

BỘ Y TẾ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số: **7034** /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày **21** tháng **11** năm 2018

QUYẾT ĐỊNH

Về việc ban hành tài liệu

Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật khám bệnh, chữa bệnh năm 2009;

Căn cứ Nghị định 75/2017/NĐ-CP ngày 20 tháng 6 năm 2017 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Xét Biên bản họp ngày 15 tháng 8 năm 2018 của Hội đồng nghiệm thu Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh của Bộ Y tế;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh”, gồm 130 quy trình kỹ thuật.

Điều 2. Tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh” ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

Căn cứ vào tài liệu hướng dẫn này và điều kiện cụ thể của đơn vị, Giám đốc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành tài liệu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh phù hợp để thực hiện tại đơn vị.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký ban hành.

Điều 4. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ, Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, Chánh Thanh tra Bộ, Cục trưởng và Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế, Giám đốc các bệnh viện, viện có giường bệnh trực thuộc Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương, Thủ trưởng Y tế các Bộ, Ngành và Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- Bộ trưởng Bộ Y tế (để b/c);
- Các Thứ trưởng BHYT;
- Bảo hiểm Xã hội Việt Nam (để phối hợp);
- Công thông tin điện tử BHYT;
- Website Cục QLKCB;
- Lưu VT, KCB.

KT. BỘ TRƯỞNG

THỨ TRƯỞNG



Nguyễn Việt Tiến

DANH SÁCH 130 HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT
CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH*(Ban hành kèm theo Quyết định số 7034/QĐ-BYT ngày 21 tháng 11 năm 2018 của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

TT	TÊN QUY TRÌNH KỸ THUẬT
1.	Định lượng 17-0HP (17 alpha-Hydroxyprogesterone) máu
2.	Định lượng α 2- Macroglobulin máu
3.	Định lượng acid amin máu và dịch sinh học bằng máy sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC)
4.	Định lượng acid béo tự do máu
5.	Định lượng acid hữu cơ niệu
6.	Định lượng acylcarnitine máu bằng MSMS
7.	Định lượng Adiponectin máu theo kỹ thuật miễn dịch đo độ đục
8.	Định lượng Aldosteron máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang
9.	Định lượng AMH (anti -mullerian hormon) máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang
10.	Định lượng Amikacin máu
11.	Định lượng Androstenedion máu theo kỹ thuật hóa phát quang
12.	Định lượng anpha 1 microglobulin niệu
13.	Định lượng beta-hydroxybutyrate máu
14.	Định lượng BTP (Beta-Trace Protein) máu
15.	Định lượng C1 Esterase Inhibitor máu
16.	Định lượng calprotectin trong phân
17.	Định lượng CDT (Carbohydrate Deficient Transferrin) máu
18.	Định lượng Chì máu
19.	Định lượng Chì niệu
20.	Định lượng CRP (C reactive protein) máu
21.	Định lượng DHEAS máu
22.	Định lượng đồng niệu
23.	Định lượng Ecstasy niệu
24.	Định lượng ELF (Enhanced Liver Fibrosis) máu
25.	Định lượng EPO (Erythropoietin) máu

26.	Định lượng Everolimus máu
27.	Định lượng GADA (Glutamic Acid Decarboxylase Autoantibodies) máu
28.	Định lượng GH (Growth hormone) máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang
29.	Định lượng Hemopexin máu
30.	Định lượng HVA (Homovanillic acid) và VMA (Vanillyl mandelic acid) niệu
31.	Định lượng IA2A (Islet antigen 2) máu
32.	Định lượng ICA (Islet cells autoantibodies) máu
33.	Định lượng IgE đặc hiệu Dermatophagoides pteronyssinus máu
34.	Định lượng IgE đặc hiệu Enterotoxin A (S Aureus) máu
35.	Định lượng IgE đặc hiệu albumin trứng trong máu
36.	Định lượng IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin trong máu
37.	Định lượng IgE đặc hiệu AMOXICILIN
38.	Định lượng IgE đặc hiệu AMPICILIN
39.	Định lượng IgE đặc hiệu Anisakis larve trong máu
40.	Định lượng IgE đặc hiệu Aspergillus fumigatus trong máu
41.	Định lượng IgE đặc hiệu bạch tuộc trong máu
42.	Định lượng IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin trong máu
43.	Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium)
44.	Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium)
45.	Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô gàu của mèo (Cat dander epithelium)
46.	Định lượng IgE đặc hiệu Blomia tropicallis trong máu
47.	Định lượng IgE đặc hiệu cà chua trong máu
48.	Định lượng IgE đặc hiệu cá hồi trong máu
49.	Định lượng IgE đặc hiệu cá ngừ trong máu
50.	Định lượng IgE đặc hiệu cà rốt trong máu
51.	Định lượng IgE đặc hiệu cam trong máu
52.	Định lượng IgE đặc hiệu cần tây trong máu
53.	Định lượng IgE đặc hiệu Candida albicans trong máu
54.	Định lượng IgE đặc hiệu casein trong máu
55.	Định lượng IgE đặc hiệu chuối trong máu
56.	Định lượng IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium trong máu
57.	Định lượng IgE đặc hiệu cua trong máu
58.	Định lượng IgE đặc hiệu đào trong máu

59.	Định lượng IgE đặc hiệu dâu tây trong máu
60.	Định lượng IgE đặc hiệu đậu tương trong máu
61.	Định lượng IgE đặc hiệu Dermatophagoides farinae trong máu
62.	Định lượng IgE đặc hiệu dứa trong máu
63.	Định lượng IgE đặc hiệu dưa trong máu
64.	Định lượng IgE đặc hiệu gạo trong máu
65.	Định lượng IgE đặc hiệu gàu của chó (Dog dander)
66.	Định lượng IgE đặc hiệu gián trong máu
67.	Định lượng IgE đặc hiệu Gluten trong máu
68.	Định lượng IgE đặc hiệu hạt vừng trong máu
69.	Định lượng IgE đặc hiệu khoai lang trong máu
70.	Định lượng IgE đặc hiệu khoai tây trong máu
71.	Định lượng IgE đặc hiệu lạc trong máu
72.	Định lượng IgE đặc hiệu Latex trong máu
73.	Định lượng IgE đặc hiệu lông gà (Chicken feathers)
74.	Định lượng IgE đặc hiệu lòng trắng trứng trong máu
75.	Định lượng IgE đặc hiệu lông vịt (Duck feathers) trong máu
76.	Định lượng IgE đặc hiệu lúa mì trong máu
77.	Định lượng IgE đặc hiệu mật ong trong máu
78.	Định lượng IgE đặc hiệu mù tạt trong máu
79.	Định lượng IgE đặc hiệu mùi tây trong máu
80.	Định lượng IgE đặc hiệu nấm trong máu
81.	Định lượng IgE đặc hiệu nọc ong mật trong máu
82.	Định lượng IgE đặc hiệu nọc ong vàng trong máu
83.	Định lượng IgE đặc hiệu ong bắp cây trắng trong máu
84.	Định lượng IgE đặc hiệu ong bắp cây vàng trong máu
85.	Định lượng IgE đặc hiệu ong giấy trong máu
86.	Định lượng IgE đặc hiệu Penicillium notatum trong máu
87.	Định lượng IgE đặc hiệu PENICILLOYL G trong máu
88.	Định lượng IgE đặc hiệu PENICILLOYL V trong máu
89.	Định lượng IgE đặc hiệu quả Kiwi trong máu
90.	Định lượng IgE đặc hiệu sữa dê trong máu
91.	Định lượng IgE đặc hiệu sữa đun sôi trong máu

92.	Định lượng IgE đặc hiệu sữa trong máu
93.	Định lượng IgE đặc hiệu táo trong máu
94.	Định lượng IgE đặc hiệu thịt bò trong máu
95.	Định lượng IgE đặc hiệu thịt lợn trong máu
96.	Định lượng IgE đặc hiệu tôm trong máu
97.	Định lượng IgE đặc hiệu Toxocara canis trong máu
98.	Định lượng IgE đặc hiệu trứng trong máu
99.	Định lượng IgE đặc hiệu Vanilla trong máu
100.	Định lượng IgE đặc hiệu xoài trong máu
101.	Định lượng IGF-1 (Insulin-like Growth factor-1) trong máu
102.	Định lượng IgG dưới nhóm trong máu
103.	Định lượng IL2-R (Interleukin 2 receptor) máu
104.	Định lượng Inhibin A máu
105.	Định lượng Lactat dịch não tủy
106.	Định lượng LBP máu
107.	Định lượng Lithium máu
108.	Định lượng Lp(a) máu
109.	Định lượng Methadone máu
110.	Định lượng Osteocalcin máu
111.	Định lượng P2PSA (2Pro Prostate-specific antigen) máu
112.	Định lượng PIVKA II máu
113.	Định lượng Pyrilinks-D máu
114.	Định lượng Pyruvat máu
115.	Định lượng Quinidine máu
116.	Định lượng RBP (Retinol Binding Protein) máu
117.	Định lượng Renin máu bằng kỹ thuật ELISA
118.	Định lượng Renin máu theo kỹ thuật hóa phát quang
119.	Định lượng SAA (serum Amyloid A) máu
120.	Định lượng Salicylate máu
121.	Định lượng sản phẩm chuyển hóa của Nicotine
122.	Định lượng Sirolimus máu
123.	Định lượng TNF α (tumor necrosis factor alpha) máu
124.	Định lượng Troponin I hs máu

125.	Định lượng UIBC (Unsaturated Iron Binding Capacity) máu
126.	Định lượng Zn (Kẽm) máu
127.	Đo hoạt độ Lipase dịch chọc dò
128.	Đo hoạt độ P-Amylase máu
129.	Đo hoạt độ Thymidin kinase máu
130.	Sàng lọc các bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh bằng MSMS

KT. BỘ TRƯỞNG
THỦ TRƯỞNG

Nguyễn Việt Tiên

BỘ Y TẾ

.....***.....

**HƯỚNG DẪN
QUY TRÌNH KỸ THUẬT
CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH**

Tháng 11-năm 2018

MỤC LỤC

STT	DANH MỤC KỸ THUẬT	Trang
1.	Định lượng 17-0HP (17 alpha-Hydroxyprogesterone) máu	1
2.	Định lượng α 2- Macroglobulin máu	4
3.	Định lượng acid amin máu và dịch sinh học bằng máy sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC)	8
4.	Định lượng acid béo tự do máu	23
5.	Định lượng acid hữu cơ niệu	25
6.	Định lượng acylcarnitine máu bằng MSMS	27
7.	Định lượng Adiponectin máu theo kỹ thuật miễn dịch đo độ đục	31
8.	Định lượng Aldosteron máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang	33
9.	Định lượng AMH (anti –mullerian hormon) máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang	36
10.	Định lượng Amikacin máu	41
11.	Định lượng Androstenedion máu theo kỹ thuật hóa phát quang	44
12.	Định lượng anpha 1 microglobulin niệu	46
13.	Định lượng beta-hydroxybutyrate máu	48
14.	Định lượng BTP (Beta-Trace Protein) máu	50
15.	Định lượng C1 Esterase Inhibitor máu	54
16.	Định lượng calprotectin trong phân	56
17.	Định lượng CDT (Carbohydrate Deficient Transferrin) máu	60
18.	Định lượng Chì máu	65
19.	Định lượng Chì niệu	68
20.	Định lượng CRP (C reactive protein) máu	70
21.	Định lượng DHEAS máu	72

22.	Định lượng đồng niệu	77
23.	Định lượng Ecstasy niệu	80
24.	Định lượng ELF (Enhanced Liver Fibrosis) máu	84
25.	Định lượng EPO (Erythropoietin) máu	87
26.	Định lượng Everolimus máu	89
27.	Định lượng GADA (Glutamic Acid Decarboxylase Autoantibodies) máu	94
28.	Định lượng GH (Growth hormone) máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang	96
29.	Định lượng Hemopexin máu	99
30.	Định lượng HVA (Homovanillic acid) và VMA (Vanillyl mandelic acid)niệu	103
31.	Định lượng IA2A (Islet antigen 2) máu	108
32.	Định lượng ICA (Islet cells autoantibodies) máu	100
33.	Định lượng IgE đặc hiệu Dermatophagoides pteronyssinus máu	112
34.	Định lượng IgE đặc hiệu Enterotoxin A (S Aureus) máu	115
35.	Định lượng IgE đặc hiệu albumin trứng trong máu	120
36.	Định lượng IgE đặc hiệu Alpha – lactalbumin trong máu	123
37.	Định lượng IgE đặc hiệu AMOXICILIN	128
38.	Định lượng IgE đặc hiệu AMPICILIN	131
39.	Định lượng IgE đặc hiệu Anisakis larve trong máu	134
40.	Định lượng IgE đặc hiệu Aspergillus fumigatus trong máu	139
41.	Định lượng IgE đặc hiệu bạch tuộc trong máu	144
42.	Định lượng IgE đặc hiệu Beta- lactoglobulin trong máu	149
43.	Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium)	154
44.	Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium)	157

45.	Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô gàu của mèo (Cat dander epithelium)	159
46.	Định lượng IgE đặc hiệu Blomia tropicallis trong máu	163
47.	Định lượng IgE đặc hiệu cà chua trong máu	168
48.	Định lượng IgE đặc hiệu cá hồi trong máu	173
49.	Định lượng IgE đặc hiệu cá ngừ trong máu	176
50.	Định lượng IgE đặc hiệu cà rốt trong máu	179
51.	Định lượng IgE đặc hiệu cam trong máu	184
52.	Định lượng IgE đặc hiệu cần tây trong máu	189
53.	Định lượng IgE đặc hiệu Candida albicans trong máu	194
54.	Định lượng IgE đặc hiệu casein trong máu	199
55.	Định lượng IgE đặc hiệu chuối trong máu	204
56.	Định lượng IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium trong máu	207
57.	Định lượng IgE đặc hiệu cua trong máu	212
58.	Định lượng IgE đặc hiệu đào trong máu	215
59.	Định lượng IgE đặc hiệu dâu tây trong máu	218
60.	Định lượng IgE đặc hiệu đậu tương trong máu	223
61.	Định lượng IgE đặc hiệu Dermatophagoides farinae trong máu	226
62.	Định lượng IgE đặc hiệu dứa trong máu	229
63.	Định lượng IgE đặc hiệu dứa trong máu	232
64.	Định lượng IgE đặc hiệu gạo trong máu	237
65.	Định lượng IgE đặc hiệu gàu của chó (Dog dander)	240
66.	Định lượng IgE đặc hiệu gián trong máu	243
67.	Định lượng IgE đặc hiệu Gluten trong máu	246
68.	Định lượng IgE đặc hiệu hạt vừng trong máu	251

69.	Định lượng IgE đặc hiệu khoai lang trong máu	254
70.	Định lượng IgE đặc hiệu khoai tây trong máu	259
71.	Định lượng IgE đặc hiệu lạc trong máu	264
72.	Định lượng IgE đặc hiệu Latex trong máu	267
73.	Định lượng IgE đặc hiệu lông gà (Chicken feathers)	272
74.	Định lượng IgE đặc hiệu lòng trắng trứng trong máu	275
75.	Định lượng IgE đặc hiệu lông vịt (Duck feathers) trong máu	278
76.	Định lượng IgE đặc hiệu lúa mì trong máu	281
77.	Định lượng IgE đặc hiệu mật ong trong máu	284
78.	Định lượng IgE đặc hiệu mù tạt trong máu	287
79.	Định lượng IgE đặc hiệu mùi tây trong máu	290
80.	Định lượng IgE đặc hiệu nấm trong máu	293
81.	Định lượng IgE đặc hiệu nọc ong mật trong máu	296
82.	Định lượng IgE đặc hiệu nọc ong vàng trong máu	299
83.	Định lượng IgE đặc hiệu ong bắp cây trắng trong máu	302
84.	Định lượng IgE đặc hiệu ong bắp cây vàng trong máu	305
85.	Định lượng IgE đặc hiệu ong giấy trong máu	308
86.	Định lượng IgE đặc hiệu <i>Penicillium notatum</i> trong máu	311
87.	Định lượng IgE đặc hiệu PENICILLOYL G trong máu	316
88.	Định lượng IgE đặc hiệu PENICILLOYL V trong máu	319
89.	Định lượng IgE đặc hiệu quả Kiwi trong máu	322
90.	Định lượng IgE đặc hiệu sữa dê trong máu	327
91.	Định lượng IgE đặc hiệu sữa đun sôi trong máu	330
92.	Định lượng IgE đặc hiệu sữa trong máu	333
93.	Định lượng IgE đặc hiệu táo trong máu	336

94.	Định lượng IgE đặc hiệu thịt bò trong máu	341
95.	Định lượng IgE đặc hiệu thịt lợn trong máu	346
96.	Định lượng IgE đặc hiệu tôm trong máu	351
97.	Định lượng IgE đặc hiệu Toxocara canis trong máu	354
98.	Định lượng IgE đặc hiệu trứng trong máu	359
99.	Định lượng IgE đặc hiệu Vanilla trong máu	362
100.	Định lượng IgE đặc hiệu xoài trong máu	365
101.	Định lượng IGF -1 (insulin-like Growth factor - 1) trong máu	368
102.	Định lượng IgG dưới nhóm trong máu	371
103.	Định lượng IL2-R (interleukin 2 receptor) máu	375
104.	Định lượng Inhibin A máu	377
105.	Định lượng Lactat dịch não tủy	380
106.	Định lượng LBP máu	382
107.	Định lượng Lithium máu	385
108.	Định lượng Lp(a) máu	387
109.	Định lượng Methadone máu	390
110.	Định lượng osteocalcin máu	392
111.	Định lượng P2PSA (2Pro Prostate-specific antigen) máu	394
112.	Định lượng PIVKA II máu	399
113.	Định lượng Pyrilinks -D máu	403
114.	Định lượng Pyruvat máu	407
115.	Định lượng Quinidine máu	409
116.	Định lượng RBP (Retinol Binding Protein) máu	412
117.	Định lượng renin máu bằng kỹ thuật ELISA	416

118.	Định lượng Renin máu theo kỹ thuật hóa phát quang	418
119.	Định lượng SAA (serum Amyloid A) máu	421
120.	Định lượng Salicylate máu	424
121.	Định lượng sản phẩm chuyển hóa của Nicotine	426
122.	Định lượng Sirolimus máu	429
123.	Định lượng TNF α (tumor necrosis factor alpha) máu	434
124.	Định lượng Troponin I hs máu	437
125.	Định lượng UIBC (Unsaturated Iron Binding Capacity) máu	441
126.	Định lượng Zn (Kẽm) máu	443
127.	Đo hoạt độ lipase dịch chọc dò	445
128.	Đo hoạt độ P - Amylase máu	447
129.	Đo hoạt độ Thymidin kinase máu	450
130.	Sàng lọc các các bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh bằng MSMS	453

ĐỊNH LƯỢNG 17- HYDROPROGESTERONE MÁU

Chữ viết tắt:

17 - Hydroxyprogesterone: 17-OHP

Tăng sản tuyến thượng thận bẩm sinh: CAH (Congenital Adrenal Hyperplasia)

I. NGUYÊN LÝ

17-hydroxyprogesterone (17-OHP) là một hormone steroid được sản xuất như là một phần của quá trình tạo ra hormone cortisol. Xét nghiệm định lượng 17-OHP trong máu để phát hiện và/hoặc đánh giá tăng sản tuyến thượng thận bẩm sinh (CAH), một tình trạng di truyền dẫn đến giảm cortisol, giảm aldosterone của thượng thận và tăng sản xuất hormon sinh dục nam (androgen).

Trong các giếng phản ứng có gắn sẵn kháng thể kháng 17-OHP. Khi cho bệnh phẩm vào giếng, 17-OHP trong mẫu thử cạnh tranh với 17OHP đánh dấu enzym peroxidase (kháng nguyên gắn enzym) gắn với kháng thể gắn trong giếng. Sau khi ủ, các phần không gắn loại bỏ bằng rửa. Phức hợp miễn dịch được tạo thành giữa kháng thể- kháng nguyên gắn enzym được phát hiện bằng cách cho cơ chất TMB (tetramethylbenzidine), phản ứng chuyển cơ chất thành sản phẩm màu xanh. Độ đậm màu phản ứng tạo lên tỉ lệ nghịch với nồng độ 17-OHP trong mẫu. Dung dịch acid Sulphuric được thêm vào để dừng phản ứng. Kết quả tạo ra phức hợp màu vàng, được đo độ hấp thụ ánh sáng tại bước sóng 450nm bằng máy đọc ELISA (plate reader).

