**Hướng dẫn sử dụng HCV STRIP**

**(huyết thanh/huyết tương)**

**Mục đích sử dụng**

Xét nghiệm HCV Strip (mẫu huyết thanh/huyết tương) là xét nghiệm sắc ký miễn dịch dòng chảy chậm sandwich được dùng để phát hiện định tính kháng thể (IgG, IgM và IgA) kháng virus viêm gan C (HCV) trong mẫu huyết thanh hoặc huyết tương người. Xét nghiệm được sử dụng như một xét nghiệm sàng lọc và được dùng để hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm virus viêm gan C. Bất kỳ mẫu xét nghiệm nào phản ứng với que thử HCV phải được khẳng định với các phương pháp xét nghiệm thay thế và các kết quả trên lâm sàng.

**Giới thiệu**

Virus viêm gan C (HCV) là một virus RNA chuỗi đơn, có vỏ, và nhỏ. Kháng thể kháng virus viêm gan C được tìm thấy ở trên 80% bệnh nhân đã biết bị viêm gan không phải viêm gan A, không phải viêm gan B. Các phương pháp thông thường không thành công trong việc phân lập virus khi nuôi cấy tế bào hoặc quan sát bằng kính hiển vi. Việc nhân bản gen của virus được làm để phát triển các xét nghiệm huyết thanh học sử dụng các kháng nguyên tái tổ hợp. So sánh với xét nghiệm EIA HCV thế hệ đầu sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp chuỗi đơn, kháng nguyên đa chuỗi sử dụng protein tái tổ hợp và/hoặc các peptide tổng hợp đã được thêm vào trong các xét nghiệm huyết thanh học mới để tránh phản ứng chéo không đặc hiệu và để tăng độ nhạy của xét nghiệm kháng thể HCV. Xét nghiệm tối ưu kết hợp kháng nguyên tái tổ hợp để phát hiện chọn lọc các nồng độ đã được đánh giá của kháng thể kháng HCV trong mẫu huyết thanh hoặc huyết tương.

**Nguyên lý**

HCV STRIP (mẫu huyết thanh/Huyết tương) là xét nghiệm sắc ký miễn dịch dòng chảy dựa vào nguyên lý kép kháng nguyên – sandwich. Màng que thử được phủ trước kháng nguyên tái tổ hợp HCV (lõi, NS3, NS4, NS5) ở vùng vạch thử trên que thử.

Trong quá trình xét nghiệm, mẫu huyết thanh hoặc huyết tương phản ứng với cộng hợp vàng kháng nguyên HCV ( lõi, NS3, NS4, NS5). Hỗn hợp di chuyển lên màng theo nguyên lý sắc ký nhờ lực mao dẫn để phản ứng với kháng nguyên tái tổ hợp HCV trên màng và tạo thành vạch màu tím hồng ở vùng vạch thử. Sự xuất hiện của vạch màu tím hồng này cho biết kết quả xét nghiệm dương tính, trong khi không xuất hiện vạch thử cho kết quả âm tính. Để kiểm định quy trình xét nghiệm, một vạch khác chứa kháng thể IgG dê kháng chuột được bất động trên que thử. Nếu xét nghiệm được tiến hành chính xác, sẽ hình thành vạch màu tím hồng khi tiếp xúc với cộng hợp ở vùng vạch chứng.

**Trình bày**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **25 test** | **50 test** |
| Que thử HCV | 25 que thử | 50 que thử |
| Dung dịch đệm | 1 lọ | 1 lọ |

**Thận trọng**

* Chỉ sử dụng cho chẩn đoán in vitro được thực hiện bởi chuyên viên. Không sử dụng sau ngày hết hạn.
* Không sử dụng que thử nếu túi nhôm bị rách hoặc hỏng.
* Chỉ sử dụng que thử một lần. Không tái sử dụng dưới bất kỳ hình thức nào.
* Xử lý tất cả các mẫu như là các tác nhân có thể gây nhiễm khuẩn. Tuân thủ thận trọng theo quy định của các tác nhân vi sinh vật lây nhiễm trong quá trình xét nghiệm và tuân thủ đúng quy trình xét nghiệm đối với các mẫu sử dụng một lần.
* Mặc quần áo bảo hộ, đi găng tay bảo hộ và đeo kính khi tiến hành xét nghiệm.
* Độ ẩm và nhiệt độ có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

**Bảo quản và Độ ổn định**

HCV 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**

HCV 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. 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).

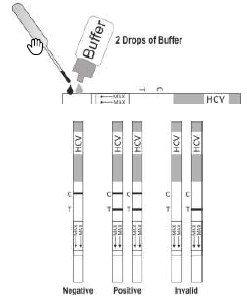
Mẫu chứa chất kết tủa, có thể có vấn đề, đã biết khi được thực hiện trong quy trình sắc ký. Và do đó, phải được làm trong hoặc ly tâm hoặc lọc. Nếu que thử cho thấy hiện tượng di chuyển chậm trên màng sắc ký cho thấy mẫu xét nghiệm có vấn đề. Nên xét nghiệm lại với một mẫu mới hoặc mẫu pha loãng.

