

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



ErbaLisa® EBV-VCA IgM

Mã catalog IME00094 (96 Tests)

Tên TTBYT: Bộ xét nghiệm định tính kháng thể IgM kháng EBV- VCA

Chủng loại: ErbaLisa® EBV-VCA IgM

Mã sản phẩm: IME00094

Quy cách đóng gói: 96 test/hộp

Hãng sản xuất: Calbiotech Inc.

Nước sản xuất: Mỹ

Hạn sử dụng: 24 tháng

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Bộ kit ELISA ERBALisa EBV-VCA IgM được dùng để phát hiện kháng thể IgM kháng EBV-VCA trong huyết thanh và huyết tương người.

TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH

Vi rút Epstein-Barr (EBV) là một vi rút trong nhóm Herpes được biết đến là nguyên nhân gây bệnh bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng (IM). Khi nhiễm EBV có thể biểu hiện nhiều triệu chứng lâm sàng. Phần lớn các ca nhiễm EBV nguyên phát lây truyền qua đường nước bọt, xảy ra khi còn là trẻ con, và là một bệnh cận lâm sàng. Ở Mỹ, 50% dân số có kháng thể EBV trước 5 tuổi; 80% có kháng thể khi trưởng thành. Các trường hợp nhiễm EBV liên quan đến truyền máu đã được báo cáo. Vi rút Epstein-Barr cũng liên quan đến cơ chế bệnh sinh của 2 loại ung thư ở người là u lympho Burkitt và ung thư vòm họng. U lympho Burkitt chủ yếu được thấy ở vùng Châu Phi cận Sahara, đặc biệt ở các trẻ em Châu Phi, và ở New Guinea. Ung thư vòm họng được thấy ở Châu Á, nhất là miền Nam Trung Quốc.

NGUYÊN LÝ CỦA XÉT NGHIỆM

Huyết thanh bệnh nhân đã pha loãng được thêm vào các giếng phủ kháng nguyên tinh sạch. Kháng thể IgM đặc hiệu, nếu có, sẽ liên kết với kháng nguyên. Tất cả các vật liệu không liên kết sẽ bị rửa trôi và cộng hợp enzyme được thêm vào để liên kết với phức hợp kháng nguyên – kháng thể (nếu có). Phần cộng hợp enzyme dư thừa sẽ được rửa trôi và thêm vào dung dịch cơ chất. Vi giếng được ủ cho phép quá trình enzyme oxy hóa cơ chất diễn ra. Cường độ màu tỉ lệ thuận với lượng kháng thể IgM đặc hiệu có trong mẫu.

CÁC THUỐC THỬ ĐƯỢC CUNG CẤP	96 Tests
Vi giếng phủ kháng nguyên EBV-VCA	12x8x1
Dung dịch pha loãng mẫu: 1 chai (sẵn dùng)	22 ml
Chất hiệu chuẩn: 1 lọ (sẵn dùng)	1 ml
Chứng dương: 1 lọ (sẵn dùng)	1 ml
Chứng âm: 1 lọ (sẵn dùng)	1 ml
Cộng hợp enzyme: 1 chai (sẵn dùng)	12 ml
Cơ chất TMB: 1 chai (sẵn dùng)	12 ml
Dung dịch dừng: 1 chai (sẵn dùng)	12 ml
Dung dịch rửa đậm đặc nồng độ 20X: 1 chai	25 ml

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



CÁC VẬT PHẨM KHÔNG ĐƯỢC CUNG CẤP

1. Nước cất hoặc nước khử ion
2. Pipet chính xác
3. Đầu côn/tip pipet dùng một lần
4. Máy đọc ELISA có thể đọc độ hấp thụ ở bước sóng 450nm
5. Giấy thấm hoặc khăn giấy
6. Giấy vẽ đồ thị

BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH

1. Bảo quản bộ kit ở 2 – 8°C.
2. Giữ kín các vi giếng trong túi khô ráo có chất hút ẩm.
3. Thuốc thử ổn định đến ngày hết hạn của bộ kit.
4. Không để thuốc thử tiếp xúc với nhiệt, ánh sáng mặt trời hoặc ánh sáng mạnh.