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. *Phương tiện:*

- + Máy đọc ELISA, được trang bị để đo độ hấp thụ ở bước sóng 450nm
- + Thiết bị rửa các giếng xét nghiệm bằng tay hoặc tự động
- + Pipettes để cung cấp lượng dung dịch từ 10 đến 1000µl
- + Vortex trộn
- + Nước cất
- + Ống nghiệm dùng một lần, đồng hồ
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- + 01 Giá đặt các giếng phản ứng
- + 02 miếng dán đậy các giếng phản ứng khi làm xét nghiệm

2.2. *Hóa chất:*

- 96 giếng gắn kháng thể kháng 17-OHP IgG
- Dung dịch dừng phản ứng: 1 lọ 12mL chứa acid sulfuric, 0,15 mol/L

- Dung dịch Conjugate chứa 17-OHP gắn enzym peroxidase
- Dung dịch cơ chất TMB: 1 lọ chứa 3,3, 5,5 tetramethylbenzidine (H₂O₂-TMB 0,25 g/L)
- Chuẩn 17OHP: 6 lọ x 1mL: 0.0 ng/mL, 0.2 ng/mL , 0.4 ng/mL, 1.6 ng/mL, 6.4 ng/mL, 19.2 ng/mL

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông. Máu không vỡ hồng cầu.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 1 ngày ở 15-25°C. Nếu không thực hiện xét nghiệm trong ngày, phải bảo quản đông lạnh.
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng 17-OHP máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm 17-OHP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm 17-OHP đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu 17-OHP trong huyết thanh, huyết tương:

Trẻ nhỏ: 0.2-0.9 ng/mL

Nam: 0.2-2.3 ng/mL

Nữ: 0.2-1.3 ng/mL (thời kỳ kinh nguyệt: 1.0-4.5 ng/mL)

- Nồng độ 17-OHP trong huyết thanh phụ thuộc vào tuổi, với nồng độ cao nhất là trong suốt thai kỳ và ngay sau khi sinh. Ở trẻ 1 tuần tuổi nồng độ 17-OHP huyết thanh giảm 50 lần so với nồng độ 17-OHP trong máu cuống rốn. Đối với trẻ nam 30-60 ngày tuổi sau sinh có sự tăng 17-OHP thoáng qua. Trong suốt thời kỳ thơ ấu giá trị 17-OHP ở cả hai giới duy trì không đổi ở mức thấp, và sau đó tăng dần lên trong thời kỳ dậy thì (giá trị 17-OHP khoảng 3.03 nmol/l ~10.0 ng/mL). Cũng như cortisol, 17-OHP thay đổi trong ngày, với nồng độ đạt cao nhất vào buổi sáng và thấp nhất vào ban đêm. Đối với phụ nữ 17-OHP cũng tăng trong thời kỳ kinh nguyệt, và trong 3 tháng đầu thai kỳ.

- Nếu trẻ sơ sinh có nồng độ 17-OHP cao đáng kể, thì trẻ có khả năng mắc CAH. Nếu một người có mức độ tăng vừa phải, thì người đó có thể bị CAH ít nghiêm trọng hơn hoặc có thể bị thiếu 11-beta-hydroxylase (một khiếm khuyết enzyme khác có liên quan đến CAH).

- Kết quả 17-OHP bình thường có nghĩa là người bệnh không mắc CAH do thiếu 21-hydroxylase.

- Nồng độ thấp hoặc giảm ở người mắc CAH cho thấy có đáp ứng với điều trị.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Phản ứng chéo: 17 α OH progesterone : 1.3%

Progesterone : 1.2%

ĐỊNH LƯỢNG α 2-MACROGLOBULIN MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Alpha 2-macroglobulin là một chất ức chế protease có tác động đặc biệt đến enzyme tiêu hóa. Nó vận chuyển hormone và enzyme, thể hiện các chức năng kích thích và ức chế trong việc phát triển hệ thống bạch huyết và ức chế các thành phần của bộ thể và hệ thống đông máu. Nồng độ thay đổi trong suốt cuộc đời và khác nhau ở mỗi giới. Với tình trạng tăng tiêu hủy fibrin, sau cuộc phẫu thuật lớn, các người bệnh bị nhiễm trùng huyết và suy gan nặng có mức α 2-macroglobulin thường thấp. Người bệnh bị viêm tụy cấp có nồng độ thấp trong huyết thanh thể hiện mối tương quan với độ nặng của bệnh. Đối với người bệnh nhồi máu cơ tim cấp có nồng độ α 2-macroglobulin thấp có tiên lượng tốt với thời gian sống > 1 năm. Xét nghiệm α 2-macroglobulin là một xét nghiệm chẩn đoán phân biệt quan trọng của hội chứng viêm thận. Ở đây, sự tăng tỉ lệ α 2-macroglobulin/albumin là một biểu hiện của huyết niệu thận. Ở những người bệnh xơ hóa gan và đái tháo đường, mức α 2-macroglobulin tăng.

Protein chứa trong dịch cơ thể người hình thành phức thể miễn nhiễm trong phản ứng hóa miễn dịch với kháng thể đặc hiệu. Các phức hợp này phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của protein tương ứng trong mẫu. Kết quả được đánh giá bằng cách so sánh với chuẩn đã biết nồng độ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cotton sát trùng, găng tay, ...

2.2. Hoá chất

Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc

- N Antiserum to Human α 2-Macroglobulin là huyết thanh động vật được sản xuất bằng sự tạo miễn dịch của thỏ với α 2-macroglobulin người độ tinh khiết cao. Nồng độ của kháng thể hoạt động là < 26 g/L.

Chất bảo quản: Sodium azide < 1 g/L

- Đóng gói: 1x 2.0 mL hoặc 1x5 mL
- Bảo quản và độ ổn định:
Chưa mở hộp: ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc
Đã mở hộp thuốc: 4 tuần nếu được lưu trữ ở 2–8 °C, được đậy nắp cẩn thận ngay sau khi sử dụng và không bị nhiễm (eg., vi sinh vật)

Hóa chất khác nhưng không được cung cấp trong hộp thuốc

N Protein Standard SL
N/T Protein Controls SL/L, M và H
N/T Protein Control LC
N Reaction Buffer
N Diluent

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu máu:

Huyết thanh hoặc huyết tương (Lithium heparin)

- Mẫu huyết thanh, huyết tương càng mới càng tốt. Lưu tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày; Tại nhiệt độ -20 °C đến 3 tháng
- Mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu ra sử dụng không trữ đông lại. Mẫu huyết thanh, huyết tương sau khi rã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15,000 x g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

Mẫu nước tiểu

- Mẫu nước tiểu mới ngẫu nhiên hoặc được ghi nhận thời gian.
- Mẫu nước tiểu trữ đông không được khuyến cáo sử dụng.
- Mỗi mẫu nước tiểu cần được ly tâm trước khi xét nghiệm. Đối với các mẫu nước tiểu có giá trị pH < 6.0 cần phải được điều chỉnh về pH 7-9 càng sớm càng tốt sau khi nhận mẫu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Cách vận hành

- Máy phân tích đã được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm α 2-macroglobulin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm α 2-macroglobulin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm α 2-macroglobulin đạt yêu cầu: trong dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh

2.2. Xây dựng đường cong hiệu chuẩn

Đường cong hiệu chuẩn được xây dựng bởi nhiều nồng độ chuẩn. Một chuỗi các pha loãng của N Protein Standard SL được thực hiện tự động bởi máy sử dụng N Diluent. Dung dịch chuẩn pha loãng được sử dụng trong vòng 4 giờ. Đường cong chuẩn có thể được sử dụng khi chất kiểm chuẩn với phương pháp tương ứng, như N/T Protein Controls SL/L, M và H cho huyết thanh và huyết tương và N/T Protein Control LC cho nước tiểu, được lặp lại trong khoảng tin cậy tương ứng. Cần thiết lập đường chuẩn mới khi một lô thuốc thử mới được đưa vào sử dụng.

2.2.1. Mẫu bệnh phẩm

Mẫu huyết thanh và huyết tương được pha loãng tự động 1:20 với N Diluent. Mẫu nước tiểu không cần pha loãng. Mẫu pha loãng cần được đo trong vòng 4 giờ. Nếu kết quả thu được nằm ngoài khoảng đo, cần chạy lại mẫu với độ pha loãng cao hơn hoặc thấp hơn.

2.2.2. Nội kiểm (IQC)

Cần phân tích ít nhất hai mức IQC của α 2-macroglobulin: ví dụ /T Protein Controls SL/L, M hoặc H cho α 2- macroglobulin trong mẫu huyết thanh, huyết tương. IQC cần tuân theo các qui định hiện hành hoặc các yêu cầu về quản lý chất lượng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khoảng tham chiếu α 2-macroglobulin

- Huyết thanh và huyết tương người lớn khỏe mạnh: 1.3 đến 3.0 g/L
- Nước tiểu của người khỏe mạnh thấp hơn giới hạn phát hiện của xét nghiệm này.
- Tuy nhiên, mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu riêng vì giá trị có thể khác nhau theo từng nhóm dân số.

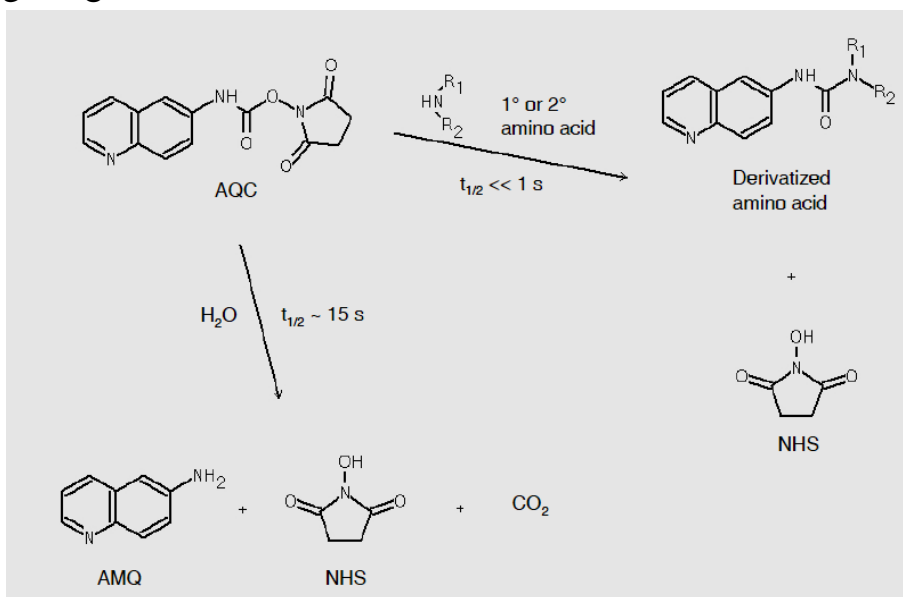
V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu máu: khi nồng độ triglycerid lên đến 6,5 mmol/L (5,7 g/L), bilirubin 1026 μ mol/L (0,6 g/L) và hemoglobin 10 g/L không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.
- Chưa ghi nhận sự gây nhiễu từ các loại thuốc thông thường.
- Bệnh phẩm đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm bằng cách ly tâm 15.000g/10 phút).
- Những thay đổi từ người sử dụng sẽ không được khuyến cáo do có thể ảnh hưởng đến hiệu năng của máy và kết quả xét nghiệm. Người sử dụng có trách nhiệm thẩm định những sự thay đổi so với hướng dẫn trong Siemens Application Sheets hoặc IFU.
- Khi nhận định kết quả xét nghiệm luôn chú ý kết hợp cùng với tiền sử, bệnh lý, biểu hiện lâm sàng và các ghi nhận khác. Do ảnh hưởng bởi chất nền, các mẫu khảo sát liên phòng xét nghiệm và các mẫu kiểm chuẩn có thể cho kết quả khác khi thực hiện bằng phương pháp khác. Do đó, cần đánh giá kết quả trong mối tương quan với giá trị mục tiêu cụ thể của từng phương pháp.

ĐỊNH LƯỢNG ACID AMIN MÁU VÀ DỊCH SINH HỌC BẰNG MÁY SẮC KÝ LỎNG SIÊU HIỆU NĂNG (UPLC)

I. NGUYÊN LÝ

- Mẫu thử được khử protein bằng dung dịch acid sulfosalicylic (SSA) chứa nội chuẩn norvaline (Nva). Phương pháp phân tích acid amin bao gồm các giai đoạn sau:
 - o Kiểm hoá mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu trắng (blank) đã được khử tạp bởi SSA bằng dung dịch NaOH/ borat.
 - o Phản ứng tạo dẫn xuất:
- Dẫn xuất hoá các acid amin trong mẫu thử bằng AQC (6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate) để chuyển các acid amin bậc một và bậc hai thành các chất có thể phát hiện được bằng đầu dò cực tím (UV).
- Phản ứng tạo dẫn xuất hoàn toàn đòi hỏi một lượng dư số mol AQC. Lượng dư này sẽ bị thủy phân thành sản phẩm phụ là 6-aminoquinoline (AMQ), N-hydroxysuccinimide (NHS) và CO₂, những sản phẩm phụ này không gây cản trở cho quá trình phân tích. Riêng AMQ sẽ tạo ra một peak có ý nghĩa và dễ dàng nhận biết được. Phản ứng thủy phân này xảy ra chậm hơn so với phản ứng tạo dẫn xuất.
- Lưu ý: Creatinin không được dẫn xuất bởi thuốc thử AMQ nên sẽ không xuất hiện peak sắc ký đối với creatinin. Riêng urê sẽ được dẫn xuất kép (do cấu tạo phân tử đặc biệt) để tạo nên dẫn xuất urê đối xứng. Peak của urê sẽ được đánh dấu bằng chữ “Derivation Peak” trên sắc ký đồ.
- Phân tách các dẫn xuất AQC của acid amin bằng phương pháp UPLC, định lượng bằng đầu dò TUV.



* Phản ứng tạo dẫn xuất

- Hệ thống UPLC ứng dụng trong phân tích acid amin có đặc điểm: sử dụng áp suất cao chạy trên các cột phân tích có kích thước tiểu phần $1,7\mu\text{m}$, đường kính cột $2,1\text{mm}$, chiều dài cột 150mm . Hệ thống cho phép phát hiện và định lượng 42 loại acid amin phổ biến và các hợp chất có liên quan với tốc độ 45 phút/ mẫu. Thời gian phân tích được rút ngắn trong khi độ nhạy, độ đặc hiệu và hiệu năng phân tách được cải thiện là ưu điểm của hệ thống UPLC so với các phương pháp khác.

II. CHUẨN BỊ

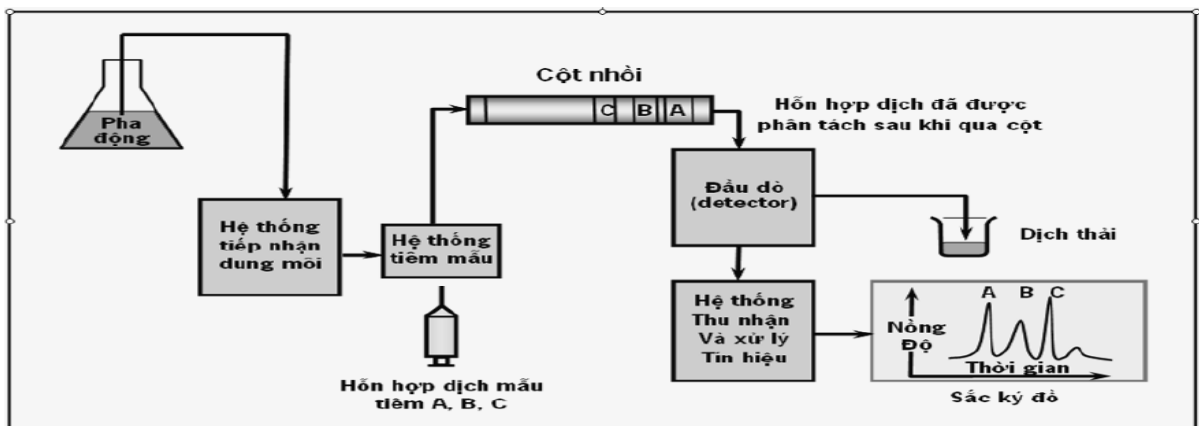
1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- o ACQUITY UPLC System: Hệ thống bao gồm:
 - Hệ thống bơm cao áp và quản lý dung môi
 - Bộ quản lý dung môi bốn dòng dung môi
 - Bộ quản lý mẫu với Flow Through Needle
 - Bộ ổn nhiệt cho cột với bộ tiền làm nóng linh hoạt
 - Khay chứa dung môi
 - Bộ kit hoạt động cho máy
 - Các sensors phát hiện rò rỉ
 - Detector
 - Phần mềm điều khiển, máy tính, máy in
 - Bộ phụ kiện cho chuẩn bị mẫu



Hình: Sơ đồ hệ thống UPLC

- o Máy li tâm thường và ly tâm tốc độ cao.
- o Máy lắc.

- Tủ âm.
- Máy rửa dụng cụ bằng sóng siêu âm.
- Bộ lọc dung môi.
- Cột sắc ký: cột phân tích có kích thước tiểu phân 1,7 μ m, đường kính cột 2,1mm, chiều dài cột 150mm.
- Giấy lọc với kích thước lọc 0,2 μ m.

2.2. Hóa chất: tất cả các dung dịch và hóa chất sử dụng cho hệ thống đều phải là chuẩn HPLC hoặc tốt hơn.

Acetonitrile đậm đặc.

Nước cất

Methanol đậm đặc

Acid formic đậm đặc

MasTrak AAA standards (bộ kit chuẩn): gồm có

- Các amino acid tan trong acid.
- Các amino acid tan trong base.
- allo-Isoleucine
- Glutamine
- Norvaline
- Tryptophan

MasTrak AAA eluent A: thành phần 8-10% acetonitrile, 4-6% formic acid, 84-88% ammonium acetate/water solution.

MasTrak AAA derivatization kit: bộ kit tạo dẫn xuất gồm có

- Borate buffer: <5% sodium tetraborate and >95% water
- Reagent powder (2A): 6-aminoquinolyl-N-hydroxy-succinimidyl carbamate (AQC)
- Reagent diluents (2B): acetonitrile

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Huyết tương, nước tiểu và dịch não tủy là mẫu bệnh phẩm sử dụng cho xét nghiệm này.

- **Thu thập, xử lý và bảo quản mẫu máu:** Máu toàn phần tĩnh mạch được thu thập vào ống chống đông bằng heparin với thể tích tối thiểu là 1 mL, tối đa là 2 mL. Sau khi thu thập, mẫu được vận chuyển ngay tới phòng xét nghiệm. Tiến hành ly tâm ngay sau khi nhận mẫu với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút, tách huyết tương và bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích. Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

- **Thu thập, xử lý và bảo quản nước tiểu:** Nước tiểu ngẫu nhiên được thu thập vào các ống đựng bệnh phẩm sạch, không có chất bảo quản. Thể tích tối thiểu là 2 mL. Vận chuyển ngay tới phòng xét nghiệm, ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút, chắt dịch trong và bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích. Một phần nước tiểu được sử dụng để định lượng

- **Thu thập, xử lý và bảo quản dịch não tủy:** Dịch não tủy được thu thập vào các ống đựng bệnh phẩm sạch, không có chất bảo quản. Thể tích tối thiểu là 0,5 ml. Vận chuyển ngay tới phòng xét nghiệm, ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút, chắt dịch trong và bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích.

- Mẫu huyết tương/ nước tiểu từ ngoài bệnh viện cần phải bảo quản đông lạnh.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khoảng tham chiếu

Bảng 1. Khoảng tham chiếu của acid amin huyết tương (đơn vị: umol/L):

Acid amin	Kết quả thông báo	0-1 tháng	1-24 tháng	2-18 tuổi	>18 tuổi
Alanine	Có	131-710	143-439	152-547	177-583
Allo-isoleucine	Không	0-5	0-5	0-5	0-5
Alpha-aminoadipic acid	Không	0-1	0-1	0-1	0-6
Alpha-aminobutyric acid	Không	8-24	3-26	4-31	5-41
Arginine	Có	6-140	12-133	10-140	15-128
Argininosuccinic acid	Có	0-8	0-8	0-8	0-8
Asparagine	Có	29-132	21-95	23-112	35-74
Aspartic acid	Có	0-129	0-23	0-24	0-25
Beta-alanine	Không	0-10	0-7	0-7	0-12
Citrulline	Có	10-45	3-35	1-46	12-55
Cystathionine	Có	0-3	0-5	0-3	0-3
Cystine	Có	17-98	16-84	5-45	5-82
Ethanolamine	Không	0-115	0-4	0-7	0-153
Glutamic acid	Có	62-620	10-133	5-150	10-131
Glutamine	Có	376-709	246-1182	254-823	205-756
Glycine	Có	232-740	81-436	127-341	151-490
Histidine	Có	30-138	41-101	41-125	41-125
Homocitrulline	Không	0-15	0-8	0-8	0-8
Homocystine	Có	0-1	0-1	0-5	0-1
Hydroxylysine	Không	0-7	0-7	0-2	0-1
Isoleucine	Có	26-91	31-86	22-107	30-108
Leucine	Có	48-160	47-155	49-216	72-201
Lysine	Có	92-325	52-196	48-284	48-284
Methionine	Có	10-60	9-42	7-47	10-42
l-Methylhistidine	Không	0-43	0-44	0-42	0-42
Ornithine	Có	48-211	22-103	10-163	48-195
Phenylalanine	Có	38-137	31-75	26-91	35-85
Phosphoethanolamine	Không	0-27	0-6	0-69	0-40
Phosphoserine	Không	0-47	0-20	0-30	0-14
Serine	Có	99-395	71-186	69-187	58-181
Taurine	Không	46-492	15-143	10-170	54-210
Threonine	Có	90-329	24-174	35-226	60-225

Bảng 2. Khoảng tham chiếu của các acid amin niệu (đơn vị: umol/mmol creatinine)

(tham khảo bảng 1 các acid amin không thông báo kết quả)

Amino Acid	0-1 tháng	1-12 tháng	1-3 năm	3-8 năm	8-16 năm	>16 năm
Alanine	34-358	27-313	12-185	15-97	12-67	10-57
Allo-isoleucine	0-5	0-5	0-5	0-5	0-5	0-5
Alpha-aminoadipic acid	7-96	7-110	7-93	10-74	6-45	3-36
Alpha-aminobutyric acid	0-43	0-58	0-20	0-29	0-26	0-11
Arginine	0-81	0-40	0-15	0-11	0-9	0-5
Argininosuccinic acid	0-8	0-8	0-8	0-8	0-8	0-8
Asparagine	15-223	18-197	19-79	13-73	10-86	11-56
Aspartic acid	0-57	0-69	0-73	0-59	0-60	0-40
Beta-alanine	0-41	0-38	0-27	0-18	0-9	0-11
Citrulline	0-18	0-46	0-29	0-23	0-17	0-15
Cystathionine	0-26	0-11	0-29	0-21	0-13	0-4
Cystine	5-109	2-42	1-23	1-20	1-17	0-21
Ethanolamine	33-253	57-221	37-144	26-111	26-111	11-88
Glutamic acid	0-96	0-102	0-89	0-53	0-44	0-47
Glutamine	37-600	63-446	57-205	45-165	33-125	20-92
Glycine	127-2042	133-894	103-404	100-280	83-254	37-371
Histidine	23-676	69-392	57-262	61-259	43-211	21-164
Homocitrulline	0-25	0-20	0-20	0-20	0-20	0-20
Homocystine	0-5	0-5	0-5	0-5	0-5	0-5
Hydroxylysine	0-49	0-50	0-14	0-7	0-15	0-4
Isoleucine	0-37	0-21	0-12	0-7	0-8	0-7
Leucine	4-84	4-72	3-45	3-22	3-17	3-10
Lysine	6-464	4-80	4-37	5-51	1-65	2-63
Methionine	0-24	0-18	0-12	0-8	0-10	0-7
1-Methylhistidine	0-78	0-98	2-242	4-359	3-362	2-290
Ornithine	0-37	0-19	0-15	0-8	0-5	0-4
Phenylalanine	2-49	7-42	4-33	5-25	2-26	2-13
Phosphoethanolamine	0-167	0-216	0-225	0-195	0-177	0-325
Phosphoserine	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Serine	48-509	34-329	46-143	40-94	28-94	15-85
Taurine	12-1057	10-809	6-267	7-264	28-268	13-534
Threonine	9-337	12-145	7-73	10-67	10-48	4-48
Tryptophan	1-46	3-37	2-29	2-27	2-27	2-12
Tyrosine	5-74	12-64	8-38	8-32	5-30	4-21

Bảng 3. Khoảng tham chiếu của acid amin dịch não tủy

(Đơn vị: umol/L.)