**Quy trình xét nghiệm**

1. Mang que thử, mẫu xét nghiệm, dung dịch đệm và/hoặc Chứng về nhiệt độ phòng (15-30ºC) trước khi tiến hành xét nghiệm.
2. Lấy que thử ra khỏi túi nhôm và sử dụng sớm nhất có thể. Kết quả đúng nhất thu được nếu xét nghiệm được tiến hành trong vòng 1 giờ.
3. Để que thử lên bề mặt phẳng và sạch. Giữ ống nhỏ giọt thẳng đứng và nhỏ một giọt mẫu huyết thanh hoặc huyết tương (khoảng 30µl) vào đệm mẫu sau đó nhỏ 2 giọt dung dịch đệm (khoảng 75µl) ngay. Tránh tạo thành bọt khí. Xem hình minh họa phía dưới.
4. Đọc kết quả trong 15 phút. Không nhận định kết quả sau 20 phút.

**Nhận định kết quả**

* **Âm tính:** Nếu chỉ xuất hiện một vạch phân biệt màu tím hồng ở phía trên Vạch chứng C, kết quả xét nghiệm được cho là âm tính.
* **Dương tính:** Nếu xuất hiện một vạch phân biệt màu tím hồng ở vùng Vạch thử (T) và một vạch màu tím hồng ở vùng vạch chứng (C), kết quả được nhận định là dương tính, cho biết mẫu xét nghiệm có chứa kháng thể kháng virus viêm gan C. Nhận định kết quả xét nghiệm không thay đổi dù có sự khác nhau về cường độ màu ở vạch chứng và Vạch thử cho kết quả dương tính được thấy trong nhiều lần xét nghiệm.
* **Không có giá trị:** Không xuất hiện vạch màu hồng tím ở cả hai vùng vạch thử và vạch chứng hoặc không xuất hiện vạch màu hồng tím ở vùng vạch chứng cho biết quy trình xét nghiệm không đúng và/hoặc thuốc thử xét nghiệm có lỗi. Cần lặp lại xét nghiệm với một que thử mới.



**Giới hạn xét nghiệm**

1. HCV Strip (mẫu huyết thanh/huyết tương) chỉ được sử dụng cho chẩn đoán in vitro. Xét nghiệm được dùng để phát hiện kháng thể kháng HCV trong mẫu huyết thanh hoặc huyết tương.
2. HCV Strip (Mẫu huyết thanh/Huyết tương) chỉ cho biết sự xuất hiện của kháng thể kháng HCV trong mẫu xét nghiệm và không được sử dụng như là tiêu chuẩn duy nhất cho chẩn đoán nhiễm virus viêm gan C.
3. Cũng như tất cả các xét nghiệm chẩn đoán khác, tất cả các kết quả phải được cân nhắc cùng các thông tin trên lâm sàng của bác sĩ. Nếu kết quả xét nghiệm âm tính và các triệu chứng trên lâm sàng vẫn tồn tại, phải tiến hành thêm xét nghiệm sử dụng các phương pháp khác trên lâm sàng. Kết quả xét nghiệm âm tính tại một thời điểm không loại trừ khả năng nhiễm virus viêm gan C.
4. Kết quả âm tính có thể xảy ra nếu nồng độ kháng thể kháng HCV trong mẫu ở dưới giới hạn phát hiện của xét nghiệm, hoặc kháng thể có thể phát hiện được không có trong giai đoạn nhiễm bệnh khi lấy mẫu.
5. Một số mẫu chứa nồng độ cao kháng thể dị hợp bất thường hoặc yếu tố dạng thấp có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

**Đặc tính hiệu năng**

Xét nghiệm HCV 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 HCV Strip, 901 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:

**Độ nhạy và Độ đặc hiệu:**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | **Reckon Diagnostics** | | |
|  |  | Dương tính | Âm tính | Tổng số |
| Kết quả EIA đã được phê chuẩn | 194 | 193 | 1 | 194 |
| Âm tính | 707 | 2 | 705 | 707 |
| Tổng số mẫu | 901 |  |  | 901 |

Độ nhạy tương đối = (Số kết quả dương tính thật – Số kết quả âm tính giả ) x 100/ Kết quả dương tính thật = 99,4%.

Độ đặc hiệu tương đối = ( số kết quả âm tính thật – Số kết quả dương tính giả) x 100/Kết quả âm tính thật = 99,8%.

**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. Choo, Q.L., G.Kuo,A.J. Weiner, L.R. Overby,D.W. Bradley, andM. Houghton. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome Science 189;244:359.
2. Kuo, G., Q.L. Choo, H.J. Alter, and M. Houghton. An assay for circulating antibodies to a major etiologic Virus of human non-A, non-B hepatitis. Science 1989; 244:362.
3. Van der Poel, C.L., H.T.M. Cuypers, H.W. Reesink, and P.N. Lelie Confirmation of hepatitis C Virus infection by new four- antigen recombinant immunoblot assay. Lancet 1991;337:317.
4. Wilber, J.C.Development and use of laboratory tests for hepatitis Cinfection: a review.J. Clin. Immunoassy 1993;16:204.B20312-02.