 N 值小于 0.05 时, 按 0.05 计算)

检测结果的解释

结果判定

样本 OD 值 S/ C.O. ≥ 1 者, 为乙型肝炎病毒 E 抗原 (HbeAg) 阳性。

样本 OD 值 S/ C.O. < 1 者, 为乙型肝炎病毒 E 抗原 (HbeAg) 阴性。

武汉菲恩生物科技有限公司.

湖北省武汉东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 1.2 期 C22 栋一层、二层

电话: 027-86697005

邮箱: sales2@fn-test.com

网址: <https://www.fn-test.cn/>