CẢNH BÁO VÀ THẬN TRỌNG

1. Vật liệu có khả năng gây nguy hiểm sinh học: Chất hiệu chuẩn và các mẫu chứng chứa các thành phần có nguồn gốc từ người đã được kiểm tra bằng các thuốc thử được FDA cấp phép và không phản ứng với kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B cũng như kháng thể HIV. Tuy nhiên, không có một phương pháp thử nghiệm nào có thể đảm bảo hoàn toàn rằng không có virus HIV, virus Viêm gan B hoặc các tác nhân lây nhiễm khác, do đó, các thuốc thử này phải được xử lý An toàn Sinh học ở cấp độ 2, theo khuyến cáo của Trung tâm Kiểm soát Dịch bệnh/Ấn phẩm của Viện sức khỏe quốc gia, "An toàn sinh học trong các Phòng thí nghiệm Y sinh và Vi sinh.", ấn bản năm 1984.
2. Bộ kit xét nghiệm được thiết kế để sử dụng IVD.
3. Không hút pipet bằng miệng. Không hút thuốc, ăn, hoặc uống trong các khu vực xử lý mẫu thử hoặc thuốc thử của kit.
4. Các thành phần trong bộ kit này được chỉ định để sử dụng chung với nhau. Không được trộn lẫn các thành phần của các lô khác nhau với nhau.
5. Các chất chuẩn, mẫu chứng và mẫu huyết thanh nên được chạy lặp lại hai lần.
6. Tuân thủ nghiêm ngặt quy trình này để thu được các kết quả tối ưu. Việc sử dụng pipet đúng và chính xác cũng như tuân thủ chính xác các yêu cầu về thời gian và nhiệt độ được quy định là cần thiết. Bất kỳ sự sai lệch nào từ việc này đều có thể cho kết quả không hợp lệ.

THU THẬP VÀ XỬ LÝ MẪU

1. Lấy mẫu máu và tách huyết thanh.
2. Mẫu được bảo quản lạnh ở 2–8°C trong 7 ngày hoặc hoặc trữ đông lên đến 6 tháng. Tránh đông lạnh và rã đông nhiều lần.

CHUẨN BỊ CÁC THUỐC THỬ

1. Tất cả các thuốc thử nên được đưa về nhiệt độ phòng (20-25°C) trước khi dùng.
2. Chuẩn bị dung dịch rửa nồng độ 1X bằng cách thêm lượng thể tích của chai (25 ml, 20X) vào 475 ml nước cất hoặc nước khử ion. Bảo quản ở nhiệt độ phòng (20-25°C).

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM

1. Đặt số lượng giếng có phủ kháng nguyên vào khay đỡ.
2. Mẫu chứng âm, chứng dương và chất hiệu chuẩn đã sẵn dùng. Chuẩn bị mẫu xét nghiệm pha

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



loãng theo tỉ lệ 1:21 bằng cách thêm 10 µl mẫu thử vào 200 µl dung dịch pha loãng mẫu. Trộn đều.

3. Hút 100 µl huyết thanh đã pha loãng, chất hiệu chuẩn và các mẫu chứng vào các giếng thích hợp. Đối với mẫu blank (mẫu trắng), hút 100 µl dung dịch pha loãng mẫu vào giếng ở vị trí 1A. Đập nhẹ khay đỡ để phá các bọt khí và trộn đều. Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng.
4. Đổ bỏ dịch lỏng ở tất cả các giếng. Rửa giếng 3 lần bằng 300 µL dung dịch rửa 1X. Thấm trên giấy thấm hoặc khăn giấy.
5. Hút 100 µl cộng hợp enzyme vào từng giếng và ủ trong 20 phút ở nhiệt độ phòng.
6. Đổ bỏ cộng hợp enzym trong các giếng. Rửa giếng 3 lần bằng 300 µL dung dịch rửa 1X. Thấm trên giấy thấm hoặc khăn giấy.
7. Hút 100 µl cơ chất TMB và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng.
8. Thêm 100 µl dung dịch dừng để dừng phản ứng.
9. Đọc O.D. ở bước sóng 450 nm bằng máy đọc ELISA trong vòng 15 phút. Khuyến cáo dùng bước sóng kép với bộ lọc tham chiếu là 600-650 nm

TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

1. Kiểm tra giá trị hệ số hiệu chuẩn (CF) trên chai chất hiệu chuẩn. Giá trị này có thể thay đổi tùy theo từng lô. Phải đảm bảo kiểm tra giá trị này ở mỗi bộ kit.
2. Tính toán giá trị cut-off: OD chất hiệu chuẩn x hệ số hiệu chuẩn (CF).
3. Tính toán chỉ số Ab (kháng thể) của từng xét nghiệm bằng cách chia giá trị O.D. của từng mẫu cho giá trị cut-off