Amino Acid	0-12 tháng	1-18 năm	>18 năm
Alanine	15-60	12-41	12-48
Alpha-aminoadipic acid	0-1	0-1	0-1
Alpha-aminobutyric acid	1-5	1-5	0-8
Arginine	7-40	13-31	13-35
Asparagine	3-37	3-16	0-18
Aspartic acid	0-17	0-11	0-5
Citrulline	0-9	0-8	0-6
Cystine	0-1	0-1	0-1
Ethanolamine	3-32	9-26	9-26
Glutamic acid	0-50	0-11	0-11
Glutamine	231-940	352-824	284-680
Glycine	3-19	3-8	2-14
Histidine	7-38	9-30	11-25
Homocystine	0-1	0-1	0-1
Isoleucine	1-16	1-12	0-13
Leucine	5-35	6-20	4-27
Lysine	7-42	10-37	15-43
Methionine	2-30	1-7	0-9
Ornithine	2-21	2-19	2-9
Phenylalanine	6-40	4-23	2-19
Phosphoserine	3-7	3-7	3-7
Serine	25-105	21-86	19-38
Taurine	4-62	4-14	3-12
Threonine	12-178	14-130	22-53
Tryptophan	0-8	0-8	0-8
Tyrosine	5-54	5-25	2-14
Valine	7-48	9-29	5-38

Tỷ số glycine DNT/ huyết tương ở trẻ sơ sinh:

Tỷ số glycine DNT/ huyết tương: 0.012 - 0.040

Có rất nhiều bệnh chuyển hoá di truyền gây bất thường acid amin trong huyết tương và / hoặc nước tiểu, như bệnh cystin niệu (cystinuria), bệnh siro niệu (maple syrup urine disease), bệnh lý chu trình ure (urea cycle defects), tăng glycin máu không nhiễm keton (nonketotic hyperglycinemia), homocystin niệu và phenylketon niệu (phenylketonuria). Một số bệnh lý acid amin lành tính, tuy nhiên số khác lại gây ra các vấn đề sức khoẻ trầm trọng. Nếu phát hiện sớm và điều trị thích hợp, có thể cứu sống được người bệnh và các biến chứng có thể ngăn ngừa hoặc kiểm soát được.

Rất nhiều bệnh di truyền gây thiếu hụt các enzyme ảnh hưởng đến quá trình dị hoá acid amin, làm tăng một hoặc nhiều acid amin trong huyết tương. Khi nồng độ acid amin huyết tương tăng cao, có thể xuất hiện acid amin niệu (aminoaciduria).

Một số bệnh di truyền ảnh hưởng đến cơ chế tái hấp thu acid amin ở thận, gây amino acid niệu trong khi nồng độ các acid amin này trong huyết tương bình thường hoặc thấp. Nhiều yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ các acid amin trong huyết tương và / hoặc trong nước tiểu, như nhịp ngày đêm, thức ăn/ dinh dưỡng ngoài đường tiêu hoá, trẻ đẻ non, bệnh gan hoặc thận, tác động của thuốc/ chất độc, và các tạp chất có trong mẫu do thu thập mẫu không đúng hay do quá trình khử protein. Bảng sau liệt kê danh sách theo trình tự alphabe của các acid amin về các bất thường có thể gặp.

Acid Amin	Bất thường
Alanine	Tăng trong: <ul style="list-style-type: none"> • Các trường hợp tăng lactate/pyruvate. • Thứ phát trong nhiễm acid lactic (lactic acidosis). • Rối loạn tiên phát chuyển hoá pyruvate. • Rối loạn chu trình ure (có tăng cả glutamine). • Sử dụng valproate làm tăng alanine và glycine.
Allo-isoleucine	Tăng trong MSUD (bệnh siro niệu)
α -Aminoadipic acid	Tăng trong 2-ketoadipic acidemia (do thiếu 2-ketoadipic dehydrogenase).
Arginine	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong argininemia (UCD do thiếu hụt arginase). • Tăng trong nước tiểu trong chứng cystin niệu, • Tăng trong nước tiểu trong chứng acid amin dibase niệu và không dung nạp protein chứa lysin (cystine không tăng). • Tăng do truyền arginine. • Tăng sau ăn dưa hấu • Giảm do huyết tán hoặc nhiễm các tế bào máu trong huyết tương, do chuyển arginine thành ornithine bởi arginase hồng cầu.
Argininosuccinic acid	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong argininosuccinic niệu (UCD do thiếu hụt argininosuccinase). • Tăng trong nước tiểu trong citrullinemia type II.
Asparagine	<ul style="list-style-type: none"> • Có thể tăng trong giảm khử độc amoniac • Giảm bởi phân huỷ tự phát hay do vi khuẩn thành aspartic acid.
Aspartic acid	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong nước tiểu trong dicarboxylic aminoaciduria. • Tăng do phân huỷ asparagine bởi vi khuẩn hoặc tự phát. • Tăng trong huyết tán hoặc nhiễm tế bào máu vào huyết

	tương
β -Alanine	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong bệnh tăng β-alanine máu (được cho là tổn thương quá trình trao đổi amin của β-alanine). • Tăng trong nước tiểu sau khi ăn thịt, đặc biệt thịt gia cầm (1-methylhistidine, carnosine và anserine cũng tăng). • Tăng do thuốc: sử dụng thuốc chống co giật γ-vinyl-GABA (Vigabatrin™) có thể làm tăng β-alanine huyết tương, GABA và acid β-amino-isobutyric.
Citrulline	<p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Citrullinemia (UCD do thiếu hụt argininosuccinate synthetase). • Ú mật trong gan sơ sinh do thiếu hụt citrin (NICCD). • Không dung nạp protein chứa lysine (Lysinuric protein intolerance). • Ăn dưa hấu.
Cystathionine	<p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cystathionin niệu tiên phát (Primary cystathioninuria) (thiếu γ-cystathionase). • Cystathionin niệu thứ phát (Secondary cystathioninuria) liên quan đến thiếu vitamin B6, nhiễm độc tuyến giáp, neuroblastoma và ung thư tế bào gan.
Cystine	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong nước tiểu trong chứng cystin niệu (tổn thương quá trình vận chuyển cystine, ornithine, arginine và lysine), tạo sỏi cystine ở thận.
Ethanolamine	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong bệnh gan. • Ethanolamin niệu (Ethanolaminuria) có thể là dấu hiệu không đặc hiệu của bệnh thần kinh nặng
Glutamic acid	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong nước tiểu trong dicarboxylic aminoaciduria. • Tăng do phân huỷ glutamine ngẫu nhiên hoặc do vi khuẩn. • Tăng trong huyết tán hoặc huyết tương bị nhiễm tế bào máu • Tăng trong nước tiểu do nhiễm phân
Glutamine	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong rối loạn chu trình urea (urea cycle disorders) cùng với tăng ammoniac huyết tương. • Tăng trong hội chứng không dung nạp protein chứa lysine

	<p>(lysinuric protein intolerance).</p> <ul style="list-style-type: none"> Giảm do phân huỷ thành glutamic acid ngẫu nhiên hoặc do vi khuẩn.
Glycine	<p>Tăng trong</p> <ul style="list-style-type: none"> Tăng glycin máu không nhiễm ceton (Nonketotic hyperglycinemia – còn gọi là bệnh não glycine, do tổn thương phức hợp enzyme thoái hoá glycine trong ty thể, tăng tỷ số glycine DNT/ huyết tương) Propionic acidemia. Methylmalonic acidemia. Sử dụng valproate (tăng glycine và alanine). <p>Huyết tán hoặc huyết tương nhiễm tế bào máu</p> <p>Tăng trong nước tiểu trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> Tăng proline máu type I (do thiếu proline oxidase) and type II (có thể do thiếu pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase). Iminoglycinuria (rối loạn vận chuyển qua màng lạnh tính) Nước tiểu nhiễm vi khuẩn (phân huỷ hippuric acid).
Histidine	<ul style="list-style-type: none"> Tăng histidine máu (thiếu histidase). Tăng histidine trong nước tiểu (tổn thương vận chuyển histidine ở ruột/ thận). Tăng trong nước tiểu khi có thai.
Homocitrulline	<ul style="list-style-type: none"> Tăng ornithine máu-tăng ammoniac máu- chứng homocitrulline niệu (hyperornithinemia-hyperammonemia- homocitrullinuria (hội chứng HHH, tổn thương có thể trong vận chuyển ornithine qua màng trong ty thể vào matrix) Tăng ở trẻ em dùng sữa công thức (nguyên nhân hay gặp nhất tăng trong nước tiểu).
Homocystine	<p>Tăng homocysteine máu do giảm hoạt tính Cystathionine β-synthase (methionine huyết tương cũng tăng):</p> <ul style="list-style-type: none"> Tổn thương cystathionine β-synthase do di truyền. Dùng 6-Azauridine triacetate (an anti-psoriatic). Điều trị bằng Isoniazid (lao). <p>Tăng homocysteine máu do giảm hoạt tính 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase (methionine synthase) (methionine huyết tương bình thường)</p>

	<p>hoặc thấp):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Thiếu hụt Methylene tetrahydrofolate reductase. • Tổn thương quá trình hấp thu hoặc chuyển hoá vitamin B₁₂. • Suy dinh dưỡng thiếu B₁₂ hoặc folate. <p>Tăng homocystine giả tạo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cystathionine niệu (chuyển cystathionine thành homocystine do vi khuẩn). <p>Tăng homocysteine giả tạo trong máu toàn phần chưa ly tâm ở nhiệt độ phòng.</p> <p>Giảm homocystine trong mẫu chậm khử tạp protein.</p> <p>Giảm homocysteine toàn phần (<1uM) trong thiếu hụt sulfite oxidase và cofactor molybdenum.</p> <p>Lưu ý: huyết tương phải khử protein ngay lập tức sau khi thu thập.</p>
Isoleucine	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong bệnh siro niệu (nước tiểu người bệnh có mùi thơm) • Tăng trong nhịn đói 1-2 ngày. • Tăng trong nước tiểu nhiễm phân
Leucine	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong bệnh siro niệu • Tăng trong nhịn đói 1-2 ngày. • Tăng trong nước tiểu nhiễm phân.
Lysine	<p>Tăng trong bệnh tăng lysin máu gia đình và saccharopin niệu (tổn thương protein hai chức năng α-amino adipic semialdehyde synthase).</p> <p>Tăng trong nước tiểu trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Không dung nạp protein chứa lysin (Tăng acid amin dibase niệu type II, di truyền lặn do bất thường vận chuyển của lysin, arginine và ornithine) • Tăng acid amin dibase niệu type I (Di truyền trội NST thường) • Tăng lysine niệu đơn độc (Isolated lysinuria). • Cystin niệu và argininemie
Methionine	<p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Thiếu hụt methionine adenosyltransferase của gan (MAT) y (cùng với tăng methionine sulfoxide).

	<ul style="list-style-type: none"> • Tyrosinemia type I (thiếu hụt fumarylacetoacetate hydrolase). • Homocystine niệu do thiếu hụt cystathionine β-synthase. • Tăng methionine máu tạm thời ở trẻ nhỏ. • Trẻ nhỏ ăn thực phẩm có DL-methionine. • Chỉ định 6-Azauridine triacetate (an anti-psoriatic). • Tăng methionine máu không rõ cơ chế.
1-Methylhistidine	Tăng trong nước tiểu sau khi ăn thịt, đặc biệt là gia cầm (β -alanine, carnosine và anserine cũng tăng trong nước tiểu).
Ornithine	<p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Làm teo màng mạch và võng mạc (thiếu ornithine \square aminotransferase). • Tăng ornithine máu- tăng ammoniac máu- chứng homocitrulline niệu. • Điều trị Isoniazid (nhiễm lao). • Huyết tán, huyết tương nhiễm tế bào máu do chuyển arginine thành ornithine bởi RBC arginase. <p>Tăng trong nước tiểu trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cystine niệu. • Chứng acid amin dibase niệu và không dung nạp protein chứa lysin.
Phenylalanine	<p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Phenylketon niệu (PKU) và tăng phenylalanine máu do thiếu hụt tiên phát phenylalanine hydroxylase. • Giảm tổng hợp hoặc tái sử dụng cofactor tetrahydrobiopterin (BH_4). • Tăng phenylalanine máu nhất thời ở trẻ sơ sinh. • Tyrosinemia nhất thời ở trẻ sơ sinh. • Sử dụng Paracetamol (một số sản phẩm có chứa phenylalanine hoặc tiền chất của nó aspartame). • Bệnh gan <p>Lưu ý: Sàng lọc PKU cần lấy mẫu 48 giờ sau sinh để trẻ có thể sử dụng protein 2 ngày.</p>
Phosphoethanolamine	<ul style="list-style-type: none"> • Tăng trong nước tiểu trong hypophosphatasia (thiếu ALP isoenzymes không đặc hiệu mô)

	<ul style="list-style-type: none"> Giảm do thoái hoá thành ethanolamine tự phát hoặc do vi khuẩn.
Saccharopine	Tăng trong saccharopin niệu và tăng lysin máu gia đình (rối loạn chuyển hoá lysine)
Serine	Giảm trong thiếu hụt 3-phosphoglycerate dehydrogenase (rối loạn sinh tổng hợp serine). Glycine cũng có thể thấp.
Taurine	<ul style="list-style-type: none"> Tăng trong nước tiểu trong thiếu molybdenum cofactor và thiếu sulfite oxidase đơn độc. Tăng trong nước tiểu trong bệnh tăng β-alanine máu. Tăng trong thoái hoá cơ Tăng sau ăn tôm cua sò (shellfish) hoặc thực phẩm bổ sung taurine. Tăng trong huyết tán hoặc huyết tương nhiễm tế bào máu (leukocytes và platelets)
Threonine	<ul style="list-style-type: none"> Tăng ở trẻ nhỏ ăn sữa công thức. Có thể tăng trong bệnh gan. Rối loạn chuyển hoá không đặc hiệu
Tyrosine	<p>Tăng trong</p> <ul style="list-style-type: none"> Tyrosinemia nhất thời trẻ sơ sinh. Rối loạn nặng chức năng tế bào gan. Tyrosinemia type I (hepatorenal tyrosinemia), do thiếu fumarylacetoacetate hydrolase, tăng succinylacetone và δ-aminolevulinic acid. Tyrosinemia type II (Oculocutaneous tyrosinemia), do thiếu tyrosine aminotransferase. Tyrosinemia type III, do Thiếu 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. Sau ăn Chảy máu do thiếu vitamin C (Scurvy). Cường giáp.
Valine	<ul style="list-style-type: none"> Tăng trong bệnh siro niệu. Tăng valine máu (leucine và isoleucine không tăng) Nhịn đói 1-2 ngày. Tăng trong nước tiểu nhiễm phân.

Acid amin trung tính	Tăng trong nước tiểu trong bệnh Hartnup (do tổn thương hệ thống vận chuyển acid amin trung tính. Acid amin trung tính glycine và cystine không tăng).
Amino acid	<p>Amino acid niệu toàn thể có thể do:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cystinosis (tích lũy cystine trong tiêu thể trong các mô khác nhau của cơ thể), nguyên nhân hay gặp nhất của hội chứng Fanconi di truyền thứ phát ở trẻ em. • Galactosemia. • Bệnh Wilson. • Tyrosinemia type I. • Không dung nạp fructose di truyền (Hereditary fructose intolerance). • Bệnh dự trữ Glycogen type I. • Hội chứng Lowe. • Hội chứng Fanconi. • Dinh dưỡng hoàn toàn ngoài đường tiêu hoá. • Ngộ độc kim loại nặng (cadmium, uranium, mercury, chì và platinum). • Tăng thoái giáng protein trong đói và bệnh. • Hoại tử ống thận cấp. • Rất nhiều thuốc (đặc biệt là kháng sinh).

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Một số yếu tố nhiễu trình bày ở bảng trên. Có thể tóm tắt lại dưới đây:

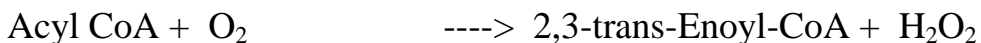
1. Phân huỷ tự phát
 - a) Glutamine và asparagine không ổn định và thoái hoá từ từ tương ứng thành glutamic acid và aspartic acid.
 - b) Phosphoethanolamine thoái hoá thành ethanolamine (và phosphate).
2. Huyết tán hoặc huyết tương nhiễm tế bào máu
 - a) Giảm arginine và tăng ornithine.
 - b) Tăng aspartic acid, glutamic acid và glycine.
 - c) Tăng taurine do leukocytes và tiểu cầu.
3. Nhiễm khuẩn
 - a) Chuyển glutamine và asparagine thành glutamic acid và aspartic acid.

- b) Trong nước tiểu, giảm glycine, alanine và nhiều acid amin khác có thể xảy ra do nhiễm khuẩn, nhưng glycine có thể tăng do phân hủy hippuric acid bởi vi khuẩn.
 - c) Cystathionine có thể chuyển thành homocystine.
4. Nước tiểu nhiễm phen
Tăng rất cao glutamic acid và acid amin mạch nhánh (branched-chain amino acids).
5. Chậm khử protein
Giảm các acid amin chứa disulfide, chủ yếu cystine và homocystine. Các acid amin này thực hiện phản ứng trao đổi với các phân tử protein chứa nhóm sulfhydryl, dần dần gắn protein.
6. Ví dụ các yếu tố nhiễu trong thực phẩm và thuốc:
- a) glycine và alanine cao khi dùng valproate.
 - b) beta-alanine (cả GABA và beta-aminoisobutyric acid) cao khi dùng gamma-vinyl-GABA (vigabatrin™).
 - c) Tăng acid amin máu/ nước tiểu trong ăn nhiều, đặc biệt khi chế độ ăn nhiều protein
 - d) Tăng bài tiết beta-alanine và 1-methylhistidine (cả carnosine và anserine) do ăn thịt, đặc biệt là thịt gia cầm.
 - e) Tăng bài tiết taurine sau ăn tôm cua sò.
 - f) Homocitrulline thường thấy trong nước tiểu trẻ em ăn sữa công thức

ĐỊNH LƯỢNG ACID BÉO TỰ DO MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Acid béo tự do trong máu được định lượng bằng phương pháp đo màu



4-AAP: 4-aminoantipyrine

TOOS: N-ethyl-N-(2hydroxy-3-sulphopropyl) m-toluidine

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện

- Máy hóa sinh tự động. Ví dụ : AU2700/AU680...
- Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

- Thuốc thử định lượng acid béo tự do. Thuốc thử ổn định 30 ngày trên khay thuốc thử.
- Huyết thanh kiểm tra mức 1
- Huyết thanh kiểm tra mức 2
- Huyết thanh chuẩn
- Nước cất

3. Người bệnh:

Người bệnh và người nhà cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA. **Không sử dụng huyết tương chống đông bằng heparin.**

- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu sau khi lấy được để trong đá.
- Ly tâm lạnh, sau đó tách huyết thanh/ huyết tương ngay.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 2 giờ.

