

强直性脊柱炎 B27 检测试剂盒（磁酶联免疫法）

使用说明书（货号：PC-001）

【产品名称】

通用名称：强直性脊柱炎 B27 检测试剂盒
（磁酶联免疫法）

英文名称：HLA-B27 Assay Kit

【包装规格】

96 人份/盒

【预期用途】

适用于体外定性筛查人外周全血中白细胞中 HLA-B27 抗原的表达。

【检验原理】

本试剂盒应用磁珠分离法，在高品质磁珠上耦联 B27 抗体，与全血中白细胞上的 B27 抗原反应，同时，加入 HRP 标记的抗体联结至白细胞上。经洗涤后，磁珠上含有 B27 抗原的细胞和酶均被保留下来。加入底物液显色，终止反应后在酶标仪 450nm 读取吸光度值。

【主要组成成份】

本试剂盒包含以下组分：

1. **MICROPLAT**-包被抗体的微孔板条
(**REF**FC-01M)
孔内包被 HLA-B27 磁珠的抗体，微孔板条 6×(2×8 孔)，包装于铝箔袋中。
2. **酶结合物** (**REF**FC-01C)
含 HRP 标记的抗细胞抗体，每瓶 120μl。
3. **酶稀释液** (**REF**FC-01ED)
用于稀释酶结合物，每瓶 6ml。
4. **20×**浓缩洗液 (**REF**FC-01W)
含吐温的磷酸缓冲液，每瓶 20ml。
5. **TMB 底物** (**REF**FC-01T)
每瓶 12 ml。
6. **阳性对照品** (**REF**FC-01P)
每瓶 600μl。
7. **阴性对照品** (**REF**FC-01N)
每瓶 600μl。
8. **终止液** (**REF**FC-01H)
每瓶 6 ml。
9. **微孔板架** 1 个
10. **说明书** 1 份

【储存条件及有效期】

试剂盒储存于 2-8℃可保存至试剂盒上所标示的最后有效日期。

未使用完的微孔板条应放回至有干燥剂的铝箔袋中，将铝箔袋折好并密封于塑料封口袋中，2-8℃下可保存 8 周。

洗液开封后在室温下可保存 8 周。

【样本采集和保存条件】

EDTA-K3 抗凝的全血样本（静脉采血），已打开过的、已污染的、已溶血的、已凝结的血液样本可能引起不一致的测试结果，应避免使用。不能立即使用的样本应静置（竖立）保存于 2-8℃，不超过 5 天使用。

【额外需要的材料和设备】

1. EDTA-K3 抗凝管
2. 可调微量移液枪 0.5-10ul, 20-200ul, 八道加样枪和枪头
3. 磁板（可重复使用）
4. 振荡器
5. 计时器
6. 能够测量波长为 450nm 的酶标仪
7. 去离子水
8. 真空负压泵（可选项，洗板时使用，有助于实现洗板彻底）

【检验方法】

试剂准备

1. 取出所有试剂和待测样本，平衡至室温。
2. 对样本、阳性对照品、阴性对照品进行编号并记录。
3. 取出所需微孔板条，其余放回密封袋中封好，2-8℃保存。
4. 将酶结合物 120μl 加入至酶稀释液中，确保充分混匀。混匀后的溶液称为酶结合物溶液。
5. 用去离子水或蒸馏水稀释浓缩洗液（20: 1）。室温下保存。

检测步骤

1. 加入酶结合物溶液 50μl 至每一微孔中，轻拍板架，使磁珠分散。
2. 将抗凝管（EDTA-K3）轻轻颠倒混匀数次，按记录单中的安排分别加入样本、阳性对照品、阴性对照品各 50μl。轻拍板架数次，使磁珠和

