

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



ErbaLisa® AFP

Mã catalog IME00037 (96 Tests)

Tên TTBYT: Bộ xét nghiệm định lượng Alpha Fetoprotein (AFP)

Chủng loại: ErbaLisa® AFP

Mã sản phẩm: IME00037

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 Alpha Fetoprotein (AFP) được dùng để định lượng AFP trong huyết thanh người.

DẤU HIỆU LÂM SÀNG

Alpha fetoprotein (AFP) là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 70,000 Daltons. AFP thường được tạo ra trong quá trình phát triển của bào thai và trẻ sơ sinh bởi gan, noãn hoàng, và bởi đường tiêu hóa nhưng với nồng độ thấp. Sau khi sinh, nồng độ AFP huyết thanh giảm nhanh chóng, và từ năm thứ hai sau sinh đến thời gian về sau, thông thường chỉ phát hiện lượng rất nhỏ của chúng trong huyết thanh. Việc AFP trong huyết thanh tăng đến các giá trị cao bất thường xảy ra ở nhiều bệnh ác tính, đáng chú ý nhất là ung thư tinh hoàn không do tế bào mầm sinh dục và ung thư biểu mô tế bào gan nguyên phát. Trong trường hợp ung thư tinh hoàn không do tế bào mầm sinh dục, có mối quan hệ trực tiếp giữa tỉ lệ tăng nồng độ AFP và các giai đoạn của bệnh. Nồng độ AFP tăng lên ở bệnh nhân được chẩn đoán mắc u tinh bào có yếu tố không do tế bào mầm sinh dục, nhưng không xuất hiện ở bệnh nhân u tinh bào thuần túy. Ngoài ra, nồng độ AFP huyết thanh tăng ở các bệnh nhân mắc các bệnh khác không phải ung thư, bao gồm dị tật bẩm sinh giãn mao mạch thất điều, tăng nồng độ tyrosin máu di truyền, tăng bilirubin ở trẻ sơ sinh, viêm gan vi rút cấp tính, viêm gan mạn hoạt động, và xơ gan. Sự tăng nồng độ AFP cũng được thấy ở phụ nữ mang thai. Do đó, việc đo nồng độ AFP không được khuyến cáo dùng cho quy trình sàng lọc để phát hiện ung thư trong dân số chung.

NGUYÊN LÝ CỦA XÉT NGHIỆM

Bộ kit ELISA ERBALisa AFP là phương pháp ELISA sandwich trên pha rắn dựa theo nguyên tắc streptavidin-biotin. Các chất chuẩn, mẫu thử và thuốc thử chứa kháng thể kháng AFP đã biotin hóa được thêm vào các giếng phủ Streptavidin. AFP nội sinh trong huyết thanh bệnh nhân liên kết với vị trí gắn kháng nguyên của kháng thể kháng AFP đã biotin hóa. Đồng thời, kháng thể đã biotin hóa được cố định trên các giếng thông qua tương tác Streptavidin-Biotin ái lực cao. Các protein không liên kết và kháng thể cộng hợp biotin còn dư được rửa trôi bằng dung dịch rửa. Khi thêm thuốc thử chứa kháng thể kháng AFP cộng hợp peroxidase (HRP), phức hợp dạng sandwich được hình thành, chất phân tích được quan tâm nằm giữa hai kháng thể đặc hiệu cao đã gắn Biotin và HRP. Các protein không liên kết và thuốc thử chứa kháng thể cộng hợp enzyme còn dư được rửa trôi bằng đệm rửa. Khi thêm cơ chất, cường độ màu phát triển tỉ lệ thuận với

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



nồng độ AFP trong các mẫu. Đường cong chuẩn được chuẩn bị liên quan đến cường độ màu và nồng độ AFP.

CÁC THUỐC THỬ ĐƯỢC CUNG CẤP	96 Tests
Vi giếng phủ Streptavidin	12x8x1
Bộ chất chuẩn AFP: 6 lọ (sẵn dùng)	6x 1 mL
Thuốc thử Anti-AFP-Biotin: 1 chai (sẵn dùng)	15 ml
Cộng hợp enzym Anti-AFP: 1 chai (sẵn dùng)	15 ml
Dung dịch cơ chất TMB: 2 chai (sẵn dùng)	2x 8 ml
Dung dịch dừng: 1 chai (sẵn dùng)	12 ml
Dung dịch rửa đậm đặc nồng độ 20X: 2 chai	2x 25 ml

CÁC PHỤ KIỆN KHÔNG ĐƯỢC CUNG CẤP

1. Nước cất hoặc nước khử ion
2. Pipet chính xác
3. Đầu hút 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 ngay huyết thanh.
2. Mẫu được bảo quản lạnh ở nhiệt độ (2-8°C) trong 5 ngày. Nếu thời gian bảo quản vượt quá 5

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



- ngày, trữ đông ở (-2°C) lên đến một tháng.
3. Tránh đông lạnh – rã đông mẫu nhiều lần.
 4. Trước khi xét nghiệm, huyết thanh đông lạnh cần được rã đông hoàn toàn và trộn đều.
 5. Không sử dụng các mẫu thử chứa nhiều lipid.