- Bảo quản bệnh phẩm ở - 20°C được 30 ngày.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Chuẩn bị máy hóa sinh tự động: chuẩn xét nghiệm (nếu cần) và tiến hành nội kiểm tra chất lượng (chạy IQC) cho xét nghiệm acid béo tự do.
- Nhận mẫu bệnh phẩm từ các khoa lâm sàng.
- Ly tâm mẫu bệnh phẩm trong 5 phút với vận tốc 5000 vòng/phút.
- Đưa vào máy phân tích.
- Thao tác vận hành máy theo quy trình vận hành máy.
- Duyệt kết quả
- Kiểm soát chất lượng:
 - + *Hàng ngày* : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.
 - + *Định kỳ* : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

Khoảng tham chiếu của acid béo tự do máu. Lúc đói: 0,1 – 0,9 mmol/L

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Vì thể ceton được tạo ra từ acid béo tự do để giúp duy trì nồng độ glucose máu; acid béo tự do, glucose máu và D-3-hydroxybutyrat cần được định lượng cùng lúc để đánh giá rối loạn chuyển hoá thể ceton và một số rối loạn chuyển hoá khác.

Glucose x D-3-hydroxybutyrat máu khoảng 8~12 ở người bệnh hạ glucose máu.

Nếu glucose là 2mM, D-3-hydroxybutyrat nên là 4-6mM trong tình trạng kiểm soát, do vậy nếu D-3-hydroxybutyrat là 1mM, đó là bất thường giảm tạo thể ceton (hypoketotic).

Tỷ số FFA/ D-3-hydroxybutyrat thường gần 1 (0.5- 2.5)

Bất thường trong tạo thể ceton (ketogenesis) và oxy hoá acid béo tỷ số này có thể tăng (>3), bất thường trong thoái hoá thể ceton (ketolysis) tỷ số này có thể giảm (<0.3).

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG ACID HỮU CƠ NIỆU

I. NGUYÊN LÝ

Phương pháp cổ điển phân tích các acid hữu cơ: Chiết tách bằng ethyl acetate/ tạo dẫn xuất oxime-trimethylsilyl/ phân tích bằng GCMS. Thử tích nước tiểu chứa 2.65 μmol creatinin hoặc tối đa 1 mL được dùng để chiết tách. Hai chất chuẩn nội được sử dụng là: 2-oxo-caproic acid cho các oxo-acid, và 3-phenylbutyric acid cho các loại acid hữu cơ khác. Các dẫn xuất oxime được tạo thành bởi phản ứng với hydroxylammonium chloride ở pH14. Sau phản ứng, hỗn hợp được chiết tách bằng ethyl acetate ở điều kiện pH1 và bão hòa NaCl. Lớp ethyl acetate được chuyển sang lọ và làm khô bằng khí nito. Các acid hữu cơ chiết tách được tạo dẫn xuất bằng thêm BSTFA và để trong lò 80°C trong 1 h 15 phút. Các alkane được thêm vào trước khi bơm mẫu, dùng làm chuẩn nội về thời gian lưu. Phân tách, xác định và bán định lượng các acid hữu cơ được thực hiện trên GCMS.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Agilent 7890A GC System
- Agilent 5975C inert XL EI/ CI Mass Selective Detector with Triple Axis Detector
- Agilent 7693 Autosampler
- Carrier gas: helium (99.995%)
- Column: HP- 5MS 30m x 0.25 mm id x 0.25 μm film thickness. Catalog number 190915S-433.

2.2. Hóa chất:

Hóa chất định lượng acid hữu cơ niệu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu tươi, không có chất bảo quản, đựng trong ống nghiệm khô sạch có nắp đậy. Thể tích tối ưu là 10 mL và tối thiểu là 2 mL.

Bệnh phẩm được bảo quản ở -40°C trong vòng 24 giờ thu thập, ổn định một năm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng acid hữu cơ niệu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm acid hữu cơ niệu. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm acid hữu cơ niệu đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Tăng bài tiết acid hữu cơ trong nước tiểu có thể gặp trong nhiều bệnh rối loạn chuyển hóa do di truyền, phần lớn do thiếu hụt một enzym đặc hiệu dẫn đến tích tụ các sản phẩm chuyển hóa trung gian ở phía trước phản ứng xúc tác bởi enzyme đó, cùng với các chất chuyển hóa khác do các chất chuyển hóa trung gian được biến đổi theo các con đường thay thế. Biểu hiện lâm sàng rất khác nhau và không đặc hiệu. Phân tích acid hữu cơ niệu bằng GCMS là rất cơ bản trong chẩn đoán và theo dõi các bệnh lý này.

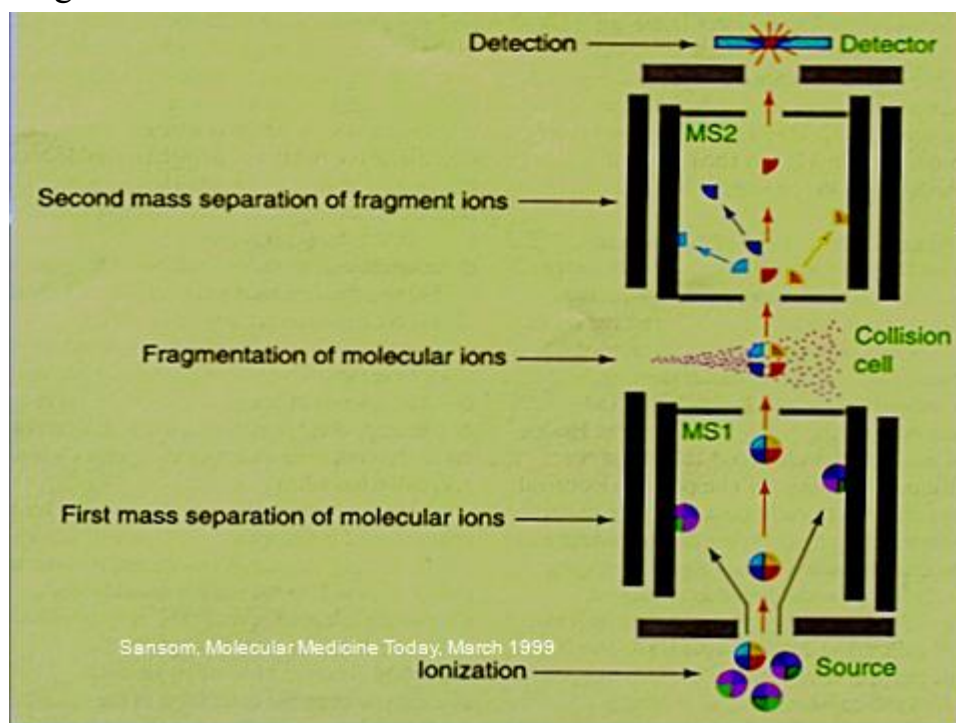
V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Ảnh hưởng của các kỹ thuật trong quá trình chiết tách: Nếu lớp nước ở dưới bị hút lên cùng lớp dung môi hữu cơ ở trên trong quá trình chiết tách, sẽ rất khó làm khô dịch chiết, và chất chiết khô chứa một lượng lớn sodium chloride. Sự có mặt của sodium chloride trong chất chiết có thể ức chế phản ứng tạo dẫn xuất làm tín hiệu của các acid hữu cơ rất thấp.

ĐỊNH LƯỢNG ACYLCARNITINE MÁU BẰNG MSMS

I. NGUYÊN LÝ

MSMS là thiết bị sử dụng để phân tách và định lượng các ion dựa trên tỷ số khối lượng/ điện tích của chúng (mass/charge ratio). MSMS tạo ra các phần tử tích điện từ mẫu cần phân tích, sau đó sử dụng điện và từ trường để phân tách và đo lường khối lượng của các phần tử tích điện. Bộ phận phát hiện sẽ tạo ra đồ thị phổ khối của các đỉnh có thể định lượng được bằng các chuẩn nội để xác định lượng mỗi chất có mặt trong mẫu.



MSMS gồm 2 MS nối với nhau bởi một bộ phận gọi là collision cell. Trước khi đi vào MS thứ nhất, mẫu được ion hoá bằng fast atom bombardment hoặc electrospray. (FAB-MS/MS hoặc ES-MS/MS). Quá trình này tạo điện tích nhưng không phân cắt các hợp chất hữu cơ trong mẫu. .

MS thứ nhất phân tách các ion gốc (parent ions) theo trình tự số khối (mass/charge ratio) và chuyển sang bộ collision chamber.

Bộ phận collision chamber phân cắt các ion gốc chuyển các mảnh ion sang MS thứ hai. Mẫu hình của các mảnh ion của mỗi ion gốc được phân tích và so sánh với phổ đã biết của các chất chuẩn nội. Toàn bộ quá trình ion hoá và phân tích kết quả mất khoảng 2 phút.

MS/MS là một công cụ hiệu quả giúp phân tích định lượng acylcarnitine để sàng lọc và chẩn đoán các rối loạn chuyển hoá acid béo.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Hệ thống MSMS
- Máy đục lỗ
- Máy lắc
- Tủ sấy
- Thiết bị thổi khô bằng khí nito
- Tủ hôt, máy ly tâm và các trang thiết bị PXN

2.2. Hóa chất:

- Hóa chất định lượng Acylcarnitin
- Chất chuẩn
- Nước cất

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Huyết thanh/ huyết tương.

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng acylcarnitine. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm acylcarnitine. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm acylcarnitine đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Các bệnh lý gây bất thường nồng độ carnitine/acylcarnitine

Acylcarnitine	Nguồn gốc	Thay đổi	Bệnh
Carnitine (total)	Máu	↓↓	Khiếm khuyết vận chuyển carnitine
Acetyl (C2)	Máu		Thiếu hụt hoặc giảm carnitine
Propionyl (C3)			Propionic acidemia; Methylmalonic acidemia Thiếu hụt Holocarboxylase Thiếu hụt Biotinidase
Butyryl/Isobutyryl (C4)			Thiếu hụt SCAD Thiếu hụt SCAD (thể nhẹ) Thiếu hụt Isobutyryl-CoA dehydrogenase; Thiếu hụt multiple acyl-CoA dehydrogenase (MAD)
Tiglyl/3-Methylcrotonyl (C5:1)			Thiếu hụt 3-Oxothiolase; 3-MCC
Isovaleryl/2-Methylbutyryl (C5)			Isovaleric acidemia Thiếu hụt 2-Methylbutyryl-CoA dehydrogenase Thiếu hụt MAD
3-Hydroxyisovaleryl (C5-OH)			Thiếu hụt 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase (3-MCC) Thiếu hụt 3-OH-3-methylglutaryl-CoA (HMGCoA) lyase Thiếu hụt Holocarboxylase Thiếu hụt Biotinidase
3-Hydroxy-2-Methylbutyryl (C5-OH)			Thiếu hụt 3-Oxothiolase
Methylmalonyl (C4-DC)			MMA
Glutaryl (C5-DC)			Glutaric acidemia, type I (GA-I)
Hexanoyl (C6)			Thiếu hụt MCAD; Thiếu hụt MAD
Octanoyl (C8)			Thiếu hụt MCAD; Thiếu hụt MAD
Decenoyl (C10:1)			Thiếu hụt MCAD

Methylglutaryl (C6-DC)			Thiếu hụt HMG-CoA lyase
Decanoyl (C10)			Thiếu hụt MAD
Dodecanoyl (C12)			Thiếu hụt MAD
Tetradodecenoyl (C14:2)			Thiếu hụt VLCAD
Tetradecenoyl (C14:1)			Thiếu hụt VLCAD
Tetradecanoyl (C14)			Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt MAD
Palmitoyl (C16)			Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt CPT-II; Thiếu hụt CAT; Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt MAD; Thiếu hụt CPT-I
Linoleoyl (C18:1)			Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt CPT-II; Thiếu hụt CAT; Thiếu hụt LCHAD Thiếu hụt CPT-I
3-Hydroxypalmitoyl (C16-OH)			Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt TFP
3-Hydroxylinoleoyl (C18:1-OH)			Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt TFP

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

ĐỊNH LƯỢNG ADIPONECTIN

Theo kỹ thuật miễn dịch đo độ đục

I. NGUYÊN LÝ

Adiponectin là một polypeptid được tiết ra từ các tế bào mỡ, Adiponectin tham gia vào quá trình chuyển hóa lipid, góp phần trong điều chỉnh: huyết áp, bảo vệ thành mạch, hệ thống bỏ thể, kích thích hoạt động và giảm tình trạng kháng insulin. Ở người trưởng thành Adiponectin máu tỷ lệ nghịch với phần trăm lượng chất béo nội tạng. Adiponectin tác động có lợi trên hội chứng béo phì, hội chứng chuyển hóa, sự kháng insulin, xơ vữa động mạch, thiếu máu cơ tim cục bộ... bằng cách tác động lên các thành phần của mô mạch.

Định lượng theo phương pháp tua miễn dịch đo độ đục (turbidimetric): Mẫu bệnh phẩm khi trộn với thuốc thử xảy ra sự gắn kết (kháng nguyên - kháng thể) giữa các hạt latex gắn kháng thể đơn dòng kháng adiponectin người với các adiponectin trong mẫu bệnh phẩm cần phân tích tạo thành phức hợp latex-adiponectin và kháng thể. Phức hợp ngưng kết này tỷ lệ thuận với nồng độ adiponectin trong mẫu bệnh phẩm. Trên máy phân tích hóa sinh tự động kết quả được xác định dựa trên đường chuẩn đã được thực hiện

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học chuyên ngành có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy phân tích hóa sinh tự động của các hãng đều thực hiện được như: AU 640, AU680, AU2700, AU 5800; Các máy Cobas: C501, 502, và một số máy khác
- Máy ly tâm,
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, ống sample cup

2.2. Hóa chất

- Thuốc thử: Human adiponectin latex kit
- Chất chuẩn, QC các mức khác nhau

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như: lithium heparin, EDTA,..
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định 2-8⁰C trong 2 ngày hoặc 3 tháng ở -20⁰C

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Adiponectin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Adiponectin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Adiponectin đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Chỉ số BMI (Body Mass Index) (Kg/m ²)	Nam (mcg/mL)	Nữ (mcg/mL)
< 25	4 -26	5 – 37
25- 30	4 -20	5 – 28
>30	2 - 20	4 - 22

V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG ALDOSTERON MÁU

theo kỹ thuật hóa phát quang

I. NGUYÊN LÝ

Aldosteron là một hormon steroid của vỏ thượng thận có trọng lượng phân tử 360,4 dalton. Vai trò của aldosteron trong chuyển hóa muối nước là điều hòa nồng độ natri và kali, do đó nó quy định khối lượng chất lỏng trong cơ thể. Aldosteron có tác dụng làm giảm bài tiết natri và tăng bài tiết kali tại thận, tuyến mồ hôi và tuyến nước bọt...

Aldosteron được định lượng bằng phương pháp miễn dịch cạnh tranh sử dụng kháng thể đơn dòng cừu để kết hợp với phân tử Aldosteron.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

- Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy móc: Liaison XL và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng Aldosteron, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Aldosteron.

3. Người bệnh:

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (EDTA) và nước tiểu 24h để định lượng Aldosteron. Lấy 3ml máu tĩnh mạch và ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là EDTA. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Mẫu lấy trong khoảng từ 7-10 h sáng và người bệnh phải ở tư thế nằm hay đứng được 30 phút trước khi lấy máu.

Huyết thanh, huyết tương nên tách ra khỏi cục máu đông càng sớm càng tốt.

Bệnh phẩm ổn định 5 ngày kể từ ngày lấy mẫu nếu giữ ở nhiệt độ ở 2-8°C; Nếu lưu mẫu bệnh phẩm lâu hơn cần lưu trữ đông lạnh sâu ở -20°C hoặc thấp hơn. Các mẫu bệnh phẩm không nên đông lạnh và rã đông nhiều lần.

Nước tiểu: Thu thập nước tiểu 24 giờ, giữ nước tiểu trong tủ lạnh, đo và ghi thể tích. Thêm vào 1 g acid boric/100 ml nước tiểu. Trộn đều nước tiểu trước khi lấy mẫu phân tích. Mẫu nước tiểu có chất bảo quản Borat ổn định trong 5 ngày ở 2-8°C hoặc 4 tuần khi được bảo quản ở -20°C. Mẫu nước tiểu ổn định được qua 3 lần đông lạnh/rã đông.

2. Tiễn hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Aldosteron. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Aldosteron. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Aldosteron đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Giá trị tham chiếu của Aldosteron phụ thuộc vào mẫu thử là huyết thanh hay huyết tương và tư thế khi lấy mẫu.

+ Huyết thanh

- Tư thế đứng: 2,52 – 39,2 ng/dL

- Tư thế nằm: 1,76 – 23,2 ng/dL

+ Huyết tương (EDTA)

- Tư thế đứng: 2,21 – 35,3 ng/dL

- Tư thế nằm: 1,17 – 23,6 ng/dL

+ Nước tiểu

Nước tiểu 24h: 1,19 – 28,1 µg/24h

+ Tăng Aldosteron:

- Tăng Aldosteron nguyên phát (hội chứng Conn)

- Tăng Aldosteron thứ phát: Xảy ra khi có tình trạng giảm lưu lượng máu đến thận, giảm huyết áp, hoặc giảm nồng độ natri.

- Tăng Aldosteron thứ phát cũng có thể gặp trong suy tim sung huyết, xơ gan, bệnh thận...

+ Giảm Aldosteron:

- Suy thượng thận

- Ở trẻ sơ sinh với tăng sản thượng thận bẩm sinh, trẻ sơ sinh thiếu một loại enzyme cần thiết để sản xuất cortisol, trong một số trường hợp, điều này cũng làm giảm sản xuất aldosteron. Đây là một nguyên nhân hiếm gặp của aldosteron thấp.

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Mẫu bệnh phẩm là máu không được tách huyết thanh hay huyết tương ra khỏi cục đông ngay. Khắc phục: Tách huyết thanh hay huyết tương ra khỏi cục đông ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

- Mẫu nước tiểu bảo quản không đúng cách: Cần tập huấn qui trình lấy và bảo quản nước tiểu cho nhân viên.

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Các mẫu có nồng độ các chất tối đa như sau không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

Các mẫu huyết tán hemoglobin đến 600 mg/dL, huyết thanh vàng bilirubin đến 684 $\mu\text{mol/L}$ (40 mg/dL), huyết thanh đục triglycerid đến 33.9 mmol/L (3000mg/dL) và protein 120g/L ...

ĐỊNH LƯỢNG AMH (ANTI-MULLERIAN HORMONE) MÁU theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang

AMH (Anti Mulerian Hormone), có bản chất là glycoprotein, lưu hành trong máu người. Ở phụ nữ, các tế bào hạt granulosa trong tiền nang noãn của buồng trứng chế xuất ra AMH. Nồng độ AMH trong máu phản ánh trữ lượng tiền nang noãn và khả năng sinh trứng của buồng trứng. AMH cung cấp một dấu hiệu của số lượng trứng được sản xuất rụng vào chu kỳ hàng tháng của phụ nữ. Mức độ AMH trong máu là một chỉ số giúp đánh giá về dự trữ buồng trứng của phụ nữ và hữu ích trong việc đánh giá tình trạng sinh sản. Sự giảm tiết AMH trong đời sống sinh sản của người phụ nữ phản ánh sự suy giảm số lượng trứng/nang noãn theo tuổi và theo sự lão hóa của buồng trứng. Mặc dù nồng độ AMH giảm theo tuổi, nhưng sự dao động theo ngày của nồng độ hormone trong chu kỳ kinh nguyệt ở phụ nữ rất nhỏ, do đó có thể đo nồng độ AMH trong ngày bất kỳ của chu kỳ kinh.

Ở nam giới, AMH do tế bào Sertoli sản sinh, là những tế bào sinh tinh trong tinh hoàn. Nồng độ AMH trong máu phản ánh trữ lượng tiền tinh trùng và khả năng sinh tinh của tinh hoàn.

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng AMH dựa trên nguyên lý miễn dịch kiểu “Sandwich”. Có thể sử dụng hai phương pháp:

Theo phương pháp hóa phát quang –CLIA:

Định lượng AMH dựa trên phương pháp miễn dịch enzyme một bước đồng thời (kiểu “Sandwich”). Mẫu bệnh phẩm được thêm vào giếng phản ứng cùng với chất cộng hợp kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng AMH – phosphatase kiềm trong đệm MES, protein trong đệm muối TRIS và các hạt thuận từ phủ kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng AMH trong đệm TRIS. Sau khi ủ trong giếng phản ứng, các chất gắn với pha rắn sẽ được giữ lại trong từ trường, các thành phần không gắn sẽ bị rửa trôi. Tiếp đó, chất nền quang hóa Lumi-Phos 530 được thêm vào giếng phản ứng và ánh sáng tạo ra bởi phản ứng được đo bằng bộ phận đo quang (luminometer). Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ thuận với nồng độ AMH có trong mẫu phản ứng. Lượng chất cần phân tích trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn đa điểm đã được lưu trong máy.

Theo phương pháp điện hóa phát quang - ECLIA):

Nguyên lý bắt cặp. Tổng thời gian xét nghiệm: 18 phút.

▪ Giai đoạn ủ đầu: 50 μ L mẫu thử, kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng AMH đánh dấu biotin, và kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng AMH đánh dấu phức hợp ruthenium* tạo thành phức hợp bắt cặp.

- Giai đoạn ủ thứ hai: Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin, phức hợp miễn dịch trên trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin.
- Hỗn hợp phản ứng được chuyển tới buồng đo, ở đó các vi hạt đối từ được bắt giữ trên bề mặt của điện cực. Những thành phần không gắn kết sẽ bị thải ra ngoài buồng đo bởi dung dịch ProCell/ProCell M. Cho điện áp vào điện cực sẽ tạo nên sự phát quang hóa học được đo bằng bộ khuếch đại quang tử.
- Các kết quả được xác định thông qua một đường chuẩn xét nghiệm trên máy được tạo nên bởi xét nghiệm 2-điểm chuẩn và thông tin đường chuẩn chính qua mã vạch trên hộp thuốc thử hoặc mã vạch điện tử.