Ví dụ về kết quả điển hình

OD trung bình của chất chuẩn = 0,8 Hệ số hiệu chuẩn (CF) = 0,5

Giá trị Cut-off = 0,8 x 0,5 = 0,400 O.D của Chứng dương = 1,2

Chỉ số Ab = 1,2 / 0,4 = 3 OD mẫu bệnh nhân = 1,6 Chỉ số Ab = 1,6/0,4 = 4,0

KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Việc chạy thử nghiệm có thể được xem là hợp lệ khi đáp ứng được các tiêu chí sau:

1. O.D. của chất hiệu chuẩn phải lớn hơn 0,250.
2. Chỉ số Ab của Chứng âm phải nhỏ hơn 0,9.
3. Chỉ số Ab của Chứng dương phải nằm trong khoảng giá trị được chỉ định trên COA/nhãn dán.

DIỄN GIẢI KẾT QUẢ

Nội dung dưới đây hướng dẫn diễn giải kết quả xét nghiệm; mỗi phòng xét nghiệm được khuyến khích thiết lập các tiêu chí riêng cho việc diễn giải xét nghiệm dựa trên quần thể mẫu gặp được.

Diễn giải chỉ số kháng thể

<0,9 Không phát hiện kháng thể IgM kháng EBV-VCA bằng ELISA.

0,9-1,1 Ngưỡng dương tính. Cần thực hiện thêm xét nghiệm nếu có chỉ định lâm sàng.

>1,1 Phát hiện kháng thể IgM kháng EBV-VCA bằng ELISA.

HẠN CHẾ CỦA XÉT NGHIỆM

1. Các kết quả xét nghiệm thu được khi sử dụng bộ kit này chỉ đóng vai trò hỗ trợ chẩn đoán và nên được diễn giải dựa trên bệnh sử của bệnh nhân, đặc điểm lâm sàng và các quy trình chẩn đoán khác.
2. Các mẫu tán huyết hoặc chứa lipid có thể cho kết quả sai.

ĐẶC ĐIỂM HIỆU NĂNG

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



1. **Độ nhạy và độ đặc hiệu:** 92 mẫu huyết thanh bệnh nhân được kiểm tra bằng kit ELISA EBV-VCA IgM này và một phương pháp ELISA tham chiếu. 18 mẫu huyết thanh dương tính và 72 mẫu âm tính thu được bằng cả hai phương pháp (độ tương đồng 98%). Kết quả được tóm tắt dưới đây:

	EBV-VCA IgM ELISA		
	+	-	Tổng
Kit ELISA tham chiếu +	18	1	19
-	1	72	73
Tổng	19	73	92

2. **Độ chính xác:**

Nghiên cứu trong một xét nghiệm (Intra-assay):

Huyết thanh	Số lần lặp lại	Trung bình	Độ lệch chuẩn	CV %
1	16	1,48	0,055	3,80
2	16	1,93	0,027	2,90
3	16	0,29	0,015	5,26

Nghiên cứu giữa các xét nghiệm (Inter-assay)

Huyết thanh	Số lần lặp lại	Trung bình	Độ lệch chuẩn	CV %
1	10	1,85	0,143	7,75
2	10	0,86	0,075	8,72
3	10	0,5	0,047	9,40

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gray JJ. Avidity of EBV VCA-specific IgG antibodies: distinction between recent primary infection, past infection and reactivation. J Virol Methods 1995;52(1-2):95-104.
2. Liu MT; Yeh CY. Prognostic value of anti-Epstein-Barr virus antibodies in nasopharyngeal carcinoma (NPC). Radiat Med 1998;16(2):113-7.
3. Hadar T; Margalith M; Sagiv E; Sarov B; Sarov I. The significance of serum IgM IgA and IgG antibodies specific for Epstein-Barr virus as determined by immunoperoxidase assay in the rapid diagnosis of infectious mononucleosis. Isr J Med Sci 1995;31(5):280-3.
4. Levine PH; Stemmermann G; Lennette ET; Hildesheim A; Shibata D; Nomura A. Elevated antibody titers to Epstein-Barr virus prior to the diagnosis of Epstein-Barr-virus-associated gastric adenocarcinoma. Int J Cancer 1995;60(5):642-4.
5. Debyser Z; Reynders M; Goubau P; Desmyter J. Comparative evaluation of three ELISA techniques and an indirect immunofluorescence assay for the serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection. Clin Diagn Virol 1997;8(1):71-81.