

產品型號：TM-0001E



版本 3.0



供體外診斷使用

For *In Vitro* Diagnostic

衛署醫器製字第 001994 號

台塑抗伊畢氏病毒免疫球蛋白 A 酵素免疫檢驗試劑 MediPro anti-EBV IgA ELISA

效能：利用酵素免疫檢驗法，進行人類血清中抗 EB 病毒之免疫球蛋白 A 的測定。

96 Tests



台塑生醫科技股份有限公司

FORMOSA BIOMEDICAL TECHNOLOGY CORP.

簡易操作流程圖：

操作前準備:

1. 將所有試劑及檢體放置室溫回溫
2. 將 20 倍濃縮洗滌液以試劑等級水**稀釋 20 倍**
3. 將待測檢體震盪混勻後以血清稀釋液稀釋：**10 μ l 血清 + 1 ml 血清稀釋液**

操作步驟:

取出所需量之條狀試孔置於試孔條框架內

↓
分別加入 **100 μ l** 的血清稀釋液空白組、對照品 ABCN，及**稀釋過**的血清檢體

100 μ l

↓
37°C 培育 60 分鐘

60 分鐘

↓
將試孔內的液體吸乾或甩乾

↓
加入 280-300 μ l 的 1 倍洗滌液，並將試孔內的液體吸乾或甩乾。重複此洗滌步驟共三次

洗滌

↓
分別加入 **100 μ l** 抗體酵素結合體

100 μ l

↓
37°C 培育 30 分鐘

30 分鐘

↓
將試孔內的液體吸乾或甩乾

↓
加入 280-300 μ l 的 1 倍洗滌液，並將試孔內的液體吸乾或甩乾。重複此洗滌步驟共三次

洗滌

↓
分別加入 **100 μ l** 呈色液 TMB

100 μ l

↓
37°C 培育 10 分鐘

10 分鐘

↓
分別加入 **100 μ l** 反應終止液 1N HCl

100 μ l

↓
微孔盤測讀機判讀結果

OD_{450/650}

台塑抗伊畢氏病毒免疫球蛋白 A 酵素免疫檢驗試劑

MeDiPro anti-EBV IgA ELISA

效能：

利用酵素免疫檢驗法，進行人類血清中抗 EB 病毒之免疫球蛋白 A 的測定。

類別：

本試劑限由醫師或檢驗師使用。

簡介：

Epstein-Barr (EB) 病毒是人類疱疹病毒的一種，人類感染之後會引發許多疾病，包括：感染性單核白血球增多症 (infectious mononucleosis)、勃吉特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma) 和鼻咽癌 (Nasopharyngeal carcinoma)。

鼻咽癌是惡性腫瘤的一種，好發於包括廣西、廣東、台灣、香港及新加坡、馬來西亞等地的華人。跟其他的癌症一樣，初期鼻咽癌的治療效果很好，因此，開發可於鼻咽癌初期檢測的檢驗試劑即為相當重要之工作。由文獻上已知大部份鼻咽癌病患的血清中，具有高效價的抗 EB 病毒相關抗原之 IgA 或 IgG 抗體。其他研究中也指出血清中抗 EB 病毒的 VCA 抗原和 EA 抗原的 IgA 效價提高與鼻咽癌的發生有關 (Henle *et al.*, 1976)。而在鼻咽癌的患者血清之中也可以偵測到抗 EB 病毒 MA 抗原的 IgA 和 IgG 抗體的存在 (Zhu *et al.*, 1986)。

雖然以免疫螢光染色法檢測抗 VCA 的 IgA 抗體的方式已經被廣泛採用來作為篩檢鼻咽癌的方法，但經研究指出以酵素免疫檢驗法檢測抗 EA 抗原和 EBNA-1 抗原的 IgA 方式，其專一性和敏感度都較免疫螢光染色法為高 (Fones-Tan *et al.*, 1994)。

MeDiPro anti-EBV IgA ELISA 為本公司與長庚大學研究團隊合作研發，以酵素免疫檢驗法檢測並定量人體血清中抗 EB 病毒之 EA 和 EBNA-1 抗原的 IgA 抗體濃度，對於鼻咽癌的檢測有良好的關聯性。