Ghi chú: * Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-complex (Ru(bpy))

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy miễn dịch tự động như: Unicel DxI 800 , máy e 170, E601, E602 và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm,
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, ống sample cup

2.2. Hóa chất

Các hóa chất cần thiết cho phân tích trên máy Unicel DxI 800 gồm:

- Hóa chất chính Access AMH: Hóa chất tích hợp sẵn sàng cho sử dụng, đóng gói 100 xét nghiệm/hộp. Bảo quản ở 2-8°C.
- Chất hiệu chuẩn Access AMH Calibrators: dùng để xây dựng đường cong chuẩn cho xét nghiệm AMH. Chất hiệu chuẩn có 6 mức, dạng bột đông khô. Được bảo quản ở 2- 10°C. Sau khi hoàn nguyên, chất chuẩn ổn định trong 90 ngày ở 2-10°C.
- Chất kiểm chứng Access AMH QC: Dùng để kiểm tra tính chính xác của kết quả xét nghiệm AMH.
- Access Substrate: Cơ chất phát quang
- Sample diluent A: dùng để pha loãng mẫu khi cần thiết.
- Unicel DxI Wash buffer II: Dung dịch rửa phản ứng
- Unicel DxI Reaction Vessel: Giếng phản ứng

Các hóa chất cần thiết cho phân tích trên máy máy e 170, e601, e602 gồm:

- M Vi hạt phủ Streptavidin (nắp trong), 1 chai, 6.5 mL: Vi hạt phủ Streptavidin 0.72 mg/mL; chất bảo quản.
- R1 Anti-AMH-Ab~biotin (nắp xám), 1 chai, 8 mL: Kháng thể đơn dòng kháng AMH đánh dấu biotin (chuột) 1.0 mg/L, đệm phosphate 50 mmol/L, pH 7.5; chất bảo quản.
- R2 Anti-AMH-Ab~Ru(bpy) (nắp đen), 1 chai, 8 mL: Kháng thể đơn dòng kháng AMH (chuột) đánh dấu phức hợp ruthenium 1.0 mg/L, đệm phosphate 50 mmol/L, pH 7.5; chất; chất bảo quản.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin. Không sử dụng chất chống đông EDTA.
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Mẫu máu được tách riêng huyết thanh, huyết tương ổn định trong 3 ngày ở 20-25 °C, 5 ngày ở 2-8 °C và 6 tháng ở nhiệt độ -20 °C (± 5 °C). Mẫu chỉ nên đông lạnh một lần.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm AMH. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm AMH. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm AMH đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

AMH có liên quan với số lượng nang noãn nguyên thủy của buồng trứng. Nếu dự trữ buồng trứng càng tốt thì khả năng sinh sản của buồng trứng càng cao, ngược lại nếu dự trữ buồng trứng yếu sẽ gây ra tình trạng hiếm muộn ở phụ nữ. Nồng độ AMH không thay đổi đáng kể trong suốt chu kỳ kinh và giảm dần theo tuổi tác.

2. Giá trị tham chiếu

Khả năng sinh sản của buồng trứng	ng / mL	pmol / L
Khả năng sinh sản tối ưu	4,0 - 6,8	28,6 - 48,5
Khả năng sinh sản tốt	2.2 - 4.0	15,7 - 28,6
Khả năng sinh sản kém	0,3 - 2,2	2.2 - 15.7
Khả năng rất kém	0,0 - 0,3	0,0 - 2,2
Hội chứng buồng trứng đa nang	> 6,8	> 48,5

- AMH giúp đánh giá dự trữ và đáp ứng buồng trứng trong khi thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm.
- Tiên lượng được những yếu tố có lợi cho người bệnh. Phụ nữ có nồng độ AMH thấp thường là đáp ứng kém với thuốc kích thích buồng trứng và phải sử dụng rất nhiều thuốc để kích thích buồng trứng.
- Nếu AMH nhỏ hơn 3, khả năng đáp ứng kém với thuốc khi kích thích buồng trứng làm thụ tinh trong ống nghiệm là rất cao và kết quả thành công bị ảnh hưởng rất nhiều. Ngược lại nếu AMH cao, khả năng bị hội chứng quá kích buồng trứng sẽ rất cao.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu

- Mẫu thực hiện xét nghiệm AMH không nên rã đông quá 2 lần.
- Tránh sử dụng mẫu nhiễm mỡ (mẫu bị đục quá) hoặc vỡ hồng cầu.
- Các yếu tố có nguy cơ gây nhiễu khác trong mẫu bệnh phẩm có thể xuất hiện và gây ra kết quả sai trong xét nghiệm miễn dịch. Một số mẫu chứa yếu tố dạng thấp, phosphatase kiềm nội sinh, fibrin, và protein có khả năng liên kết với phosphatase kiềm có thể ảnh hưởng đến kết quả. Đánh giá cẩn thận kết quả xét nghiệm của những người bệnh nghi ngờ có những yếu tố gây nhiễu này.
- Mẫu cần thực hiện ly tâm đủ thời gian để tách huyết thành/huyết tương hoàn toàn, tránh hiện tượng đông dầy làm sai lệch kết quả phân tích

ĐỊNH LƯỢNG AMIKACIN MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Amikacin sulfat là kháng sinh bán tổng hợp họ aminoglycosid. Thuốc diệt khuẩn nhanh do gắn hẳn vào tiểu đơn vị 30S của ribosom vi khuẩn và ngăn chặn sự tổng hợp protein của vi khuẩn. Dùng amikacin thận trọng, đặc biệt đối với người cao tuổi và trẻ nhỏ, vì có nguy cơ cao độc cho tai và cho thận. Phải giám sát chức năng thính giác và chức năng thận. Cần phải tránh dùng đồng thời hoặc nối tiếp với các thuốc khác có độc tính cho thính giác hoặc thận (cả dùng toàn thân và tại chỗ). Nhất thiết phải định lượng nồng độ thuốc trong huyết thanh khi dùng cho người bị tổn thương thận. Việc kiểm tra chức năng thận trong quá trình điều trị bằng aminoglycosid ở người bệnh cao tuổi có sự giảm chức năng thận là đặc biệt quan trọng.

Nguyên lý: dựa trên nguyên lý miễn dịch độ đục ức chế tăng cường hạt (Particle-enhanced turbidimetric inhibition immunoassay)

Xét nghiệm dựa trên sự cạnh tranh giữa amikacin trong mẫu và thuốc tráng vào một vi hạt cho các vị trí liên kết kháng thể của kháng thể amikacin có trong thuốc thử. Vi hạt từ được phủ amikacin nhanh chóng bị kết tụ trong sự hiện diện của thuốc thử kháng thể chống amikacin và trong trường hợp không có của bất kỳ loại thuốc cạnh tranh trong mẫu. Tỷ lệ thay đổi độ hấp thụ được đo và tỷ lệ thuận với tỷ lệ sự kết tụ của các hạt. Khi một mẫu có chứa amikacin được thêm vào, phản ứng kết tụ bị ức chế một phần, làm chậm lại tỷ lệ thay đổi hấp thụ. Một đường cong nồng độ ức chế kết tụ có thể đạt được với tốc độ tối đa sự kết tụ ở nồng độ amikacin thấp nhất và chậm nhất ở nồng độ amikacin cao nhất.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy, thiết bị phân tích: Architect c4000, Architect c8000, Architect c16000 và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất, calibrator, control và mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại
- Ống chứa mẫu bệnh phẩm
- Đầu pipet tùy chọn
- Giá chứa mẫu bệnh phẩm

2.2 Hóa chất

- Multigen Amikacin Reagent (Bộ Thuốc thử) bao gồm:
 - + Hóa chất R1: 2 x21 mL : Anti –amikacin monoclonal Antibody (mouse) <1.0%
 - + Hóa chất R2: 2 x8 mL: Amikacin-coated microparticles < 0.5%
- MULTIGENT Amikacin Calibrators
- Chất kiểm chuẩn QC ở các mức khác nhau
- Nước muối sinh lý : Saline (0.85% to 0.90% NaCl)

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin, EDTA,..
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định 2-8⁰C trong 2 ngày hoặc 3 tháng ở -20⁰C

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Amikacin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Amikacin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Amikacin đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Khi suy thận, chỉ dùng amikacin khi thật cần và điều chỉnh liều theo sự thay đổi nồng độ creatinin máu hoặc độ thanh thải creatinin. Phải giám sát chức năng thận và thính giác. Cần phải kiểm tra nồng độ thuốc trong huyết thanh

Sau khi tiêm bắp 1 liều đơn 7,5 mg/kg amikacin cho người lớn có chức năng thận bình thường nồng độ đỉnh huyết tương 17 - 25 microgam/ml đạt được trong 45 phút đến 2 giờ. Khi truyền tĩnh mạch cùng liều trong 1 giờ, nồng độ đỉnh thuốc trong huyết tương trung bình 38 microgam/mL đạt ngay sau khi truyền.

Nửa đời huyết thanh là 2 - 3 giờ ở người có chức năng thận bình thường và 30 - 86 giờ ở người bị suy chức năng thận nặng. Nửa đời huyết thanh là 4 - 5 giờ ở trẻ nhỏ 7 ngày tuổi để đủ tháng hoặc trên 7 ngày tuổi, 7 - 8 giờ ở trẻ đẻ nhẹ cân 1 - 3 ngày tuổi.

Ở người lớn có chức năng thận bình thường, 94 - 98% liều đơn, tiêm bắp hoặc tĩnh mạch, đào thải không biến đổi qua cầu thận trong vòng 24 giờ

Căn cứ vào nồng độ thuốc trong huyết thanh và mức độ suy giảm của thận, đối với người suy thận, có thể dùng các liều 7,5 mg/kg thể trọng, theo các khoảng cách thời gian ghi trong bảng dưới đây, tùy thuộc vào nồng độ creatinin huyết thanh hoặc vào độ thanh thải creatinin.

Creatinin huyết thanh	Độ thanh thải creatinin	Khoảng cách liều
(micromol/L)	(ml/phút/1,7 m ²)	(giờ)
<= 110	> 100	12
111 - 150	100 - 55	15
151 - 200	54 - 40	18
201 - 255	39 - 30	24
256 - 335	29 - 22	30
>= 335	< 22	36 hoặc lâu hơn nữa

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

- Trong những trường hợp rất hiếm gặp, các mẫu bệnh phẩm có thể chứa các kháng thể heterophile, có thể cho kết quả thấp với xét nghiệm Amikacin MULTIGENT. Các kháng thể interfering heterophile xảy ra ở một tần số thấp trong dân số nói chung. Những kháng thể này có thể gây ra sự kết tụ tự nhiên trong phản ứng dẫn đến kết quả thấp không được phát hiện.
- Với mục đích chẩn đoán, các kết quả xét nghiệm phải luôn được đánh giá kết hợp với tiền sử bệnh, khám lâm sàng và các phát hiện khác của người bệnh.

ĐỊNH LƯỢNG ANDROSTENEDION MÁU

theo kỹ thuật hóa phát quang

I. NGUYÊN LÝ

Androstenedion được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzym hoá phát quang cạnh tranh.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện:

Hệ thống máy miễn dịch tự động như IMMULITE 2000.

Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

Thuốc thử androstenedion

Vật liệu kiểm tra (QC)

Nước cất

3. Người bệnh:

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh.

Không sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA hay heparin.

- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông hoàn toàn trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Ly tâm, sau đó tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm nhiễm mỡ, huyết tán, vàng da có thể gây sai số cho kết quả XN.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24 giờ.
- Bảo quản bệnh phẩm ở - 20°C được 2 tháng.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Ly tâm ống máu trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.

- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy miễn dịch IMMULITE 2000.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

Hàng ngày : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

Định kỳ : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

Giá trị tham chiếu của androstenedion:

Nam: 2,1 – 10,8 nmol/L (0,6 – 3,1 ng/mL)

Nữ: 1,0- 11,5 nmol/L (0,3- 3,3 ng/mL)

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Androstenedion là một steroid, tiền chất chính của testosterone và estron. Giá trị lâm sàng của androstenedion: thường tăng trong chứng rậm lông và nam hoá. Không giống như androgen dehydroepiandrosteron vỏ thượng thận và dẫn xuất sulfat hoá của nó, androstenedion trong máu có nguồn gốc từ cả tuyến vỏ thượng thận và buồng trứng. Nồng độ androstenedion máu tăng hằng định từ khi 7 tuổi và giảm dần sau khi 30 tuổi. Androstenedion có sự biến thiên trong ngày và theo chu kỳ kinh nguyệt, cao nhất vào buổi sáng và giữa kỳ kinh. Khi mang thai, nồng độ androstenedion máu tăng.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

12. ĐỊNH LƯỢNG ANPHA 1 MICROGLOBULIN NIỆU

I. NGUYÊN LÝ

Anpha 1 microglobulin là 1 glycoprotein có trọng lượng phân tử nhỏ, khoảng 33 000 dalton. Nó được tổng hợp tại gan và được phân bố rộng rãi trong dịch cơ thể. Anpha 1 microglobulin được lọc qua cầu thận, tái hấp thu tại đoạn đầu ống thận. Nồng độ anpha 1 microglobulin cao trong nước tiểu chỉ ra sự phá hủy ống thận như trong bệnh viêm thận, đái tháo đường có biến chứng thận sớm, sau ngộ độc kim loại nặng hoặc ngộ độc thuốc.

Anpha 1 microglobulin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Độ đục được tạo nên bởi phức hợp kháng nguyên kháng thể.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

- 1 cán bộ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả;
- 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

2. Phương tiện và hóa chất:

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

2.2. Hóa chất:

- Hóa chất định lượng phù hợp như của DIALAB, ...
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng,

3. Người bệnh: cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Theo đúng quy định của bộ y tế và bệnh viện
- Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh bao gồm họ và tên, tuổi, giới, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký, họ tên bác sỹ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy máu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và ngày giờ lấy mẫu bệnh phẩm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm là nước tiểu sạch, được ly tâm loại bỏ cặn trong vòng 5 phút ở 3000 vòng/ phút.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra chất lượng: thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Khoảng tham chiếu:

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
- Người lớn trưởng thành: < 12mg/L

2. **Tăng trong:** viêm thận, giai đoạn sớm biến chứng thận ở người bệnh đái tháo đường, ngộ độc kim loại nặng, ngộ độc thuốc gây độc đối với thận

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

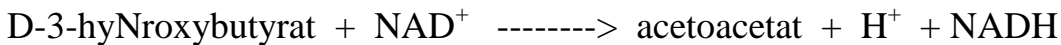
Kết quả có thể bị ảnh hưởng bởi cặn của nước tiểu nên phải ly tâm trước khi phân tích.

ĐỊNH LƯỢNG BETA-HYDROXYBUTYRAT MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Theo phương pháp enzyme đo quang

3-hydroxybutyrat dehydrogenase



Phương pháp động học enzyme được sử dụng để định lượng D-3-hydroxybutyrat trong huyết thanh/ huyết tương. D-3-hydroxybutyrat được oxy hoá thành acetoacetat dưới tác dụng xúc tác của enzym 3-hydroxybutyrate dehydrogenase. Sự thay đổi mật độ quang tại bước sóng 340 nm tỷ lệ với nồng độ D-3-hydroxybutyrat trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện

- Máy hóa sinh tự động
- Máy ly tâm

2.2. Hoá chất:

- Thuốc thử định lượng D-3-hydroxybutyrat (hãng Randox). Thuốc thử ổn định 30 ngày trên khay thuốc thử.
 - Huyết thanh kiểm tra mức 1
 - Huyết thanh kiểm tra mức 2
 - Huyết thanh chuẩn
 - Nước cất

3. Người bệnh: cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hay EDTA.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Ly tâm sau đó tách huyết thanh/ huyết tương ngay.
- Chỉ rẽ đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rẽ đông.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Chuẩn bị máy sinh hóa tự động: chuẩn xét nghiệm (nếu cần) và tiến hành nội kiểm tra chất lượng (chạy QC) cho xét nghiệm beta-hydroxybutyrat.
- Nhận mẫu bệnh phẩm từ các khoa lâm sàng.
- Xác định mã phòng xét nghiệm (lab barcode) trên hệ thống mạng thông tin phòng xét nghiệm và mạng bệnh viện.
- Ly tâm mẫu bệnh phẩm trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/phút.
- Đưa vào máy phân tích.
- Vận hành máy theo quy trình vận hành máy Beckman Coulter AU 2700/AU680.
- Duyệt kết quả
- Kiểm soát chất lượng: *Hàng ngày* : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

Định kỳ : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu: Khoảng tham chiếu: Lúc đói 0.03- 0.3 mmol/L

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Thể ceton gồm 3 chất: D-3-hydroxybutyrat, acetoacetat, aceton. Bình thường, một lượng nhỏ thể ceton- sản phẩm của thoái hoá acid béo- được tạo thành ở gan. Chỉ một lượng rất nhỏ thể ceton có trong máu, trong đó 78% là D-3-hydroxybutyrat, 20% là acetoacetat và 2% aceton.

Định lượng D-3-hydroxybutyrat cho phép chẩn đoán phân biệt các loại nhiễm toan chuyển hoá. Các bệnh / tình trạng gây tăng D-3-hydroxybutyrat trong máu (ketonemia) và xuất hiện ceton niệu (ketonuria):

- Đói, stress nặng về thể chất
- Nhiễm toan ceton trong đái đường: chủ yếu trong đái đường typ 1
- Nhiễm toan ceton trong nghiện rượu
- Rối loạn chuyển hoá bẩm sinh: bệnh acid hữu cơ niệu, nhiễm toan acid lactic, khiếm khuyết quá trình tân tạo glucose, bệnh fructose niệu, MSUD, galactose niệu, tyrosinemia I.
- Tăng ceton máu trong viêm tụy cấp

IV. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG BTP (BETA TRACE PROTEIN)

I. NGUYÊN LÝ

1. Tổng quan

Beta-Trace Protein (BTP), còn gọi là prostaglandin D2 synthase, một loại protein có khối lượng phân tử thấp khoảng 24 kDa (tùy vào mức độ glycosyl hóa) và một bộ phận của họ protein lipocalin. BTP chủ yếu được tổng hợp ở hệ thần kinh trung ương bởi các tế bào thần kinh đệm và đám rối màng mạch và tạo thành một trong những thành phần thiết yếu của dịch não tủy (CSF). BTP hiện diện trong tất cả các loại mô (ngoại trừ ở buồng trứng) và có thể được tìm thấy trong các loại dịch sinh học trong cơ thể. BTP được lọc qua thận nên nồng độ BTP trong huyết tương sẽ phụ thuộc vào mức lọc cầu thận (GFR). Ở người bệnh chạy thận nhân tạo, BTP là một chất chỉ điểm thay thế cho chức năng thận còn lại, tiên lượng người bệnh cần phải điều trị thay thế thận (như chạy thận nhân tạo hoặc thẩm phân phúc mạc). Nồng độ BTP trong dịch não tủy cao hơn nhiều so với trong huyết thanh hoặc huyết tương, do vậy BTP trở thành một chất chỉ điểm lý tưởng để phát hiện rò rỉ dịch não tủy trong các chất bài tiết của mũi hay tai sau chấn thương hoặc tổn thương do phẫu thuật sọ não.

2. Nguyên lý xét nghiệm

Định lượng theo phương pháp tủa miễn dịch đo độ đục. Trong thuốc thử, các hạt polystyrene phủ kháng thể kháng BTP ở người sẽ ngưng kết khi trộn với các mẫu bệnh phẩm có chứa BTP. Trên máy phân tích ngưng kết này làm phân tán chùm ánh sáng đi qua cuvet có chứa mẫu phân tích. Cường độ ánh sáng phân tán tỷ lệ thuận với nồng độ của BTP trong mẫu bệnh phẩm. Kết quả phân tích được xác định dựa trên đường chuẩn đã thiết lập.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

a. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

b. Hoá chất

Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc

- N latex BTP hóa chất chính:

- Các hạt polystyrene được phủ kháng thể kháng BTP của người được sản xuất từ thỏ, dạng đông khô và chất bảo quản Sodium azide < 1g/L.
- Đóng gói: 3x 2.0 mL
- Bảo quản: ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc
- N latex BTP hóa chất phụ:
- Immunoglobulin thỏ trong dung dịch đệm và chất bảo quản Sodium azide < 1g/L.
- Đóng gói: 3x 0.6 mL
- Bảo quản: ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc

Vật liệu QC, dung dịch pha loãng và tiêu hao

- N Protein Standard UY: chất hiệu chuẩn
- N Protein Control LC: chất QC mức độ 1 khi thực hiện xét nghiệm với mẫu huyết thanh/huyết tương
- N Protein Control LC2: chất QC mức độ 2 1 khi thực hiện xét nghiệm với mẫu huyết thanh/huyết tương
- N/T Protein Control LC: chất QC khi thực hiện xét nghiệm với mẫu nước tiểu, dịch não tủy, dịch tiết từ tai/mũi
- N Diluent: dung dịch pha loãng mẫu huyết thanh/huyết tương
- N Sample Diluent: dung dịch pha loãng mẫu nước tiểu, dịch não tủy, dịch tiết từ tai/mũi
- BN II Evaporation Stoppers: nắp đậy hoá chất & QC khi trữ trên máy để chống bay hơi

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm thích hợp bao gồm mẫu huyết thanh, mẫu huyết thanh heparin và EDTA, mẫu nước tiểu, mẫu dịch não tủy, dịch tiết mũi và/hoặc tai.

