

ErbaLisa® CA 125

Số catalog IME00040 (96 Test)

Tên TTBYT: Bộ xét nghiệm định lượng kháng nguyên ung thư CA125

Chủng loại: ErbaLisa® CA 125

Mã sản phẩm: IME00040

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 CA 125 được dùng để xác định định lượng nồng độ kháng nguyên ung thư CA125 trong huyết thanh người.

DẤU HIỆU LÂM SÀNG

Kháng nguyên ung thư 125 (CA125) là một kháng nguyên bề mặt liên quan đến ung thư biểu mô buồng trứng. Trong huyết thanh, CA125 liên quan đến một glycoprotein có khối lượng phân tử lớn. Các nghiên cứu đã công bố chỉ ra rằng nồng độ CA125 trong huyết thanh tăng ở những người bị ung thư biểu mô buồng trứng thể nội mạc nghiêm trọng, ung thư biểu mô buồng trứng thể tế bào sáng và ung thư biểu mô buồng trứng không biệt hóa. Nồng độ CA125 trong huyết thanh cao hơn 35 U/ml ở 60% phụ nữ bị ung thư buồng trứng và >80% bệnh nhân bị ung thư buồng trứng lan tỏa. Nồng độ CA125 trong huyết thanh tăng ở 1% số phụ nữ có sức khỏe bình thường, 3% số phụ nữ có sức khỏe bình thường mắc các bệnh về buồng trứng lành tính, 6% bệnh nhân có tình trạng u không tân sinh (bao gồm nhưng không giới hạn các trường hợp ở 3 tháng đầu thai kỳ, kinh nguyệt, lạc nội mạc tử cung, u xơ tử cung, viêm vòi trứng cấp, các bệnh gan và viêm phúc mạc, màng tim hoặc màng phổi). Xác định định kì CA125 trong huyết thanh kết hợp với khám vùng chậu giúp tăng độ đặc hiệu của xét nghiệm. Nồng độ CA125 trong huyết thanh có thể hữu ích trong việc theo dõi điều trị và phân biệt giữa tình trạng đáp ứng tốt với liệu pháp điều trị và tình trạng tiến triển thành ác tính khi đáp ứng kém với liệu pháp điều trị. Cho đến nay, CA125 là dấu ấn nhạy nhất đối với ung thư biểu mô buồng trứng còn sót lại. CA125 có thể tăng ở các bệnh nhân bị ung thư phổi, ung thư cổ tử cung, ung thư ống dẫn trứng, ung thư tử cung và lạc nội mạc tử cung.

NGUYÊN LÝ CỦA XÉT NGHIỆM

Xét nghiệm ELISA ERBALisa CA 125 dựa trên phương pháp ELISA sandwich một bước trên pha rắn. Các mẫu thử, kháng thể bắt giữ từ chuột kháng CA-125 được biotin hóa, và cộng hợp HRP gắn kháng thể chuột kháng CA-125 được thêm vào các giếng đã phủ streptavidin. Kháng nguyên CA-125 trong mẫu bệnh nhân gắn với kháng thể bắt giữ được biotin hóa. Kháng thể bắt giữ đã biotin hóa gắn đồng thời với streptavidin phủ trên tấm vi giếng. Cộng hợp enzyme kháng CA-125 tạo thành dạng sandwich xung quanh các CA-125 bị bắt giữ. Các kháng thể không liên kết được rửa trôi. Cơ chất TMB được thêm vào để tạo màu xanh dương. Nồng độ CA-125 tỉ lệ thuận với cường độ màu. Đường cong chuẩn được tạo ra liên quan đến cường độ màu và nồng độ CA-125.

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



CÁC VẬT PHẨM ĐƯỢC CUNG CẤP	96 Tests
Vi giếng phủ Streptavidin	12x8x1
Bộ chất chuẩn CA 125: 6 lọ (sẵn dùng)	0,5 ml x 6
Cộng hợp enzym CA 125: 1 chai (sẵn dùng)	12 ml
Dung dịch cơ chất TMB: 1 chai (sẵn dùng)	12 ml
Dung dịch dừng: 1 chai (sẵn dùng)	12ml
Dung dịch rửa đậm đặc nồng độ 20X: 1 chai	25 ml

CÁC VẬT PHẨM 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 giếng 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 trong tủ mát ở 2-8°C trong 5 ngày. Nếu thời gian bảo quản vượt quá 5 ngày, trữ đông ở -20°C lên đến một tháng.
3. Tránh đông lạnh – rã đông mẫu nhiều lần.

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



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 dung dịch 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. Đảm bảo đặt đủ số lượng các giếng cần dùng vào khay đỡ. Hút 50µl các chất chuẩn CA125, mẫu thử và mẫu chứng vào các giếng thích hợp.
2. Hút 100µl CỘNG HỢP ENZYM vào từng giếng.
3. Trộn nhẹ trong 30 giây. Bước trộn hoàn toàn này rất quan trọng trong quy trình.
4. Ủ trong 60 phút.
5. Bỏ phần hỗn hợp ủ bằng cách đổ toàn bộ phần chất lỏng trong khay vào thùng chứa chất thải.
6. 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.
7. Đập mạnh tấm vi giếng lên giấy thấm hoặc khăn giấy để loại bỏ tất cả giọt dung dịch còn đọng lại.
8. Hút 100µl thuốc thử TMB vào từng giếng. Trộn nhẹ trong 10 giây. Ủ ở nhiệt độ phòng, trong tối, trong vòng 15 phút.
9. Dừng phản ứng bằng cách thêm 50 µl Dung dịch dừng vào từng giếng.
10. Đọc độ hấp thụ ở bước sóng 450nm (sử dụng bước sóng tham chiếu 630nm) bằng máy đọc vi giếng trong vòng 15 phút.

TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

Xây dựng đường cong chuẩn như sau:

1. Tính toán các giá trị độ hấp thụ trung bình (A450) cho mỗi bộ chất chuẩn tham chiếu, mẫu chứng và mẫu thử.
2. Xây dựng đường cong chuẩn bằng cách vẽ đồ thị giữa độ hấp thụ trung bình thu được cho từng chất chuẩn tham chiếu với nồng độ của chúng tính theo U/ml trên giấy có thang biểu tuyến tính, với độ hấp thụ trên trục tung (y) và nồng độ trên trục hoành (x).
3. Sử dụng giá trị độ hấp thụ trung bình cho từng mẫu, xác định nồng độ CA125 tương ứng theo U/ml từ đường cong chuẩn.

Ví dụ đường cong chuẩn

Kết quả của một lần chạy mẫu chuẩn điển hình với OD đọc ở bước sóng 450nm được thể hiện trên trục Y so với nồng độ CA125 thể hiện trên trục X. Đường cong chuẩn này chỉ nhằm mục đích minh họa, và không được dùng để tính toán các mẫu cần tìm. Mỗi người dùng phải thu thập các số liệu và đường cong chuẩn của riêng mình trong mỗi lần thực nghiệm.

Giá trị CA125 (U/ml)	Độ hấp thụ (450nm)
0	0,010
15	0,105
50	0,347
100	0,703
200	1,411

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



400	2,437
-----	-------

CÁC GIÁ TRỊ DỰ KIẾN

Khuyến cáo mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập cho mình các khoảng bình thường, dựa trên đối tượng dân cư mà phòng xét nghiệm phục vụ. Cho đến lúc đó, các giá trị tham khảo có thể được dùng làm hướng dẫn.

Người khỏe mạnh và không mang thai	≤ 46 (U/mL)
---	------------------

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 tiền sử bệnh của bệnh nhân, đặc điểm lâm sàng và các quy trình chẩn đoán khác.
2. Không sử dụng natri azide làm chất bảo quản. Natri azide ức chế hoạt tính của enzym HRP.

ĐẶC ĐIỂM HIỆU NĂNG

1. **Độ nhạy:** Độ nhạy được xác định bằng cách tính giá trị trung bình cộng 2SD của chất chuẩn ở điểm 0 được kiểm tra 22 lần trong cùng một lần chạy.

Huyết thanh	Số lần lặp lại	Trung bình U/ml	Độ lệch chuẩn	Trung bình + 2SD (Độ nhạy)
Chất chuẩn 0	22	0,10	0,208	0,52 U/ml

2. **Độ tương quan với kit ELISA tham chiếu:**

Các mẫu huyết thanh được kiểm tra bằng kit ELISA này và một kit ELISA tham chiếu. Kết quả như sau:

Độ tương quan	Độ dốc	Hệ số chặn
0,98	1,04 47	0,9216

3. **Độ chính xác**

Trong xét nghiệm (Intra-Assay)

Huyết thanh	Số lần lặp lại	Trung bình - U/ml	Độ lệch chuẩn	Hệ số biến thiên (%)
1	16	22,6	0,937	4,2
2	16	67,9	1,29	1,9
3	16	152	2,83	1,9

Giữa các xét nghiệm (Inter-Assay)

Huyết thanh	Số lần lặp lại	Trung bình - U/ml	Độ lệch chuẩn	Hệ số biến thiên (%)
1	24	19,6	1,61	8,2

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG



2	24	56,9	3,88	6,8
3	24	135,6	9,06	6,7

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. all, E., Methods in Enzymology, Volume 70, Van Vunakis, H. and Langone, J. J. (eds.), Academic Press, New York, 419- 492 (1980).
2. tila, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E., J. Immunol. Methods, 42, 11-15 (1981).
3. Kenemans P, Yedema CA, Bon GG, von Mensdorff-Pouilly S. Ca125 in gynecological pathology a review. Eur J Obstet Gynecol 1993;49:115-124.
4. Saksela F. Prognostic markers in epithelial ovarian cancer. Intl J Gynecol Pathol 1993;12:156-161.
5. Farghaly SA. Tumor markers in gynecologic cancer. Gynecol & Obstet Invest 1992;34:65- 72.
6. Welander CE. What do CA 125 and other antigens tell us about ovarian cancer biology. Acta Obstet Gynecol Scand Sup 1992;155:85-93.
7. McGowan L. Pathology of the ovary. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991;3:580-586.
8. Niloff JM. Ovarian malignancy. Curr Opin on Obstet Gynecol 1991;3:66-72.
9. Olt G, Berchuck A, Bast RC. The role of tumor markers in gynecologic oncology. Obstet Gynecol Survey 1990;45-:570-577.
10. Diez M, Cerdan FJ, Ortega MD, Torres A, Picardo A, Balibrea JL. Evaluation of serum CA125 as a tumor marker in non-small cell lung cancer. Cancer 1991;67:150-154.
11. Niloff JM, Klug TL, Schaetzel E. Elevation of serum CA125 in carcinomas of the fallopian tube, endometrium, and endocervix. AM J. Obstet Gynecol 1984; 148:1057.