原理：

MeDiPro anti-EBV IgA ELISA 是以血清檢體與覆披有 EB 病毒之 EA 及 EBNA-1 抗原之試孔進行反應。在加入抗人類 IgA 抗體酵素結合體之後，血清檢體中之人類抗 EB 病毒 IgA 會接合於試孔內，形成抗原-人類抗體-抗體-酵素之複合物，若檢體中無抗 EB 病毒 IgA 則不會有此結合體存在於試孔之中。經洗滌除去檢體和未接合之結合體後，加入含 TMB 之呈色液至試孔內，含抗 EB 病毒 IgA 之試孔，因含有抗體酵素結合體會顯示藍色，再加入含鹽酸之反應終止液終止酵素反應後即轉變成黃色。顏色深度可以於微孔盤測讀機中判讀，以已知濃度之對照品與所測讀之 OD 值可繪出抗 EB 病毒 IgA 濃度與 OD 值之標準曲線圖。對照此標準曲線圖即可定量計算出未知檢體血清中之抗 EB 病毒 IgA 濃度。

試劑內容：

1. ELISA 微孔盤 (ELISA Plate)：8 孔試孔條×12 條，覆被有 EB 病毒之 EA 及 EBNA-1 抗原
2. 抗體酵素結合體 (Conjugate)：抗人類 IgA 免疫球蛋白與辣根過氧化酵素結合體：一瓶，12 ml
3. 20 倍濃縮洗滌液 (Washing Solution, 20×)：一瓶，50 ml
4. 血清稀釋液 (Serum Diluents)：二瓶，各 50 ml
5. 陽性對照品 A (Positive Control A；128 EU/ml)：一管，800 μ l
6. 陽性對照品 B (Positive Control B；32 EU/ml)：一管，800 μ l

7. 陽性對照品 C (Positive Control C ; 8 EU/ml) : 一管, 800 μ l
8. 陰性對照品 (Negative Control ; 2 EU/ml) : 一管, 800 μ l
9. 呈色液 TMB (Substrate ; TMB) : 一瓶, 12 ml
10. 反應終止液 1N HCl (Stop Solution ; 1N HCl) : 一瓶, 12 ml
11. 微孔盤封膜 : 一張
12. 說明書 : 一份

其他需自備材料 :

1. 適當容量之多管式微量吸管 (25-200 μ l)
2. 25-1000 μ l 之微量吸管
3. 可維持溫度於 $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 之水浴槽或培養箱
4. 微孔盤測讀機 (可測讀 450 nm 和 650 nm 波長)

注意事項 :

1. 實驗安全性 :

- 1) 本試劑僅供醫師或檢驗師於體外診斷使用。
- 2) 有關潛在危險成分之資料請參閱製造商之安全須知及產品標示。
- 3) 包含檢體、陽性及陰性對照品等生物來源之物質, 都必須視為具感染性物質處理。雖然對照品已經過認可的方法檢測確認無人類免疫缺乏病毒 (HIV) 抗體、C 型肝炎病毒抗體及 B 型肝炎病毒表面抗原 (HBsAg) 的存在, 但仍必須遵守良好的實驗室規範處理此類物質, 以避免皮膚的接觸或是吸入。
- 4) 不可以口操作吸管。避免試劑與皮膚和粘膜的接觸, 及試劑的潑灑或揮發。
- 5) 實驗操作區域請勿飲食或吸菸。
- 6) 實驗操作過程中請穿戴拋棄式手套, 操作完畢請將手套丟棄於生物感染性廢棄物區, 並徹底洗手。
- 7) 若不慎潑灑, 以 1% 過氯酸鈉溶液或是家用漂白劑的 1 至 5 倍稀釋液擦拭, 已污染之物質必須丟棄於生物感染性廢棄物區。
- 8) 將所有檢體及用畢之試劑丟棄於生物感染性廢棄物區, 建議以 121°C 高壓滅菌一小時後再進行焚化。液態廢棄物建議以等量之 5% 過氯酸鈉溶液或家用漂白液混合後靜置至少一小時方式處理。
- 9) 血清稀釋液及 20 倍濃縮洗滌液中含有 0.05% Thimerosal 防腐劑, 可經由皮膚吸收, 為一種致敏劑, 請小心使用。
- 10) 呈色液 TMB 中含有四甲基聯苯胺 (Tetramethylbenzidine)、過氧化氫及二甲基亞砜 (DMSO), 請依規定處理。
- 11) 反應終止液中含有鹽酸, 在使用或拋棄時請穿戴拋棄式手套及護目鏡。