Mẫu huyết thanh/huyết tương:

- Ly tâm mẫu: 10 phút ở 15000 x g. Kiểm tra mẫu: mẫu huyết thanh không được chứa hạt nhỏ hoặc dấu tích của fibrin. Mẫu bị đục như mẫu lipid, mẫu nước tiểu đục, hoặc mẫu để đông lạnh cần được làm trong hoàn toàn sau khi ly tâm
- Mẫu tự động được hệ thống pha loãng 1:100. Mẫu đã pha loãng dùng trong vòng 2 giờ.

Mẫu nước tiểu/dịch não tủy/dịch tiết mũi và/hoặc tai

- Ly tâm mẫu (10 phút ở 15000 x g)
- Pha loãng mẫu bằng tay: pha loãng tỉ lệ 1:5 với N Sample Diluent. Trường hợp lượng mẫu ít pha loãng tỉ lệ 1:20 với NaCl đẳng trương hoặc N diluent

Mẫu huyết thanh, huyết tương EDTA/heparin và mẫu dịch não tủy nên được thực hiện xét nghiệm ngay hoặc lưu trữ không quá 7 ngày ở 2–8 °C hoặc lưu trữ không quá 3 tháng ở -20 °C hoặc ở nhiệt độ thấp hơn (trong trường hợp được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và tránh chu kỳ rã đông/đông mẫu nhiều lần).

Mẫu nước tiểu, dịch tiết từ mũi/tai nên được thực hiện xét nghiệm ngay. Không được sử dụng mẫu nước tiểu đã được trữ đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm BTP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm BTP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm BTP đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

- BTP trong mẫu huyết thanh $\leq 0,70$ (0,50) mg/L
- BTP trong mẫu nước tiểu $\leq 3,75$ (1, 11) mg/L
- BTP trong dịch não tủy, dịch tiết:
 BTP trong dịch tiết $< 0,7$ mg/L: không có khả năng rò rỉ dịch não tủy trong dịch tiết
 BTP trong dịch tiết $\geq 1,3$ mg/L: có khả năng rò rỉ dịch não tủy trong dịch tiết
 BTP trong dịch tiết 0,7-1,29 mg/L: tính tỉ lệ dịch tiết/huyết thanh: nếu < 2 không có khả năng rò rỉ; nếu ≥ 2 , có khả năng rò rỉ dịch não tủy.

(Giá trị mang tính tham khảo, có thể xem xét thiết lập giá trị tham chiếu riêng của PXN)

BTP là một chất chỉ điểm lý tưởng để phát hiện rò rỉ dịch não tủy trong các chất bài tiết của mũi hay tai sau chấn thương hoặc tổn thương do phẫu thuật sọ não.

2. Tăng trong trường hợp

Tăng trong mẫu dịch tiết: có khả năng rò rỉ dịch não tủy trong các chất bài tiết của tai/ mũi

Tăng trong mẫu huyết thanh: chức năng thận còn lại giảm

- Nồng độ BTP ở những người bệnh lọc thận cao gấp khoảng 15 lần (so với đối tượng khỏe mạnh).¹
- Nồng độ BTP trên 8,2 mg/L cho thấy hầu như mất hoàn toàn chức năng thận.
- Nồng độ BTP tăng trên 8,8 mg/L đi kèm với tỉ lệ tử vong cao hơn 63%.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu huyết thanh/huyết tương cần được kiểm tra để đảm bảo mẫu huyết không được vẩn đục hoặc có dấu tích của fibrin. Mẫu bị đục như mẫu lipid, mẫu nước tiểu đục, hoặc mẫu để đông lạnh cần được làm trong hoàn toàn sau khi ly tâm (10 phút ở 15000 g). Nếu mẫu không đảm bảo cần được loại bỏ và lấy lại mẫu mới làm xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG C1- ESTERASE INHIBITOR MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Human C1-esterase inhibitor là một chất điều hòa quan trọng trong quá trình hoạt hóa bổ thể, nó ức chế hoạt động của enzyme serine proteases C1s và C1r4. Trong phản ứng hóa miễn dịch, protein có trong mẫu bệnh phẩm (huyết tương/huyết thanh) hình thành phức hợp miễn dịch với kháng thể đặc biệt. Phức hợp này sẽ phản xạ ánh sáng xuyên qua mẫu, cường độ của ánh sáng phản xạ tỉ lệ với nồng độ của protein cần đo trong mẫu. Kết quả được so sánh với một chất chuẩn đã biết nồng độ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

- Người thực hiện có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyên mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

2.2. Hoá chất

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng Human C1-Inhibitor
- Chất chuẩn
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (IQC)

3. Người bệnh:

Người bệnh và người nhà cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (Citrat). Mẫu được pha loãng tự động 1:5 bằng N Diluent và cần được đo trong vòng 4 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm C1 Inhibitor. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm C1 Inhibitor. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C1 Inhibitor đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu: Mẫu huyết thanh: 0,21 – 0,39 g/L.

Mẫu huyết tương Citrat: 0,18 – 0,32 g/L

Định lượng C1 inhibitor hỗ trợ trong việc chẩn đoán bệnh phù mạch do di truyền (tăng tính thấm mạch máu dẫn tới sưng mô) và một dạng phù mạch liên quan tới bệnh u lympho. Thiếu hụt C1 Inhibitor xảy ra với các bệnh về hệ thống tế bào B, có thể liên quan tới mức độ C1 Inhibitor giảm như bệnh bạch cầu lympho mạn, hoặc đa u tủy.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Mẫu bệnh phẩm đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm. Không sử dụng các mẫu máu nhiễm mỡ và đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15000g)

ĐỊNH LƯỢNG CALPROTECTIN TRONG PHÂN

I. NGUYÊN LÝ

Calprotectin hay neutrophil cytoplasmic protein A100A8/A9 là protein thuộc họ S100 hiện diện chủ yếu trong bào tương của bạch cầu đa nhân trung tính. Trong trường hợp ruột bị viêm, niêm mạc ruột bị tổn thương và các hạt trong tế bào bạch cầu đa nhân trung tính vỡ ra phóng thích calprotectin vào phân. Định lượng calprotectin trong phân giúp phát hiện và đánh giá mức độ của bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease : IBD) bao gồm viêm loét ruột (ulcerative colitis) và bệnh Crohn's.

Nguyên tắc xét nghiệm: theo nguyên tắc xét nghiệm miễn dịch hấp phụ bổ thể gắn kết men. Chuẩn, QC, mẫu phân được xử lý (mẫu pha loãng III) chứa calprotectin được thêm vào các giếng có gắn kháng thể đơn dòng ái lực cao kháng calprotectin người. Trong giai đoạn ủ ban đầu, calprotectin gắn với kháng thể bất động. Sau đó kháng thể thứ hai kháng calprotectin người gắn với enzym peroxidase được thêm vào các giếng, phức hợp bánh kẹp trả được tạo thành giữa calprotectin và 2 kháng thể. Tetramethylbenzidin được dùng làm cơ chất cho enzym peroxidase. Cuối cùng, dung dịch acid được thêm vào để dừng phản ứng. Màu sắc chuyển từ xanh da trời sang màu vàng. Cường độ màu vàng tỷ lệ thuận với nồng độ calprotectin. Đường chuẩn mỗi liên quan giữa mật độ quang và nồng độ dung dịch chuẩn được thiết lập (bước sóng 450 nm). Nồng độ calprotectin trong mẫu thử được tính dựa vào đường chuẩn.

Định lượng Calprotectin dựa trên 2 nguyên lý:

- ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay): xét nghiệm hấp phụ bổ thể gắn kết enzym.
- Hóa phát quang trực tiếp

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Hệ thống ELISA bán tự động
- Máy miễn dịch Liaison

2.2. Hóa chất

- Kít định lượng Calprotectin trong phân
- Kít xử lý mẫu phân (Stool sample application System - SAS)
- Pipet
- Tủ lạnh.
- Nước cất tinh khiết

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy phân để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Phân là loại mẫu sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy phân vào lọ đựng phân theo quy trình lấy phân thông thường
- Độ ổn định của mẫu:
- Phân chưa xử lý ổn định 2 ngày ở nhiệt độ phòng (15- 30°C), 2 ngày ở 2-8°C, và dài ngày ở -20°C.
- Mẫu chiết tách từ phân ổn định 9 ngày ở nhiệt độ phòng, 2-8°C hoặc - 20°C, tối đa 3 lần rã đông.

2. Chiết tách mẫu phân (xử lý mẫu phân)

- Pha loãng dung dịch đệm IDK (Extract buffer concentrate IDK extract): tỷ lệ pha loãng là 1: 2,5 với nước siêu tinh khiết. Ví dụ: 100 mL đệm cô đặc thêm 150 mL nước tinh khiết, trộn đều. Trước khi pha loãng, cần làm tan cặn muối nếu có bằng bể ấm 37°C. Dung dịch đệm pha loãng ổn định 3 tháng ở 2-8°C khi đựng trong bình kín.
- Xử lý phân với hệ số pha loãng 1:100. Các bước tiến hành như sau:
 - a. Phân được đồng nhất hoá
 - b. Cho vào ống chiết tách phân 1,5 mL dung dịch đệm pha loãng. Lưu ý để dung dịch đệm về nhiệt độ phòng (nếu sử dụng loại ống đã chứa dung dịch đệm thì không cần cho đệm vào nữa)
 - c. Mở nắp ống chiết tách phân phần màu vàng cam. Nhúng que màu vàng cam vào trong mẫu phân. Phần dưới của que này có các vết khía, cần được làm đầy bằng phân sau khi nhúng vào mẫu phân. Sau khi lấy phân, cho que nhúng trở lại ống chiết tách. Khi đưa que nhúng vào ống, lượng phân thừa sẽ bị giữ lại, chỉ để cho 15 mg mẫu hoà vào dung dịch đệm. Đậy chặt nắp của ống chiết tách phân.

- d. Lắc kỹ ống chiết tách phân cho đến khi phân không còn bám vào các vết khía của que nhúng. Nếu mẫu phân rắn, lắc khoảng 10 phút để đảm bảo tạo dịch treo thuần nhất.
- e. Để mẫu 10 phút cho tới khi cặn lắng lại. Bỏ qua các vật nổi như vỏ hạt.
- f. Carefully mở nắp ống bao gồm cả phần xanh da trời và que nhúng. Bỏ nắp và que nhúng. Đảm bảo chất lắng không bị khuấy trộn. Ta được mẫu pha loãng I 1:100.
- g. Pha loãng mẫu để làm xét nghiệm: Dịch nổi ở ống tách chiết trên (mẫu pha loãng 1:100) được pha loãng tiếp với tỷ lệ 1: 25 bằng SAMPLEBUF. Ví dụ: 40 µl dịch nổi + 960 µl SAMPLEBUF, trộn đều ta được mẫu pha loãng II (1:25).
- h. Như vậy, tỷ lệ pha loãng cuối cùng là 1: 2500.
- i. Để làm xét nghiệm, hút 100 µl mẫu pha loãng II cho vào 1 giếng.

3. Tiến hành kỹ thuật

Tùy phòng xét nghiệm có trang thiết bị là máy Liaison hay hệ thống ELISA sẽ có các bước tiến hành theo protocol. Với hệ ELISA thao tác như sau:

- Để thuốc thử và mẫu ở nhiệt độ phòng, lắc đều
- ELISA wash buffer concentrate cần pha loãng 1:10 bằng nước tinh khiết trước khi sử dụng. Trước khi pha loãng, cần làm tan cặn muối nếu có ở nhiệt độ phòng hoặc bằng bể ấm 37°C. Dung dịch rửa pha loãng ổn định 1 tháng ở 2- 8°C.
- Chuẩn và QC: Pha loãng bằng 500 µl nước tinh khiết. Trộn nhẹ nhàng để đảm bảo hoà tan hoàn toàn và để ổn định 10 phút. Chuẩn và QC hoàn nguyên ổn định 4 tuần ở 2-8°C.
- Đánh dấu vị trí chuẩn, QC và mẫu thử trên giấy.
- Lấy số lượng microstrip cần dùng ra.
- Thêm 100 µl chuẩn, QC, mẫu thử vào các giếng tương ứng.
- Đậy kín các giếng lại và ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng (15- 30°C)
- Loại bỏ tất cả các chất chứa trong giếng. Rửa mỗi giếng 5 lần bằng cách thêm 250 µl wash buffer pha loãng vào mỗi giếng. Sau lần rửa cuối cùng, loại bỏ đệm còn dính ở giếng bằng gỗ đĩa trên giấy thấm.
- Thêm 100 µl conjugate vào mỗi giếng
- Đậy kín đĩa và ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng (15- 30°C)
- Loại bỏ tất cả các chất chứa trong giếng. Rửa mỗi giếng 5 lần bằng cách thêm 250 µl wash buffer pha loãng vào mỗi giếng. Sau lần rửa cuối cùng, loại bỏ đệm còn dính ở giếng bằng gỗ đĩa trên giấy thấm.
- Thêm 100 µl cơ chất (SUB) vào mỗi giếng
- Ủ 10-20 phút ở nhiệt độ phòng (15- 30°C) trong bóng tối
- Thêm 100 µl dung dịch dừng phản ứng (STOP) vào mỗi giếng, lắc kỹ

- Đo mật độ quang ngay lập tức bằng ELISA reader tại bước sóng 450 nm, đối chiếu với bước sóng 620 nm (hoặc 690 nm). Nếu không có bước sóng phụ, chỉ đo ở 450 nm. Nếu mật độ quang của dung dịch chuẩn cao nhất vượt quá dải của máy đo quang, ngay lập tức đo mật độ quang ở 405 nm đối chiếu với bước sóng 620 nm.

Tính kết quả:

Có thể sử dụng 1 trong 3 phương pháp sau để tính kết quả, tuy nhiên nhà sản xuất khuyến cáo sử dụng phương pháp “4 parameter algorithm”.

- 4 parameter algorithm: trục tung tuyến tính là mật độ quang, trục hoành logarit là nồng độ. Khi sử dụng trục hoành logarit, chuẩn 0 phải có giá trị nhỏ hơn 1 (ví dụ 0,001).
- Point- to-point calculation: trục tung tuyến tính là mật độ quang, trục hoành tuyến tính là nồng độ
- Spline algorithm: trục tung tuyến tính là mật độ quang, trục hoành tuyến tính là nồng độ

Kết quả thu được nhân với 2500 để được nồng độ trong mẫu phân.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

Tuổi	Calprotectin (mg/kg)
0 - 3 tháng	195- 621
3 - 6 tháng	85-988
6 - 12 tháng	109- 418
1 - 4 tuổi	53- 119
4- 17 tuổi	< 50
Người lớn	< 50

- ✓ Trả lời kết quả xét nghiệm với dải giá trị tham chiếu.
- ✓ Báo với bác sĩ lâm sàng nếu kết quả bất thường.
- ✓ Chỉ định của calprotectin trong phân:
 - Viêm cấp tính
 - Đánh giá mức độ viêm dạ dày- ruột
 - Theo dõi bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, người bệnh sau cắt polyp
 - Phân biệt bệnh viêm ruột cấp với hội chứng kích ứng ruột.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Xử lý mẫu không chính xác.
- Mẫu phân quá lỏng kết quả khó chính xác.

ĐỊNH LƯỢNG CDT (CARBOHYDRATE-DEFICIENT TRANSFERRIN) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Thành phần chính của transferrin huyết thanh là glycoprotein với khối lượng phân tử khoảng 80kD chứa hai chuỗi bên polysaccharide. Mỗi chuỗi bên chứa hai gốc đầu axit sialic. Tuy nhiên, transferrin trong huyết thanh người biểu hiện ở các đồng phân khác nhau với mức độ glycolization khác nhau. Tetrasialoform với hai chuỗi bên carbohydrate, mỗi chuỗi được đặc trưng bởi hai gốc đầu axitsialic, biểu hiện trên khoảng 90% người khỏe mạnh. Phân tử transferrin với một chuỗi bên carbohydrate (disialotransferrin) hoặc thậm chí là không có chuỗi carbohydrate (asialotransferrin) hiện diện ở những người sử dụng rượu. Các đồng phân này cũng như các đồng phân khác có sự thay đổi cấu trúc do sử dụng rượu được gọi là CDT (carbohydrate-deficient transferrin)

Như một quy luật, việc tiêu thụ rượu hàng ngày với khoảng 50-60 g ethanol trên hai tuần dẫn đến tăng mức CDT. Giá trị tăng CDT được mong đợi trở về giá trị bình thường sau khi ngừng sử dụng rượu trong khoảng hai đến bốn tuần, phụ thuộc vào độ nghiêm trọng của mức CDT.

Việc xác định CDT đóng góp quan trọng vào việc nhận diện người bệnh nghiện rượu mạn tính, theo dõi sự thay đổi trong tiêu thụ và ngừng sử dụng rượu. Nhiều nghiên cứu cho thấy CDT là một trong những dấu ấn đặc hiệu cho tiêu thụ rượu cao trong khoảng thời gian dài.

Các bệnh không do rượu có thể làm tăng CDT bao gồm viêm gan mạn hoạt động, xơ gan mật nguyên phát, suy gan và hội chứng hiếm gặp CDG (carbohydrate-deficient glycoprotein).

Việc tính toán %CDT từ CDT và transferrin cho phép giảm thiểu ảnh hưởng của mức chuyển vị, tình trạng sắt, và giới hạn từ thấp đến trung bình của chức năng gan trên kết quả CDT. Có thể nâng cao độ đúng chẩn đoán bằng cách kết hợp CDT và γ GT(γ -glutamyltransferase)

Nguyên lý xét nghiệm: Hóa phát quang miễn dịch cạnh tranh.

CDT trong mẫu bệnh phẩm cạnh tranh với hạt polystyrene được phủ CDT để liên kết với kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CDT người, các kháng thể này cũng được liên kết với hạt polystyrene. Với sự hiện diện của CDT trong mẫu, các hạt polystyrene không có hoặc ít ngưng kết. Ngược lại, nếu mẫu không có CDT, sẽ có sự ngưng kết các hạt polystyrene. CDT càng cao, thì tín hiệu ánh sáng phát xạ càng thấp. Kết quả được xác định bằng cách so sánh chuẩn đã biết nồng độ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy phân tích: BN ProSpec, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

2.2. Hoá chất

Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc

Thuốc thử chính NCDTReagent1

- Hỗn dịch của hạt polystyrene được phủ bởi carbohydratedeficient transferrin (< 0.017g/L).
- Đóng gói: 3 x 0.9 mL

Thuốc thử chính NCDTReagent2

- Hỗn dịch của hạt polystyrene được phủ với kháng thể kháng CDT đơn dòng (chuột) (< 9mg/L).
- Đóng gói: 3 x 0.9 mL

Thuốc thử phụ NCDTSupplementaryReagent

- Dung dịch muối đệm phosphate với polyethyleneglycolsorbitanmonolaurate(5g/L)vàEDTA(<0.2mol/L).
- Đóng gói: 3 x 2 mL

Chất hiệu chuẩn NCDTStandardSL

- Huyết thanh người ổn định và CDT. Nồng độ CDT đã được hiệu chuẩn với CDT tham chiếu tinh khiết
- Đóng gói: 3 x 1 mL

Chất kiểm chuẩn NCDTControlSL/1vàNCDTControlSL/2

- Mỗi loại bao gồm nền huyết thanh người ổn định và CDT. Nồng độ của CDT được hiệu chuẩn với NCDTStandard SL tham chiếu.
- Đóng gói: 3 x 1 mL

Chất bảo quản

- NCDTReagent1vàNCDTReagent2:Gentamicin6.25mg/L,Amphotericin0.625mg/L
- NCDTSupplementaryReagent,NCDTStandardSL,NCDTControlSL/1and

N CDT Contro SL/2: sodium azide < 1 g/L

2.2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Thuốc thử, chất hiệu chuẩn, chất kiểm chuẩn sẵn sàng cho sử dụng và không cần chuẩn bị. Lắc đều trước lần sử dụng đầu tiên.

2.2.2. Bảo quản và độ ổn định

- Tránh ánh sáng, hộp chưa mở tại nhiệt độ 2 đến 8⁰C ổn định đến ngày hết hạn ghi trên nhãn của hộp
- Độ ổn định sau khi mở hộp thuốc:
 - Hai tuần cho tất cả các thuốc thử, chất hiệu chuẩn và chất kiểm chuẩn nếu bảo quản tại 2 đến 8⁰C, đậy nắp cẩn thận ngay sau mỗi lần sử dụng. Không được để đông các thuốc thử.
- Thời gian ổn định trên máy: Ít nhất là ba ngày với tám giờ mỗi ngày hoặc lượng thời gian tương đương.

Hóa chất yêu cầu nhưng không được cung cấp trong hộp thuốc

N Supplementary Reagent L
N Diluent
N Antiserum to Human Transferrin
N Protein Standard S
N/T Protein Control SL/L, M, H
N Reaction Buffer

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu thích hợp là mẫu huyết thanh, mẫu càng mới càng tốt (lưu tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày). Mẫu có thể được lưu tại nhiệt độ -20 °C đến 3 tháng nếu mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và cần tránh chu trình kết đông-xả đông. Khi sử dụng mẫu huyết thanh khi đông lạnh cần

lấy ra cho rã đông hoàn toàn và sau đó ly tâm để loại trừ các hạt hoặc dấu vết của fibrin. Mẫu máu nhiễm mỡ hoặc mẫu bị đục sau khi rã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm 15,000 x g /10 phút trước khi thực hiện xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1.Cách vận hành:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CDT. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CDT. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CDT đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

2.1. Thành lập đường cong hiệu chuẩn

Đường chuẩn được thành lập bởi các nồng độ chuẩn. Một chuỗi các pha loãng của N CDT Standard SL được thực hiện tự động bởi máy sử dụng N Diluent. Dung dịch chuẩn khi pha loãng có thể được sử dụng trong vòng 4 giờ. Đường cong chuẩn có hiệu lực trong vòng hai tuần và chỉ khi chất kiểm chuẩn như NCDTControl,SL/1 and SL/2 được lặp lại trong khoảng tin cậy tương ứng. Cần thiết lập đường cong chuẩn mới khi một lô thuốc thử mới được sử dụng. Khoảng đo chính xác phụ thuộc vào nồng độ protein của mỗi lô NCDTStandardSL.

