**Hướng dẫn sử dụng HEPA HBSAG STRIP**

**Mục đích sử dụng**

Que thử được dùng để phát hiện kháng nguyên HBsAg trong mẫu huyết thanh hoặc huyết tương.

**Giới thiệu**

Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (“kháng nguyên Australia”) gồm lipid, carbohydrat và các nguyên tố protein; Phần lớn các protein gồm một marker để phát hiện nhiễm virus viêm gan B mạn tính. Viêm gan B lây truyền qua đường tình dục hoặc qua đường máu tĩnh mạch và có thời gian ủ bệnh khoảng 6 tháng. Nếu không được chẩn đoán đúng và kịp thời, bệnh có thể phát triển thành nhiễm virus cấp tính hoặc mạn tính, xơ gan và viêm gan.

Xét nghiệm này rất hữu ích cho việc sàng lọc người hiến máu tình nguyện, để phát hiện liệu người hiến máu có dương tính với kháng nguyên HbsAg trước khi lấy máu.

**Nguyên lý**

Hepa HBsAg Strip là xét nghiệm định tính dựa vào nguyên lý miễn dịch sắc ký sandwich. Que thử có thành phần gồm cộng hợp vàng kháng thể đơn dòng và một pha rắn kháng thể đơn dòng có liên kết chọn lọc với kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B với độ nhạy cao.

Xét nghiệm HbsAg là xét nghiệm sắc ký miễn dịch một bước dựa vào nguyên lý bắt giữ kháng nguyên hoặc nguyên lý “Sandwich”. Phương pháp sử dụng kháng thể đơn dòng liên kết với keo vàng và kháng thể đơn dòng bất động trên màng nitrocellulose ở vạch màu. Mẫu xét nghiệm di chuyển dọc theo đệm hấp thụ đã được tẩm các thuốc thử phát hiện. Nếu mẫu có chứa kháng nguyên HbsAg, cộng hợp vàng kháng thể (chuột) sẽ liên kết với kháng nguyên, hình thành phức hợp cộng hợp vàng – kháng thể - kháng nguyên. Phức hợp sau đó di chuyển theo màng nitrocellulose nhờ lực hút mao dẫn, và dừng lại ở vùng kháng thể bất động hình thành vạch màu tím hồng. Việc hình thành vạch màu tím hồng đầu tiên ( Vạch thử) cho biết dương tính với virus viêm gan B. Để kiểm định quy trình xét nghiệm, một vạch khác chứa kháng thể IgG dê kháng chuột bất động trên que thử. Nếu xét nghiệm được tiến hành chính xác, xét nghiệm sẽ cho kết quả hình thành vạch màu tím hồng trên vạch chứng.

**Đóng gói**

Hepa HBsAg Strip: 50 test; 100 test

**Thận trọng**

* Hepa HBsAg Strip chỉ được sử dụng cho mục đích chẩn đoán in vitro
* Xử lý tất cả các mẫu như là các tác nhân nhiễm khuẩn. Sau khi hoàn thành quy trình xét nghiệm, tẩy trùng các dụng cụ thủy tinh bằng dung dịch natri hypochloride 0,5% hoặc 1% trong 1 giờ trước khi xử lý.
* Tránh tiếp xúc với tay và mắt hoặc mũi trong xuất quá trình lấy mẫu và xét nghiệm.

**Bảo quản và Độ ổn định**

Hepa HBsAg Strip phải được bảo quản ở 4-40ºC. Que thử có thể bảo quản ở nhiệt độ phòng nhưng không vượt quá 40ºC trong túi nhôm hàn kín. Hạn dùng hoặc ngày hết hạn được in trên vỏ hoặc in trên thùng giấy. Kit xét nghiệm phải được giữ tránh ánh sáng trực tiếp, độ ẩm và nhiệt độ nóng.

**Lấy mẫu và Bảo quản**

Hepa HBsAg Strip được tiến hành với mẫu huyết thanh hoặc huyết tương. Khuyến cáo xét nghiệm phải được tiến hành ngay sau khi lấy mẫu máu và phân tách huyết thanh. Kháng nguyên HbsAg không bền với nhiệt. Mẫu huyết thanh có thể được bảo quản ở 2-8ºC sau khi lấy mẫu lên tới 3 ngày hoặc bảo quản lâu hơn khi mẫu được bảo quản ở nhiệt độ đông băng (-20ºC).

Mẫu chứa chất kết tủa, có thể có vấn đề, đã biết khi được thực hiện trong quy trình sắc ký. Và do đó, phải được làm trong hoặc ly tâm hoặc lọc. Nếu que thử cho thấy hiện tượng di chuyển chậm trên màng sắc ký cho thấy mẫu xét nghiệm có vấn đề. Nên xét nghiệm lại với một mẫu mới hoặc mẫu pha loãng.