2. 檢測性能 :

- 1) 若試劑已超過保存期限, 請勿使用。**不同批號之試劑不可混合使用或與他廠之試劑混合使用。**本試劑組所附之血清稀釋液僅限在本試劑組中使用。
- 2) 請避免微生物污染試劑, 微生物的污染可能會影響檢測的敏感度。當不使用時, 請將所有試劑及內容物置於 2 至 8°C 冷藏保存。
- 3) 請勿將瓶蓋或瓶塞互換, 如此將可能會導致試劑間的交叉污染。
- 4) 請將呈色液 TMB 避光保存, 請在使用時取適量進行操作, 若目視 TMB 呈藍色時請勿使用。已取出褐色瓶外之 TMB 切勿回收使用以免影響檢測結果。
- 5) 為避免可能影響檢測的物質干擾, 請使用試劑等級水 (無菌水或去離子水) 稀

釋濃縮洗滌液。

試劑保存：

1. 請將試劑套組或個別試劑瓶蓋鎖緊置於 2 至 8°C 冷藏。
2. 開封後未使用之試孔條必須放回原鋁箔包裝中與所提供之乾燥劑一起密封，並置於 2 至 8°C 冷藏保存。
3. 將 1 倍洗滌液置於室溫（低於 25°C）保存，最多可維持二週。
4. 避免使用自動除霜冰箱儲存試劑或樣本。

操作前準備：

1. 本試劑平日應儲存於 2~8°C，操作前取出所需試劑及檢體回溫到室溫 21-25°C 並混合均勻。不可使用已超過標示保存期限的試劑。
2. 操作前應將所有試劑、需用儀器及檢體準備好，試驗一旦開始不應該受到干擾暫停或終止，以免影響結果。
3. 濃縮洗滌液以試劑等級水稀釋 20 倍。例如：10 ml 濃縮洗滌液+190 ml 試劑等級水，可供單次手動標準操作檢驗 96 例使用。如本套組需分多次使用，請每次取適量濃縮洗滌液配製。
4. 所有的血清檢體及對照品在操作前須先震盪混勻。
5. 每次操作前，所有待測血清檢體須先以試劑所附之「血清稀釋液」稀釋（10 µl 血清 + 1 ml 血清稀釋液）；手動進行稀釋時，建議先將血清稀釋液加入試管後再加入血清檢體。而對照品則不需稀釋，直接使用。

操作步驟：

1. 取出需要量之試孔條，置於試孔條框架內。
2. 分別在試孔內加入 100 µl 不含血清的血清稀釋液（空白組）、陰性對照品、陽性對照品 A、B、C 及稀釋過的血清檢體。建議以上皆二重複。
3. 貼上封膜。於 37°C 下培育 60 分鐘。
4. 將試孔內的液體吸乾或甩乾。加入 280-300 µl 稀釋後的 1 倍洗滌液，將試孔內液體吸乾或甩乾後，將微孔盤底面向上於紙巾上拍乾所有液體。重複洗滌步驟二次（總共三次），若使用自動化洗滌設備，重複洗滌步驟四次（總共五次）。

****注意事項：**在步驟四及步驟七中，不足或是過量的洗滌將會造成結果的差異及可信度。因此，建議在使用半自動或自動設備時，將滴注體積設為可完全充滿試孔的體積（280-300 µl）可得到最佳結果。自動設備必須總共進行五次洗滌步驟。在最後一次洗滌後，是否完全移除洗滌液將會嚴重影響檢測的準確度。同時也必須以目視確認在試孔中沒有氣泡存在。

5. 然後於每一試孔加入 100 µl 抗體酵素結合體。
6. 貼上封膜。於 37°C 下培育 30 分鐘。
7. 重複步驟四，將試孔內的液體吸乾或甩乾。以稀釋後之 1 倍洗滌液洗滌試孔三次（自動或半自動設備五次）。
8. 再於每一試孔加入 100 µl 呈色液 TMB。
9. 貼上封膜。於 37°C 下培育 10 分鐘。
10. 每一試孔加入 100 µl 之反應終止液（1N HCl）終止反應。在微孔盤外側輕敲使試孔內液體混合。
11. 於微孔盤測讀機判讀結果（OD_{450nm-650nm}）。微孔盤請在加入反應中止液後半小時內進行測讀。