2.2. Mẫu xét nghiệm

Mẫu được pha loãng tự động 1:5 bằng NDiluent và cần được đo trong vòng 4 giờ. Việc lựa chọn độ pha loãng khác 1:5 là không được phép.

2.3. Nội kiểm

Chạy NCDTControlsSL/1 và SL/2 Sau mỗi lần thiết lập đường cong chuẩn, trước lần sử dụng đầu tiên của một lọ thuốc thử mới cũng như với mỗi lần chạy các mẫu. Mẫu IQC được thực hiện trong điều kiện giống như mẫu người bệnh.

Tuân theo các qui định hiện hành hoặc các yêu cầu về quản lý chất lượng cho tần suất chạy nội kiểm. Cần thực hiện lại nếu giá trị IQC nằm ngoài khoảng chấp nhận. Nếu kết quả chạy lại xác nhận sự sai lệch, cần tiến hành chạy lại chuẩn để thiết lập một đường cong chuẩn mới.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Sử dụng đơn vị mg / L hoặc bằng một đơn vị được người sử dụng lựa chọn trên hệ thống .

Ngoài ra, việc tính toán % CDT đã được tích hợp vào phần mềm của Hệ thống BN. Trong trường hợp xác định đồng thời CDT và transferrin từ cùng một mẫu, %CDT có thể được báo cáo thêm.

Khoảng tham chiếu:

Nghiên cứu 561 người khỏe mạnh từ Châu Âu và không sử dụng rượu, kết quả NLatexCDTReagent trong khoảng 28.1 – 76.0 mg/L CDT (bách phân vị thứ 1 đến thứ 99). Cũng với nhóm dân số này, %CDT trong khoảng 1.19 – 2.47% (bách phân vị thứ 1 đến thứ 99).

Tuy nhiên, mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu riêng vì giá trị có thể khác nhau theo từng nhóm dân số.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi nồng độ triglycerid ≤ 18.3 mmol/L, bilirubin ≤ 1026 $\mu\text{mol/L}$ và hemoglobin tự do ≤ 10 g/L và yếu tố dạng thấp RF ≤ 3390 IU/mL.
- Chưa thấy có ảnh hưởng từ các loại thuốc thông thường.
- Mẫu bệnh phẩm đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm. Không sử dụng các mẫu máu nhiễm mỡ và đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15000 g)
- Đối với mẫu có chứa kháng thể heterophil có thể phản ứng miễn dịch và cho kết quả cao hoặc thấp hơn giá trị thực tế. Xét nghiệm này đã được thiết kế nhằm tối thiểu sự ảnh hưởng từ kháng thể heterophil. Tuy nhiên, sự loại bỏ tất cả ảnh hưởng này trên tất cả các mẫu người bệnh là không được đảm bảo.
- Đánh giá chẩn đoán của giá trị % CDT được thành lập với N Latex CDT bị hạn chế đối với các mẫu với nồng độ transferrin rất thấp ($< 1,2$ g / L transferrin).
- Những thay đổi từ người sử dụng sẽ không được khuyến cáo do có thể ảnh hưởng đến hiệu năng của máy và kết quả xét nghiệm. Người sử dụng có trách nhiệm thẩm định những sự thay đổi so với hướng dẫn trong Siemens Application Sheets hoặc IFU.
- Khi nhận định kết quả xét nghiệm luôn kết hợp cùng với tiền sử bệnh lý, biểu hiện lâm sàng và các ghi nhận khác. Do ảnh hưởng bởi chất nền, các mẫu khảo sát liên phòng xét nghiệm và các mẫu kiểm chuẩn có thể cho kết quả khác so với phương pháp khác. Do đó, cần đánh giá kết quả trong mối tương quan với giá trị mục tiêu cụ thể của phương pháp.

ĐỊNH LƯỢNG CHÌ MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên nguyên lý phổ hấp thụ nguyên tử. Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphit. Các nguyên tử chì (Pb) tự do sinh ra trong ống graphit hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn catod (cathode) rỗng tạo thành phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử AA-7000 sử dụng lò điện GFA-7000
- Máy ly tâm
- Dung dịch chuẩn Pb 1g/L – Merck
- Whole blood control for trace elements, 3 mức: cho xét nghiệm chì máu
- ClinCheck Urine Control for trace elements, 2 mức: cho xét nghiệm chì niệu.
- Axit nitric đặc 65% Suprapure - Merck
- Triton X-100 - Sigma-Aldrich T9284
- Chất chống bọt Antifoam B - Sigma A6707
- Khí Argon có độ tinh khiết cao
- Nước khử ion
- Lọ nhựa PP 100 mL, 500 mL, 1000 mL
- Bình định mức 100 mL
- Ống nghiệm PP 15 mL
- Micropipet và đầu tip 10 mL, 1000 mL
- Ống Eppendorf 1,5 mL

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu tĩnh mạch để làm xét nghiệm định lượng chì máu.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Máu toàn phần tĩnh mạch chống đông bằng heparin hoặc EDTA
- Lượng mẫu cần 60 μ l mẫu máu cho mỗi phép đo
- Lưu ý: dụng cụ chứa mẫu BP không được phép nhiễm chì.
(*Khuyến cáo: Các dụng cụ được rửa bằng acid có thể sử dụng chứa BP và yêu cầu này phải được tuân thủ.*)

2. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị hóa chất

- + **Axit HNO₃ 6,5%:** Pha chuẩn

Cho khoảng 60 mL nước khử ion vào bình định mức 100 mL, thêm 10 mL axit HNO₃ đặc 65% vào, thêm nước khử ion định mức tới vạch 100mL, đậy nắp và lắc kỹ.

- + **Dung dịch pha loãng mẫu_** (0,1% Triton X-100; 0,1% NH₄H₂PO₄ trong nước deion)

- + **Dung dịch rửa** (0.01% HNO₃ và 0.002% Triton X-100)

- + **Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc**

Xử lý mẫu

Chuẩn bị các ống Eppendorf 1,5 mL để xử lý mẫu

Bước	Dung dịch	Blank, chuẩn từ 1-5	MẫuQC	Mẫu bệnh phẩm
1	Pha loãng mẫu	450 μ L	450 μ L	450 μ L
2	Blank hoặc chuẩn từ 1- 5	50 μ L		
3	QC 3 mức cho máu		50 μ L	50 μ L
4	BP			
5	Trộn kỹ bằng máy lắc va cho sang cup để chạy máy			

Các thông số kỹ thuật của phương pháp

Các thông số quang học

- Bước sóng: 283.3 nm
- Độ rộng khe đo: 0.7 nm
- Đèn: BGC-D2

Chương trình lò

Step No	Temp	Time (sec)	Heat mode	Sensitivity	Gas type	Flow rate
1	60	3	RAMP		#1	0.1
2	120	20	RAMP		#1	0.1
3	250	10	RAMP		#1	0.1
4	700	10	RAMP		#1	1
5	700	10	STEP		#1	1
6	700	3	STEP	v	#1	0.0
7	2000	3	STEP	v	#1	0.0
8	2500	2	STEP		#1	1

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Báo cáo kết quả:

Đơn vị: $\mu\text{mol/L}$, lấy 1 số sau dấu phẩy

Giá trị tham chiếu:

- Chì trong máu:
- Trẻ em: $< 10 \mu\text{g/dL}$ (CDC guideline)
- Phụ nữ có thai: $< 10 \mu\text{g/dL}$ (CDC guidelines)
- Người lớn: $< 30 \mu\text{g/dL}$ (ACGIH guidelines -American Conference of Governmental Industrial Hygienists,2007)

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Máu không được vỡ hồng cầu

ĐỊNH LƯỢNG CHÌ NIỆU

I. NGUYÊN LÝ

- Định lượng chì niệu bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện.
- Nguyên lý: Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphit. Các nguyên tử chì (Pb) tự do sinh ra trong ống graphit hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn catod (cathode) rỗng tạo thành phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy móc

- Các loại máy quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện.
- Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

- Dung dịch chuẩn Pb 1g/L – Merck
- QC 2 mức: cho xét nghiệm chì niệu.
- Axit nitric đặc 65% Suprapure - Merck
- Triton X-100 - Sigma-Aldrich T9284
- Chất chống bọt Antifoam B - Sigma A6707
- Khí Argon có độ tinh khiết cao
- Nước khử ion

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy nước tiểu 24h, cách thức lấy nước tiểu 24h để làm xét nghiệm định lượng chì niệu.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Nước tiểu 24h không cần chất bảo quản
- Lượng mẫu cần 60 µl mẫu nước tiểu cho mỗi phép đo (ít hơn cũng có thể định lượng bằng cách pha loãng mẫu)
- Lưu ý: dụng cụ chứa mẫu BP không được phép nhiễm Cu.

(Khuyến cáo: Các dụng cụ được rửa bằng acid có thể sử dụng chứa BP và yêu cầu này phải được tuân thủ).

2. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị hóa chất

+ **Axit HNO₃ 6,5%:** Pha chuẩn

Cho khoảng 60 mL nước khử ion vào bình định mức 100 mL, thêm 10 mL axit HNO₃ đặc 65% vào, thêm nước khử ion định mức tới vạch 100mL, đậy nắp và lắc kỹ.

+ **Dung dịch pha loãng mẫu_** (0,1% Triton X-100; 0,1% NH₄H₂PO₄ trong nước deion)

+ **Dung dịch rửa** (0.01% HNO₃ và 0.002% Triton X-100)

+ **Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc**

Xử lý mẫu

Chuẩn bị các ống Eppendorf 1,5 mL để xử lý mẫu

Bước	Dung dịch	Blank, chuẩn từ 1-5	MẫuQC	Mẫu bệnh phẩm
1	Pha loãng mẫu	450 µL	450 µL	450 µL
2	Blank hoặc chuẩn từ 1- 5	50 µL		
3	QC 2 mức cho nước tiểu		50 µL	50 µL
4	BP			
5	Trộn kỹ bằng máy lắc va cho sang cup để chạy máy			

Mẫu sau khi đã xử lý được đưa vào phân tích trên máy theo quy trình vận hành máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu: Chì trong nước tiểu:

- Bình thường: < 80 µg/24 h
- Giá trị báo động: > 125 µg/24 h

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Thu thập không đủ lượng nước tiểu 24h. Cần thu thập lại

ĐỊNH LƯỢNG CRP MÁU

(C-reactive protein)

C-reactive protein (CRP) là một protein pha cấp được gan sản xuất ra và phóng thích vào máu sau một vài giờ khi mô bị tổn thương, do bị nhiễm trùng, hoặc nguyên nhân khác gây ra viêm. Xét nghiệm CRP thường chỉ định trong các bệnh như các nhiễm trùng do vi khuẩn, nhồi máu cơ tim, bệnh tự miễn...

I. NGUYÊN LÝ

CRP được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng CRP trong thuốc thử kết hợp với CRP trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ CRP có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CRP, chất chuẩn CRP, chất kiểm tra chất lượng CRP.

3. Người bệnh

Người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-/Na-heparin, Na-/K3-EDTA, hay citrate. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định: 11 ngày ở 15–25°C, 2 tháng ở 2–8°C, 3 năm ở (-15)–(-25)°C.

- Bệnh phẩm chỉ rẽ đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2.Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CRP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CRP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CRP đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường: < 0.5 mg/dl.

+ CRP máu tăng trong: Thấp khớp dạng thấp, sốt thấp khớp, Nhồi máu cơ tim, Nhiễm khuẩn, Phế viêm do phế cầu...

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

+ Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hay 621 μ mol/L.
- Huyết thanh đục: Triglyceride <1600 mg/dL (18.2 mmol/L).
- Yếu tố dạng thấp < 1200 IU/mL.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CRP tới 1000 mg/L. Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG DHEAS MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-SO₄, DHEAS) là một steroid của tuyến thượng thận, có vai trò quan trọng trong nghiên cứu về tình trạng mọc lông bất thường (chứng rậm lông) và hói đầu (chứng rụng tóc) ở nữ giới. Chất này cũng có giá trị trong việc đánh giá tình trạng tăng hoạt động vỏ thượng thận và dậy thì muộn. DHEA-SO₄ trong tuần hoàn gần như hoàn toàn bắt nguồn từ tuyến thượng thận, dù ở nam giới cũng có thể xuất phát từ tinh hoàn, góp phần vào sự khác biệt giới tính nổi bật rõ nét ở khoảng 15 tuổi. Mặt khác, hoóc-môn này không được sản xuất bởi buồng trứng trong các tình trạng bệnh lý. Bản thân DHEA-SO₄ chỉ có hoạt tính androgen yếu, nhưng có thể chuyển hóa thành các androgen mạnh hơn như androstenedione và testosterone và do đó là nguyên nhân gián tiếp gây rậm lông hay nam hóa. Nồng độ DHEA-SO₄ trong huyết tương tăng đều đặn từ khoảng bảy tuổi sau đó giảm dần sau ba mươi tuổi.

Nguyên lý xét nghiệm: miễn dịch enzym hóa phát quang cạnh tranh, pha rắn. Chu kỳ ủ: 1 × 30 phút

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

2. Phương tiện & hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy phân tích: IMMULITE®/IMMULITE 1000, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

2.2. Hoá chất

Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc

Đơn vị xét nghiệm DHEA-SO₄ (LDS1)

Mỗi đơn vị được đánh dấu bằng mã vạch chứa một hạt được bọc bằng kháng thể đa dòng của thổ kháng DHEA-SO₄. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

LKDS1:100 đơn vị

Đề các túi Đơn vị xét nghiệm đến nhiệt độ phòng trước khi mở. Mở bằng cách cắt dọc theo cạnh trên, để các chìa khóa kéo nguyên vẹn. Gắn kín miệng túi để tránh ẩm.

Hộp thuốc thử DHEA-SO₄ (LDS2)

Có mã vạch. 7,5 mL photphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với DHEA-SO₄ trong chất nền protein người, có chất bảo quản. Bảo quản trong điều kiện đóng nắp và lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Khuyến cáo sử dụng trong vòng 30 ngày sau khi mở khi được bảo quản đúng quy định.

LKDS1: 1 hộp hình nôm

Các chất điều chỉnh DHEA-SO₄ (LDSL, LDSH)

Hai lọ (nồng độ Thấp và nồng độ Cao) DHEA-SO₄ đông khô trong huyết thanh người, có chất bảo quản. Hoàn nguyên mỗi lọ với 2,0 mL nước cất hoặc nước khử ion. Để yên trong 30 phút. Trộn bằng cách lắc hoặc đảo đi đảo lại nhẹ nhàng cho đến khi chất đông khô hòa tan hoàn toàn. Chiết tách và đông lạnh. Ổn định ở -20°C trong 2 tháng sau khi hoàn nguyên.

LKDS1: 1 bộ

Các thành phần của bộ dụng cụ được cung cấp riêng

Chất pha loãng mẫu DHEA-SO₄ (LDSZ)

Đề pha loãng các mẫu của người bệnh theo cách thủ công. 25 mL huyết thanh người không có DHEA-SO₄ đã xử lý, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết tách) ở -20°C.

LSUBX: Cơ chất hóa phát quang

Bảo quản và độ ổn định

Thuốc thử: Bảo quản ở 2–8°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Lấy mẫu máu vào ống không có chất chống đông (nắp đỏ). Chờ quá trình đông máu diễn ra hoàn toàn mới tiến hành ly tâm tách huyết thanh

Mẫu máu đục do triglycerid tăng cao được khuyến nghị cần sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ các mẫu có tăng lipid huyết.

Mẫu 2 ngày ở 2–8°C trong ống thủy tinh hoặc polypropylene, hoặc 2 tháng ở -20°C.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm DHEA-SO4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm DHEA-SO4. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm DHEA-SO4 đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

Lưu ý rằng để có hiệu suất tối ưu, điều quan trọng là cần phải thực hiện tất cả các quy trình bảo dưỡng định kỳ theo quy định trong Sổ tay hướng dẫn vận hành hệ thống IMMULITE hoặc IMMULITE 1000. Xem Sổ tay hướng dẫn vận hành hệ thống IMMULITE hoặc IMMULITE 1000 để biết về các quy trình chuẩn bị, thiết lập, pha loãng, điều chỉnh, xét nghiệm và kiểm soát chất lượng.

Kiểm tra bằng mắt từng Đơn vị xét nghiệm để xem có hạt hay không trước khi tải vào hệ thống. Khoảng điều chỉnh được khuyến nghị: 4 tuần

Các mẫu kiểm soát chất lượng: Tuân theo các quy định hoặc yêu cầu về cấp phép của chính phủ về tần suất kiểm soát chất lượng.

Sử dụng các chất kiểm chuẩn hoặc nhóm mẫu với ít nhất là hai mức (thấp và cao) DHEA-SO4. Siemens Healthcare Diagnostics khuyến nghị sử dụng chất kiểm chuẩn có bán trên thị trường với ít nhất 2 mức (thấp và cao). Có thể đạt được mức độ hiệu suất thỏa đáng khi các giá trị cần phân tích thu được nằm trong Phạm vi kiểm chuẩn chấp nhận được đối với hệ thống, hoặc trong một phạm vi đã thiết lập được xác định theo chương trình kiểm soát chất lượng phòng thí nghiệm nội bộ thích hợp.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

	<i>n</i>	Giá trị trung vị	Phạm vi (Phạm vi trung tâm 95%)
Nữ	132	170 µg/dL	35–430 µg/dL
Nam	70	280 µg/dL	80–560 µg/dL

Các giới hạn này là tham khảo. Mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập phạm vi tham chiếu của riêng mình.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu bị tan huyết có thể ảnh hưởng đến kết quả
- Ly tâm tách huyết thanh sớm (khi cục máu đông hình thành hoàn toàn) có thể dẫn đến sự xuất hiện tơ huyết. Để ngăn ngừa trường hợp kết quả sai do sự xuất hiện tơ huyết, cần tiến hành ly tâm khi mẫu máu hình thành cục máu đông hoàn

toàn. Một số mẫu từ người bệnh được điều trị bằng thuốc chống đông máu, có thể cần phải tăng thời gian đông máu.

- Ống thu thập máu của các nhà sản xuất khác nhau có thể cho ra những giá trị khác nhau, tùy thuộc vào vật liệu và phụ gia, bao gồm gel hoặc các rào cản vật lý, chất hoạt hóa đông máu và/hoặc thuốc chống đông máu. IMMULITE/IMMULITE 1000 DHEA-SO₄ chưa được xét nghiệm với tất cả các loại ống khác nhau có thể xảy ra.

- Các mẫu của các người bệnh tiếp xúc thường xuyên với động vật hoặc các sản phẩm huyết thanh động vật có thể có biểu

hiện loại nhiễm này có khả năng gây ra kết quả bất thường. Những thuốc thử này đã được tạo ra để giảm thiểu nguy cơ bị nhiễm; tuy nhiên, có thể xảy ra các tương tác có khả năng xảy ra giữa huyết thanh hiêm gập và các thành phần xét nghiệm. Đối với các mục đích chẩn đoán, các kết quả có được từ xét nghiệm này cần được sử dụng kết hợp với thăm khám lâm sàng, bệnh sử của người bệnh và các phát hiện khác.

Theo y văn, giới hạn trên của phạm vi bình thường ở người trưởng thành trẻ tuổi là khoảng 300 µg/dL đối với nữ giới và 500 µg/dL đối với nam giới. Mang thai và uống thuốc tránh thai làm giảm nồng độ này ở mức vừa phải. DHEA-SO₄ được tiết vào dòng máu ở tốc độ chỉ cao hơn một chút so với DHEA, nhưng do có tốc độ chuyển hóa chậm hơn nhiều DHEA-SO₄ có thời gian bán thải là gần một ngày duy trì nồng độ trong huyết tương cao hơn gần một nghìn lần. Khác với cortisol, DHEA-SO₄ không biểu hiện mức biến thiên trong ngày đáng kể. Khác với testosterone, chất này không tuần hoàn ở dạng gắn với globulin gắn kết hoóc-môn sinh dục và do đó không bị ảnh hưởng bởi những thay đổi trong nồng độ của protein vận chuyển này. Sự dồi dào, cùng với tính ổn định trong ngày và từ ngày này qua ngày khác khiến DHEA-SO₄ là một chỉ báo trực tiếp tuyệt vời về sản lượng androgen của tuyến thượng thận ưu việt, chắc chắn, đối với phép đo 17-ketosteroid niệu trong bối cảnh này.