样本充分混匀。

3. 将板架放置于振荡器上（200 转/分钟），室温下反应 10-15 分钟。
4. 加入洗液 250 μ l 后，将板架置于磁板上静置 2 分钟（一定要等散开的磁珠被磁板吸附到底部），再甩板或采用真空负压泵吸取液体。
注意：采用真空负压泵吸出洗液后，把板架从磁板上取下，用手轻叩板架边缘数次，看到磁珠散开后，再加入洗液，每次清洗皆如此重复。
5. 每孔再加入洗液 250 μ l。利用加入时的冲击力使磁珠分散，如发现有聚团，轻拍板架使磁珠分散。将板架放于磁板上，静置 2 分钟。再甩板或采用真空负压泵吸取液体。
6. 重复 5 步骤共 4 次。
7. 每孔加入 TMB 底物 100 μ l。轻拍板架使之充分混合后，室温下避光放置 15 分钟。
注：底物液易受污染，仅移取检测时所需的量，未用完的底物液须丢弃。
8. 每孔加入终止液 50 μ l。
9. 将板架置于磁板上，使磁珠吸于微孔侧壁。
10. 轻轻取下板架，在 30 分钟内将板架置于波长 450nm 下，读取吸光度值（OD）。

【参考值（参考范围）】

每个实验室应建立自己的参考范围。

1. 阳性：样本 OD 值 > 0.8。
2. 阴性：样本 OD 值 < 0.4。

【检验结果的解释】

OD 值在 0.4-0.8，请重复实验，必要时用其它方法验证。

【产品性能指标】

批内差异：≤15%

批间差异：≤15%

准确性：检测阴性和阳性对照吸光度，测试结果应在其允许范围内。

【检验方法的局限性】

诊断结果应结合患者的临床症状和医师其他的实验室的检查进行分析。

【注意事项】

1. 本试剂盒仅供人体外诊断，不得内用，须严格按照说明书进行操作。因未按说明书要求操作引起的损失及责任公司不予承担。

2. 本试剂盒包含人和/或动物来源的材料。盒中试剂应作为有潜在传染性因子来处理。储藏、操作和处理试剂应有适当的预防措施和良好的实验室操

作。试剂的处理应符合当地法令。

3. 洗板时尽量采用真空负压泵吸取液体。

4. 终止液对眼睛和皮肤有刺激。如不慎与眼接触，立刻以大量的水清洗，并寻求专业医师帮助。操作本试剂盒时请穿戴适当的防护服和手套。

5. 底物对皮肤接触或吞咽都是有害的，应穿戴适当的防护服和手套。

【参考文献】

1. 王娜，刘玉珂等，HLA—B27检测对强直性脊柱炎的诊断价值，河南科技大学学报医学版，2006年 24卷 4期，起止页码：271-272
2. Neumuller J. Schwartz DW, Dauber E. Mayr WR: Evaluation of four monoclonal antibodies against HLA-B27 typing with flow cytometry(FC): comparison with the classic microlymphocytotoxic test (MLCT). Cytometry, 1996 Sep 15;26(3):209-15
3. .Lingenfelter B, fuller TC, Hartung L, Hunter J. Wittwer C: HLA-B27 screening by flow cytometry. Cytometry. 1995 Jun 15;22(2):146-9
4. Reydndls WM. Evans PR. Lanc AC. Howell WM. Wilson PJ. Wong R. Smith JL: Automated HLA-B27 testing using the FACSPrep/FACScan system. Cytometry 1994 Jun 15. 18(2):109-15
5. Hulstaert F, Albrecht J. Hannet I. Lancaster P, Buchner L, Kunz J, Falkenrodt A, Tongio M, De Keyser F, veys EM. Noens L, Mir N, Costello C. Becker R, Strauss k: An optimized method for routine HLA-B27 screening using flow cytometry. Cytometry. 1994 Mar 15; 18(1):21-9
6. Janssen WC, Rouwen JA, Hoffmann JJ: Improved flow cytometric method for HLA-B27 typing . Ann-Clin-Biochem. 1992 Nov;29(Pt6):663-7

【生产企业】

广州菲康生物技术有限公司

地址：广州科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 907-908 房

邮编：510663

电话：020-32068533 020-32293585

400-889-1566

E-mail: phicon@phicon.com

【医疗器械生产企业许可证编号】

粤食药监械生产许 20112031 号

【医疗器械注册证书编号】

粤食药监械（准）字 2012 第 2400280 号

【产品标准编号】

YZB/粤 0676-2012

【说明书批准及修改日期】

2012 年 4 月 26 日