試劑品質管制原則：

若對照組符合下列標準，分析結果即為有效。

1. 空白對照組之OD_{450nm-650nm}平均值 < 0.05
2. 對照組之OD_{450nm-650nm}平均值：
 - 陽性對照品 A > 1.50
 - 陽性對照品 C > 0.30
 - 陰性對照品 < 0.2

所有對照組之OD_{450nm-650nm}須落於上述範圍內，否則此次測定應視為無效，實驗需重複。

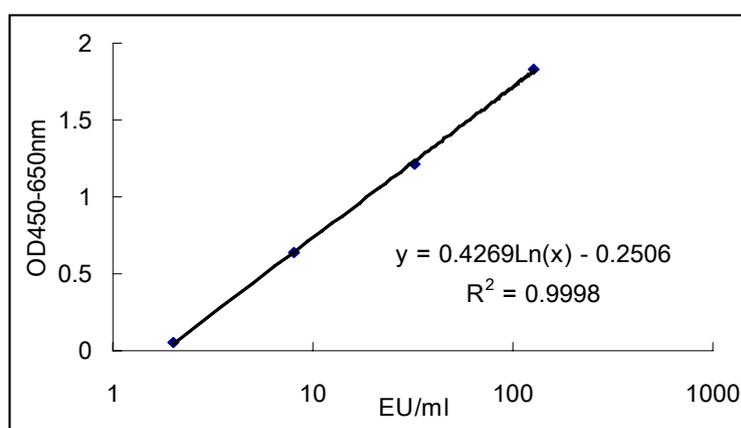
結果判讀：

1. 標準曲線圖與濃度計算：

以陽性對照品A、B、C及陰性對照品的OD_{450nm-650nm}讀值與相對應的EU/ml值（128, 32, 8, 2 EU/ml）在半對數紙或是自動分析軟體（Microsoft Excel, Lotus123 等）上描繪標準曲線。所檢測之血清檢體的EU/ml值可由 $Y (OD_{450nm-650nm}) = a \times \ln(X) + b$ 方程式計算求得。

以陽性對照品 A、B、C 及陰性對照品之平均 OD 值與 EU/ml 作半對數圖，範例如下：

| | 濃度(EU/ml) | 平均 OD 值 |
|---------|-----------|---------|
| 陽性對照品 A | 128 | 1.832 |
| 陽性對照品 B | 32 | 1.213 |
| 陽性對照品 C | 8 | 0.635 |
| 陰性對照品 | 2 | 0.052 |



2. 判值 (cut-off value) 之計算：

C.O.V. = 8 EU/ml 之 OD_{450nm-650nm} 計算值。

舉例如下：

若 8 EU/ml (陽性對照品 C) 之 OD 計算值 = 0.635

| | |
|------------------|-------|
| | OD 值 |
| C.O.V.-10% | 0.571 |
| C.O.V. (8 EU/ml) | 0.635 |
| C.O.V.+10% | 0.698 |

檢體濃度 (EU/ml) 可由標準曲線方程式求得。若血清檢體之 $OD_{450nm-650nm}$ 大於 0.698，此檢體在此檢測中判為陽性，建議醫生依病人臨床症狀配合其他檢查項目，作適當的處置；若血清檢體之 $OD_{450nm-650nm}$ 小於 0.571，則判定為陰性。若血清檢體之 $OD_{450nm-650nm}$ 介於 0.571 至 0.698 之間，建議重複進行測試，或持續追蹤。