**Quy trình xét nghiệm**

1. Mang mẫu xét nghiệm và que thử Hepa HBsAg Strip về nhiệt độ phòng trước khi tiến hành xét nghiệm.
2. Lấy ống nghiệm 8 x 75 mm để thẳng đứng, dùng pipet lấy khoảng 200µl mẫu xét nghiệm trực tiếp vào ống xét nghiệm. Tránh làm ướt thành bên trong ống nghiệm, vì các giọt nước vào thành ống nghiệm có thể làm cho que thử bị ướt ở vùng vạch thử.
3. Lấy que thử ra khỏi túi nhôm và đặt vào ống nghiệm cho đến khi vạch mũi tên  trên que thử và mảng đệm mẫu ở phía dưới.
4. Để que thử thẳng đứng trong mẫu xét nghiệm cho đến khi nhìn thấy vạch chứng (phần phía trên của Vùng phản ứng) được thực hiện đầy đủ. Để phản ứng xảy ra trong vòng 20 phút.
5. Đọc kết quả trong vòng 10 đến 20 phút, phản ứng dương tính mạnh sẽ quan sát thấy trong vòng 5 phút.
6. Nếu kết quả âm tính hoặc nghi ngờ, và nghi ngờ nhiễm HBV, phải tiến hành lại xét nghiệm bằng mẫu xét nghiệm huyết thanh mới.
7. Với tất cả các xét nghiệm chẩn đoán, chẩn đoán lâm sàng xác định không chỉ dựa vào kết quả của một xét nghiệm đơn, mà còn dựa vào việc nhận định kết quả của các bác sĩ sau khi có kết quả lâm sàng và các kết quả cận lâm sàng.

**Nhận định kết quả**



* **Âm tính:** Nếu chỉ xuất hiện một vạch phân biệt màu tím hồng ở phía trên Vùng phản ứng (vạch chứng), kết quả xét nghiệm được cho là âm tính.
* **Dương tính:** Nếu xuất hiện một vạch phân biệt màu tím hồng ở phía dưới ( Vạch thử) và ở phía trên (Vạch chứng) ở vùng Vạch phản ứng. Kết quả xét nghiệm dương tính cho biết mẫu có chứa Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B. Sự khác biệt mật độ màu có thể xảy ra giữa vạch thử và vạch chứng nhưng điều này không ảnh hưởng đến việc nhận định kết quả.

**Độ nhạy**

Hepa HBsAg Strip có thể phát hiện Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B trong mẫu huyết thanh hoặc huyết tương ở nồng độ thấp hơn 0,5 ng/ml (sau 20 phút).

**Giới hạn**

Xét nghiệm chỉ cho biết sự xuất hiện hoặc không xuất hiện của kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B trong mẫu và cần cân nhắc các triệu chứng lâm sàng khác trước khi đưa ra quyết định chẩn đoán cuối cùng. Các xét nghiệm khác, sử dụng các phương pháp lâm sàng có sẵn (cùng với lặp lại xét nghiệm Hepa HBsAg Strip) được yêu cầu, nếu xét nghiệm Hepa HBsAg Strip cho kết quả âm tính trong khi các triệu chứng lâm sàng vẫn tồn tại.

**Đặc tính hiệu năng**

Xét nghiệm Hepa HBsAg Strip của nhà sản xuất Reckon Diagnostics được đánh giá so với xét nghiệm EIA đã được FDA phê chuẩn.

Để thiết lập độ nhạy và độ đặc hiệu của kit xét nghiệm Hepa HBsAg Strip, 860 mẫu xét nghiệm được đánh giá. Các mẫu huyết thanh thu được từ nhiều nguồn khác nhau. Hầu hết các mẫu thu được ở các cơ sở hiến máu tình nguyện.

Xét nghiệm được tiến hành theo quy trình trong hướng dẫn sử dụng.

Chi tiết dữ liệu được cho trong bảng bên dưới:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | Reckon Diagnostics Hepa HBsAg Strip  |
|  |  | Dương tính | Âm tính | Tổng số |
| Kết quả EIA đã được phê chuẩn bởi FDA | 190 | 189 | 1 | 190 |
| Âm tính | 670 | 2 | 668 | 670 |
| Tổng số mẫu | 860 |  |  | 860 |

Độ nhạy = (Số kết quả dương tính thật – Số kết quả âm tính giả) x 100/ Kết quả dương tính thật = 99,5%.

Độ đặc hiệu = (Số kết quả âm tính thật – Số kết quả dương tính giả) x 100/Kết quả âm tính thật = 99,7%.

**Độ chính xác** = (Kết quả dương tính thật + Kết quả âm tính thật) x 100/Tổng số bệnh nhân = 99,6%.

**Hạn sử dụng**

24 tháng kể từ ngày sản xuất

**Nhà sản xuất:** Reckon Diagnostics Pvt Ltd - 3/7, Industrial Estate, Gorwa, Vadodara – 390016, Gujarat, India

**Tài liệu tham khảo**

1. MILICH D.R., Immune response to the hepatitis B Virus: infection, animal models, vaccination, VIRAL HEPATITIS, 1997, 3, 63-103
2. HOLLINGER F.B., Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition. Lippincott - Raven Publishers, Philadelphia. 1996, 2739-2807
3. BLUMBERG B.S., ALTER H.J., VISNICH S. JAMA. A “New” Antigen in Leukemia Sera, 1965, 191. 541-546.
4. PRINCE A.M., An antigen detected in blood during the incubation period of serum hepatitis. Proc Natl Acad. Sci. USA, 1968, 60. 814-821.