CHUẨN BỊ CÁC THUỐC THỬ

Dung dịch rửa: Chuẩn bị đệm 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.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM

Đề tất cả mẫu thử và thuốc thử của kit về nhiệt độ phòng (20-25°C) và trộn nhẹ.

1. Đặt số lượng các giếng cần dùng vào khay đỡ.
2. Hút 25 µl các chất chuẩn AFP, mẫu chứng và huyết thanh bệnh nhân.
3. Thêm 100 µl thuốc thử Anti-AFP-Biotin vào tất cả các giếng và trộn trong 20-30 giây.
4. Đậy nắp vi giếng và ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng (20-25°C).
5. Đổ bỏ dung dịch trong các giếng. Rửa giếng 3 lần bằng 300 µl dung dịch rửa 1X. Thấm trên giấy thấm hoặc khăn giấy.
6. Thêm 100 µl cộng hợp enzym - Anti-AFP vào tất cả các giếng. Đậy và ủ trong 30 phút.
7. Đổ bỏ dung dịch trong các giếng. Rửa giếng 3 lần bằng 300 µl dung dịch rửa 1X. Thấm trên giấy thấm hoặc khăn giấy.
8. Thêm 100 µl cơ chất TMB vào tất cả các giếng.
9. Ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng.
10. Thêm 50 µl dung dịch dừng vào tất cả các giếng. Lắc nhẹ nắp vi giếng để trộn đều dung dịch.
11. Đọc độ hấp thụ bằng máy đọc ELISA ở bước sóng 450 nm trong vòng 15 phút sau khi thêm dung dịch dừng.

TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

Xây dựng đường cong chuẩn như sau:

1. Kiểm tra giá trị của chất chuẩn AFP trên mỗi lọ. Giá trị này có thể thay đổi tùy theo lô. Phải đảm bảo kiểm tra giá trị này ở mỗi bộ kit. Xem ví dụ đính kèm về chất chuẩn.
2. Để xây dựng đường cong chuẩn, vẽ đồ thị độ hấp thụ của các chất chuẩn AFP (trục tung) so với các nồng độ của chúng tính theo ng/ml (trục hoành) trên giấy có thang biểu tuyến tính. Vẽ đường cong tốt nhất đi qua các điểm.
3. Đọc độ hấp thụ của các mẫu chứng và của từng mẫu thử cần tìm từ đường cong chuẩn. Ghi lại giá trị của từng mẫu chứng và mẫu thử cần tìm.

Ví dụ về đường cong chuẩn

	OD 450 nm	Nồng độ ng/mL
Chất chuẩn 1	0,020	0
Chất chuẩn 2	0,072	5
Chất chuẩn 3	0,281	25
Chất chuẩn 4	0,462	50
Chất chuẩn 5	1,878	250
Chất chuẩn 6	2,447	500

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



HẠN CHẾ CỦA XÉT NGHIỆM

Không sử dụng natri azide làm chất bảo quản. Natri azide ức chế hoạt tính của enzym HRP.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bates SE. Clinical applications of serum tumor markers. *Ann Intern Med* 1991;115:623-8.
2. Wu JC, Lee SD, Hsiao KJ, et al. Mass screening of primary hepatocellular carcinoma by alpha-fetoprotein in a rural area of Taiwan-a dried blood spot method. *Liver* 1988;8:100-4.
3. Lee H-S, Chung YH, Kim CY. Specificities of serum alpha-fetoprotein in HBsAg+ and HBsAg- patients in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1991;14:68-72.
4. Di Bisceglie AM, Rustgi VK, Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Lotze MT. Hepatocellular carcinoma. *Ann Intern Med* 1988;108:390-401.
5. Sato Y, Nakata K, Kato Y, et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha- fetoprotein. *N Engl J Med* 1993;328:1802-6.
6. Deutch HF. Chemistry and biology of alpha- fetoprotein. *Adv Cancer Res* 1991;56:253-312.