本試劑使用限制：

1. 建議使用本檢驗試劑前先詳讀並了解說明書內容。為得可靠結果，必須確實遵照操作步驟，特別是血清檢體與溶液的吸取、仔細的洗滌及培育靜置時間將會影響結果的準確性。
2. 本檢驗試劑是特定為檢測是否為鼻咽癌患者所設計，並非基於其他如勃吉特氏淋巴瘤等 EB 病毒相關疾病。
3. 若血清檢體來自實施免疫抑制治療病患時，判讀檢驗結果必須特別注意。
4. 若重複檢測結果後仍有疑問，應以其他方法如免疫螢光法重新進行檢測。若再度檢測後仍不明確，應重新採集檢體。
5. 本檢驗試劑檢驗結果數值不代表疾病程度，結果必須配合其他臨床症狀及診斷程序由醫師判斷。
6. 感染 CMV 或 HSV-1 病患可能會產生對 EB 病毒有反應的異型 IgA 抗體而造成偽陽性結果。
7. 某些特定的 IgG 可能會與 IgA 競爭結合區而造成偽陰性。反之，類風濕因子在特定 IgG 存在下可能會造成偽陽性結果。
8. 部分抗核抗體可能會在 ELISA 檢測時造成偽陽性結果。
9. 判讀兒童檢驗結果時必須特別注意。
10. 有黃疸、溶脂、溶血或加熱去活化現象之血清可能會造成錯誤結果，應盡量避免。
11. 逾越本說明書之外的操作方法及步驟可能會造成不明確的結果。
12. 血清以外的檢體並未在本檢驗試劑證實其效用。
13. 來自兒童之檢體並未在本檢驗試劑證實其效用。

參考文獻：

1. Henle G and Henle W. **Epstein-Barr virus-specific IgA serum antibodies as an outstanding feature of nasopharyngeal carcinoma.** *Int. J. Cancer* 17:1-7 (1976).
2. Zeng Y, Pi GH, Deng H, Zhang JM, Wang PC, Wolf H. **Epstein-Barr virus seroepidemiology in China.** *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 2, Supplement 1:S7-S15 (1986).
3. Motz M, Fan J, Seibl R, Jilg W, Wolf H. **Express of the Epstein-Barr virus 138-kDa early protein in Escherichia coli for the use as antigen in diagnostic tests.** *Gene* 42:303-312 (1986).
4. Zong YS, Sham JST, Ng MH, Ou XT, Guo YQ, Zheng SA, Liang JS, Qiu H. **Immunoglobulin an against viral capsid antigen of Epstein-Barr virus and indirect mirror examination of the nasopharynx in the detection of asymptomatic nasopharyngeal carcinoma.** *Cancer* 69:3-7 (1992).
5. Tatsuya T. **Purification and characterization of the DNA-binding activity of the Epstein-Barr virus DNA polymerase accessory protein BMRF1 gene products, as expressed I insect cells by using the baculovirus system.** *J. Virology* 67:1681-1687 (1993).
6. Zhu XX, Zeng Y, Wolf H. **Detection of IgG and IgA antibodies to Epstein-Barr virus membrane**

- antigen in sera from patients with nasopharyngeal carcinoma and from normal individuals.** Int. J. Cancer 37:689-691 (1986)
7. Chen MR, Liu MY, Hsu SM, Fong CC, Chen CJ, Chen IH, Hsu MM, Yang CS, Chen JY. **Use of bacterially expressed EBNA-1 protein cloned from a nasopharyngeal carcinoma (NPC) biopsy as a screening test for NPC patients.** J. Med. Virol. 64:51-57 (2001)
 8. Chow KC, Ma J, Lin LS, Chi KH, Yen SH, Liu SM, Liu WT, Chen WK, Chang TH, Chen KY. **Serum responses to the combination of Epstein-Barr virus antigens from both latent and acute phases in nasopharyngeal carcinoma: complementary test of EBNA-1 with EA-D.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 6:363-368 (1997)
 9. Fones-Tan A, Chan SH, Tsao SY, Gan LH, Tan WH, Li B, Khong PW, Gan YY. **Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for IgA and IgG antibodies to Epstein-Barr-virus ribonucleotide reductase in patients with nasopharyngeal carcinoma.** Int J Cancer. 59:739-742 (1994)



台塑生醫科技股份有限公司
台北市敦化北路 201 號前棟五樓
TEL : +886-2-2712-2211 #7822
製造廠：台塑生醫宜蘭廠

Website: <http://www.fbc.com.tw/>
FAX : +886-2-2717-8381
廠址：宜蘭縣礁溪鄉龍潭村龍泉路 3 號