Theo đó, DHEA-SO₄ thường được xét nghiệm kết hợp với testosterone tự do như một phương pháp sàng lọc ban đầu về tình trạng tăng tiết androgen trong chứng rậm lông. Ít nhất một trong hai hoóc-môn này có khả năng tăng cao trong đa số các trường hợp theo báo cáo là trên 80 phần trăm số trường hợp. Đôi khi DHEA-SO₄ là hoóc-môn duy nhất tuần hoàn ở nồng độ trên mức bình thường và có vẻ có nhiều khả năng tăng cao hơn trong các giai đoạn đầu của chứng rậm lông so với hầu hết các androgen khác. Nồng độ DHEA-SO₄ cao thường gặp trong hội chứng buồng trứng đa nang, cho thấy rằng tăng tiết androgen tuyến thượng thận là một mặt khá điển hình của hội chứng này. Nồng độ trong huyết tương tăng cao kéo dài trong hai tuần hoặc khoảng hai tuần có thể ức chế bằng dexamethasone cũng có thể là kết quả của tình trạng tăng sản tuyến thượng thận. Nồng độ cực kỳ cao (lớn hơn 700 hoặc 800 µg/dL) ở nữ giới gợi ý về khối u

tuyến thượng thận tiết hoóc-môn (Ngược lại, nồng độ DHEA-SO₄ thường bình thường khi có các khối u buồng trứng.

ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG NIỆU

I. NGUYÊN LÝ

- Định lượng đồng niêu theo phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện.
- Nguyên lý: Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphit. Các nguyên tử đồng tự do sinh ra trong ống graphit hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn catod (cathode) rỗng tạo thành phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện
- Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

- Dung dịch chuẩn Cu 1g/L – Merck
- QC 2 mức
- Axit nitric đặc 65% Suprapure - Merck
- Triton X-100 - Sigma-Aldrich T9284
- Chất chống bọt Antifoam B - Sigma A6707
- Khí Argon có độ tinh khiết cao
- Nước khử ion

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy nước tiểu 24h, cách thức lấy nước tiểu 24h để làm xét nghiệm định lượng Cu niêu.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Nước tiểu 24h không cần chất bảo quản
- Lượng mẫu cần 600 µl mẫu nước tiểu cho mỗi phép đo (ít hơn cũng có thể định lượng bằng cách pha loãng mẫu)
- Lưu ý: dụng cụ chứa mẫu BP không được phép nhiễm Cu.

(Khuyến cáo: Các dụng cụ được rửa bằng acid có thể sử dụng chứa BP và yêu cầu này phải được tuân thủ).

2. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị hóa chất

+ Axit HNO₃ 6,5%: Pha chuẩn

Cho khoảng 60 mL nước khử ion vào bình định mức 100 mL, thêm 10 mL axit HNO₃ đặc 65% vào, thêm nước khử ion định mức tới vạch 100mL, đậy nắp và lắc kỹ.

+ Dung dịch pha loãng mẫu nước tiểu

(0,5% HNO₃; 2% Triton X-100; 0,1% Antifoam B trong nước khử ion)

Ủ lọ Triton X-100 trong buồng ủ 37 °C trước khi dùng (để giảm độ nhớt khi lấy bằng pipet).

+ Dung dịch rửa (0.01% HNO₃ và 0.002% Triton X-100)

+ Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc

Xử lý mẫu

Dung dịch	Ống Blank	Ống Chuẩn	Ống QC	Ống BP
Dung dịch pha loãng mẫu nước tiểu	300 µL	300 µL	300 µL	300 µL
Nước khử ion	300 µL			
Dung dịch chuẩn		300 µL		
Dung dịch QC			300 µL	
Bệnh phẩm				300 µL

Mẫu sau khi xử lý đưa vào phân tích trên máy theo quy trình vận hành máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị bình thường:

	µmol/24h	µg/24h
Người lớn	0.16- 0.95	10- 60
Bệnh Wilson	> 1.57	> 100 (0.1 mg/24h)
Nước tiểu ngẫu nhiên		2- 80 µg/L

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Thu thập không đủ lượng nước tiểu 24h. Cần thu thập lại.

ĐỊNH LƯỢNG ESCSTASY (AMPHETAMIN) NIÊU

I. NGUYÊN LÝ

Các amphetamine được gọi là các amin cường giao cảm vì chúng bắt chước tác động kích thích hệ thần kinh giao cảm. Những phân tử nhỏ này, dựa trên β -phenylethylamine, có cấu trúc tương tự như catecholamine của cơ thể. Nhiều loại đã được tạo ra bằng cách thay thế bất cứ vị trí nào trên cấu trúc. Các amphetamine là chất kích thích thần kinh trung ương mạnh. Như vậy chúng có thể làm tăng sự tỉnh táo, hoạt động thể chất, và giảm sự thèm ăn. Các amphetamine có một số chỉ định

giới hạn và được phê duyệt để sử dụng trong chứng ngủ rũ, và béo phì... Tuy nhiên, vì các chất kích thích thần kinh trung ương này mang lại cảm giác tự tin, hạnh phúc, và sáng khoái, nên chúng rất gây nghiện, bị lạm dụng rộng rãi, và do đó là các chất bị kiểm soát. Lạm dụng có thể dẫn đến các hậu quả về y tế, tâm lý và xã hội. Tác hại cho sức khỏe bao gồm mất trí nhớ, hung hăng, hành vi loạn thần kinh, tổn thương tim, suy dinh dưỡng, và các vấn đề răng miệng nghiêm trọng. Amphetamin có thể là một chất chuyển hóa của một số loại thuốc khác bao gồm methamphetamine. Thông thường khoảng 30 % được bài tiết dạng không đổi trong nước tiểu 24 giờ, nhưng có thể thay đổi tới con số 74 % trong nước tiểu acid và có thể giảm đến 1 % trong nước tiểu kiềm.

Xét nghiệm dựa trên sự tương tác động học các vi hạt trong dung dịch được đo bởi những thay đổi trong dẫn truyền ánh sáng. Trong trường hợp không có thuốc mẫu, thuốc liên hợp hòa tan gắn với vi hạt liên kết với kháng thể, tạo thành các vi hạt kết tập. Khi phản ứng kết tập thực hiện trong trường hợp không có thuốc mẫu, độ hấp thu tăng lên.

Khi mẫu nước tiểu chứa thuốc đang nghi ngờ, thuốc này cạnh tranh với dẫn xuất thuốc liên hợp với vi hạt liên kết với kháng thể. Kháng thể gắn với thuốc trong mẫu thử không còn khả năng thúc đẩy hình thành hạt ngưng kết, và sau đó ức chế sự hình thành lưới hạt. Sự có mặt của thuốc trong mẫu thử làm giảm sự gia tăng độ hấp thu tỷ lệ với nồng độ thuốc trong mẫu thử. Hàm lượng thuốc trong mẫu thử được xác định tương ứng với giá trị thu được cho ngưỡng nồng độ đã biết trước của thuốc.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

Phương tiện

- Máy có thể phân tích: COBAS C, AU...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyên mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

Hoá chất

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng Amphetamin: Khi chưa mở nắp. thuốc thử ổn định ở 2- 8 °C cho đến hết hạn sử dụng ghi trên hộp. Thuốc thử đã mở nắp và để lạnh trên máy ổn định trong 8tuần.

- Chất chuẩn
- Chất kiểm tra chất lượng.

3. Người bệnh:

Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy nước tiểu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Nước tiểu: Lấy mẫu nước tiểu trong dụng cụ chứa bằng thủy tinh hoặc plastic. Mẫu nước tiểu mới không yêu cầu bất kỳ xử lý hay tiền xử lý đặc biệt nào, nhưng phải hút mẫu cẩn thận để tránh cạn. pH mẫu phải nằm trong khoảng từ 5-8. Không cần sử dụng chất bảo quản.

Có thể bảo quản mẫu nước tiểu ở 2-8 °C trong vòng 5 ngày sau khi lấy mẫu. Ly tâm mẫu có độ đục cao trước khi xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Amphetamin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Amphetamin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Amphetamin đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Với xét nghiệm định tính, ngưỡng mẫu chuẩn được sử dụng để tham chiếu trong phân biệt giữa mẫu dương tính sơ bộ và mẫu âm tính. Mẫu cho giá trị độ hấp thu dương hay bằng “0” được xem là dương tính sơ bộ. Mẫu dương tính sơ bộ được báo cờ hiệu là >Test. Mẫu cho giá trị độ hấp thu âm được xem là âm tính. Mẫu âm tính được ghi dấu trừ ở phía trước. Kết quả của xét nghiệm này chỉ phân biệt các mẫu dương tính sơ bộ (≥ 300 ng/mL, ≥ 500 ng/mL hoặc ≥ 1000 ng/mL phụ thuộc vào ngưỡng mẫu chuẩn) so với mẫu âm tính. Không thể ước lượng lượng thuốc được phát hiện trong một mẫu dương tính sơ bộ.

Xét nghiệm bán định lượng của các kết quả dương tính sơ bộ chỉ nên được sử dụng bởi phòng xét nghiệm nhằm xác định độ pha loãng thích hợp của mẫu để khẳng định bằng một phương pháp khẳng định như sắc ký khí/khối phổ (GC/MS).

Nó cũng cho phép phòng xét nghiệm thiết lập quy trình kiểm tra chất lượng và đánh giá hiệu năng kiểm chứng. Đối với xét nghiệm bán định lượng, máy phân tích sẽ vẽ một đường cong chuẩn từ các kết quả đo độ hấp thụ của các mẫu chuẩn bằng hàm điều chỉnh 4 thông số logit-log (RCM). Hàm logit-log sẽ vẽ một đường thẳng qua các điểm dữ liệu. Máy phân tích sử dụng các giá trị độ hấp thụ của mẫu thử để tính nồng độ thuốc hoặc chất chuyển hóa của thuốc bằng cách nội suy từ hàm điều chỉnh logit-log. Kết quả của xét nghiệm này chỉ cho nồng độ tích lũy gần đúng của thuốc và các chất chuyển hóa của nó.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Xem lại dữ liệu Reaction Monitor của mẫu thử và so sánh với dữ liệu Reaction Monitor của mẫu chuẩn cao nhất. Nguyên nhân thường gặp là do nồng độ chất phân tích trong mẫu thử cao, trong trường hợp này giá trị độ hấp thụ của mẫu thử sẽ nhỏ hơn giá trị của mẫu chuẩn cao nhất. Pha loãng mẫu thích hợp sử dụng mẫu chuẩn 0 ng/mL và chạy mẫu lại. Có thể thay thế mẫu chuẩn 0 ng/mL bằng nước tiểu bình thường không chứa thuốc nếu nước tiểu và quy trình đã được thẩm định bởi phòng xét nghiệm.

Để đảm bảo mẫu thử không bị pha loãng quá mức, kết quả pha loãng, trước khi nhân với hệ số pha loãng, ít nhất phải bằng 1/2 giá trị ngưỡng của chất phân tích. Nếu kết quả nằm dưới 1/2 giá trị ngưỡng của chất phân tích, xét nghiệm lại mẫu thử với độ pha loãng nhỏ hơn. Độ pha loãng cho kết quả gần nhất với ngưỡng chất phân tích là giá trị ước lượng chính xác nhất.

Để ước lượng nồng độ của các mẫu dương tính sơ bộ, nhân kết quả với hệ số pha loãng thích hợp. Chỉ nên pha loãng để biện luận kết quả báo hiệu Calc.? hoặc Samp.?, hoặc khi cần ước lượng nồng độ các mẫu đo bằng phương pháp GC/MS.

Hãy thận trọng khi báo cáo kết quả vì có những yếu tố khác nhau ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm nước tiểu. Như với bất kỳ xét nghiệm nhạy đối với lạm dụng thuốc trên các máy phân tích hóa sinh lâm sàng tự động, có khả năng chất phân tích từ mẫu thử có nồng độ rất cao nhiễm vào mẫu bình thường (âm tính) và được xét nghiệm ngay sau đó. Khẳng định tất cả kết quả dương tính sơ bộ bằng một phương pháp khác.

Khi chạy xét nghiệm Amphetamines và HbA1c II, trên cùng máy phân tích, tránh tiến hành xét nghiệm đầu tiên là Amphetamines sau chế độ chờ. Nếu không có xét nghiệm nào khác đang chờ, nên tiến hành một xét nghiệm mẫu giả để tránh Amphetamines trở thành xét nghiệm đầu tiên sau chế độ chờ. Ra lệnh xét nghiệm giả cho bất kỳ xét nghiệm nào có R1 ngoài HbA1c II.

ĐỊNH LƯỢNG ELF (ENHANCED LIVER FIBROSIS) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test là một xét nghiệm chỉ số định lượng chẩn đoán *in vitro* được dùng để cung cấp một điểm ELF duy nhất bằng cách kết hợp thuật toán với phép đo định lượng axit hialuronic (HA), amino-terminal propeptide của procollagen loại III (PIIINP) và yếu tố ức chế mô của metalloproteinase 1 (TIMP-1) trong huyết thanh người bằng cách sử dụng Atellica™ IM/Centaur Analyzer. Xét nghiệm ELF Test, cùng với các phát hiện trong phòng xét nghiệm và đánh giá lâm sàng khác, được coi là công cụ hỗ trợ chẩn đoán và đánh giá mức độ nghiêm trọng của bệnh xơ gan ở những người bệnh có các dấu hiệu và triệu chứng mắc bệnh gan mạn tính.

ELF Test định lượng các chất phân tích là dấu hiệu trực tiếp của bệnh xơ gan. PIIINP là dấu hiệu của tình trạng xơ hóa và viêm nhiễm sớm, TIMP-1 là chất ức chế tuần hoàn các enzyme MMP có thể cải thiện tình trạng xơ hóa và HA là glycosaminoglycan do các tế bào gan hình sao sản sinh ra. Các xét nghiệm này cùng đánh giá những thay đổi về định lượng và định tính ở chất nền ngoại bào (ECM). ECM là nhóm các đại phân tử hình thành nên khuôn nền ngoại bào của gan. Một số dấu hiệu ECM phản ánh tình trạng xơ hóa trong khi những dấu hiệu khác phản ánh sự thoái trào của bệnh xơ hóa, cho phép đánh giá động về hoạt tính của ECM.

Điểm ELF, suy ra từ một thuật toán kết hợp các kết quả riêng lẻ của HA, PIIINP và TIMP-1, có thể dùng để đánh giá tình trạng xơ gan ở những người bệnh đã được chẩn đoán mắc bệnh gan mạn tính. Điểm ELF có thể được dùng làm cơ sở để xác định bệnh xơ gan; để theo dõi các thay đổi về tình trạng xơ hóa theo thời gian (bệnh sử tự nhiên); trước, trong và sau khi trị liệu hoặc thay đổi lối sống; và hỗ trợ xác định tiên lượng.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: Atellica IM; Centaur; ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

2.2. Hoá chất

Điểm ELF Test được xác định dựa trên kết quả xét nghiệm HA, PIIINP và TIMP-1 bằng cách sử dụng một thuật toán nên cần làm các xét nghiệm thành phần trước khi tiến hành xét nghiệm ELF.

Hóa chất cần thiết nhưng không được cung cấp

- Atellica IM/Centaur HA
- Atellica IM/Centaur PIIINP
- Atellica IM/ Centaur TIMP-1

Hóa chất cụ thể của từng xét nghiệm thành phần tham khảo thêm ở hướng dẫn sử dụng của từng xét nghiệm thành phần.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Huyết thanh là loại mẫu được khuyến nghị cho các xét nghiệm này.

Lấy mẫu bệnh phẩm theo quy trình quy định. Để mẫu máu đông hoàn toàn trước khi ly tâm

Chuẩn bị mẫu:

Xét nghiệm này cần có 65 μ L mẫu để thực hiện một lần xét nghiệm bằng cách sử dụng toàn bộ ba xét nghiệm thành phần. Thê tích này không bao gồm thê tích không sử dụng chứa trong hộp đựng mẫu hoặc thê tích bổ sung theo quy định khi thực hiện lặp lại hoặc thực hiện các xét nghiệm khác trên cùng một mẫu.

Lưu ý Không sử dụng các mẫu bị nhiễm bẩn rõ ràng.

Trước khi đặt mẫu lên hệ thống, đảm bảo rằng mẫu không có:

- Bong bóng hoặc bọt.
- Tơ huyết hoặc hạt vật chất khác.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm ELF. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm ELF. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm ELF đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Đảm bảo nạp và bật xét nghiệm thành phần trước khi lên lịch Xét nghiệm ELF.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Điểm Atellica IM ELF Test được xác định dựa trên kết quả xét nghiệm HA, PIIINP và TIMP-1 bằng cách sử dụng một thuật toán
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Hệ thống tính điểm ELF bằng cách sử dụng kết quả xét nghiệm thành phần. Hệ thống báo cáo điểm ELF dưới dạng giá trị số không đơn vị.

Điểm ELF	Mức độ nghiêm trọng của bệnh xơ gan
< 7	không có bệnh cho đến bệnh nhẹ
$\geq 7,7 - < 9,8$	Trung bình
$\geq 9,8$	Nghiêm trọng

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Tất cả các xét nghiệm thành phần dùng để xác định điểm ELF (HA, PIIINP và TIMP-1) phải cùng cho ra kết quả trong vòng 8 giờ để điểm ELF hợp lệ.
- Các mẫu bị huyết tán đã cho thấy nồng độ PIIINP giảm rõ rệt ở các mẫu sử dụng xét nghiệm PIIINP.
- Nhận định kết quả cần kết hợp với bệnh sử, triệu chứng lâm sàng và các phát hiện khác từ người bệnh.

ĐỊNH LƯỢNG EPO (ERYTHROPOIETIN) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Erythropoietin (EPO) là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 30 400 Dalton, được sản xuất chủ yếu bởi thận, là yếu tố chính điều hòa quá trình sản xuất tế bào hồng cầu ở động vật có vú. Việc sản xuất EPO của thận được điều hòa bởi sự thay đổi lượng oxy trong máu. Trong tình trạng thiếu hụt oxy ở mô, nồng độ EPO tuần hoàn sẽ tăng, dẫn đến việc tăng sản xuất các tế bào hồng cầu.

EPO được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang (CLIA-Chemiluminescence Immunoassay).

Mẫu bệnh phẩm có EPO được thêm vào thuốc thử có các hạt từ gắn kháng thể chuột đơn dòng kháng EPO. Sau khi ủ trong bình phản ứng, EPO liên kết với phorb là các hạt từ trong thuốc thử. Sau đó, thuốc thử không liên kết được rửa sạch. Tiếp theo, hợp chất hóa phát quang Lumi-Phos* 530 được bổ sung vào và ánh sáng được tạo ra do các phản ứng được đo bằng một quang tử. Cường độ ánh sáng tỷ lệ thuận với nồng độ của EPO trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy móc: máy miễn dịch Unicel® DxI 800 và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng EPO, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng EPO.

3. Người bệnh:

Cần giải thích cho người, người nhà người bệnh bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Do nồng độ của erythropoietin dao động trong ngày. Do đó, khuyến cáo cần lấy mẫu bệnh phẩm ở thời điểm thích hợp trong ngày. Thời điểm lấy mẫu nên trong khoảng 7h30 – 12h.

Mẫu bệnh phẩm cần luôn luôn được đậy nắp.

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin để định lượng EPO. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông heparin. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Bệnh phẩm ổn định trong ống có nút đậy chặt ở nhiệt độ phòng (15-30°C) không quá 8 giờ.

Nếu xét nghiệm không thực hiện trong vòng 8 giờ, mẫu cần bảo quản ở nhiệt độ từ 2-8°C. Mẫu ổn định trong 48 giờ.

Nếu xét nghiệm không thực hiện trong vòng 48 giờ, mẫu cần bảo quản ở nhiệt độ -20°C hoặc lạnh hơn. Không rã đông quá 3 lần.

Không lưu trữ mẫu trong các ống thủy tinh.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm EPO. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm EPO. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm EPO đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Giá trị tham chiếu: 2,59-18,5 mIU/mL

Nồng độ EPO tăng trong: thiếu máu tán huyết, đa hồng cầu thứ phát, hội chứng loạn sinh tủy, có thai...

Nồng độ EPO có thể tăng trong các tình trạng thiếu hụt lượng oxy trong mô như người sống ở vùng cao, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh tim bẩm sinh (dẫn đến lượng oxy trong máu thấp), hội chứng ngừng thở khi ngủ, hội chứng rối loạn hemoglobin ái lực cao với oxygen, hút thuốc hoặc tình trạng thiếu hụt oxy cục bộ trong thận.

Ngoài ra, mức EPO tăng cao là do sự sản xuất của các tế bào ung thư. Các trường hợp tăng sản xuất EPO và đa hồng cầu xuất hiện ở những người bệnh ung thư biểu mô thận, bệnh thận đa nang, u Wilm, ung thư gan, u nguyên bào mạch máu tiểu não (Cerebellar Hemangioblastomas), u tuyến thượng thận, và u cơ trơn

lành tính (leiomyomas).

- Nồng độ EPO giảm trong: bệnh thận giai đoạn cuối, đa hồng cầu nguyên phát, hội chứng AIDS, thiếu máu ở bệnh mạn tính...

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi một số chất ở những nồng độ sau:

Các mẫu huyết tán đến 500 mg/dL hemoglobin, huyết thanh vàng chứa đến 40 mg/dL bilirubin (684 μ mol/L), huyết thanh đục chứa đến 3000mg/dL triglycerides (33,9 mmol/L), 8000 units/dL heparin, 20mg/dL acetaminophen, 50 mg /dL acetylsalicylic acid, 40mg/dL ibuprofen.

ĐỊNH LƯỢNG EVEROLIMUS MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Everolimus là một dẫn xuất của sirolimus được tổng hợp bởi sự khử nhóm 2-hydroxyethyl ở nguyên tử carbon ở vị trí 40 của sirolimus. Thuốc này có nhiều ứng dụng lâm sàng, điển hình nhất là trong ghép tạng, ung thư và tim mạch. Đã có chứng minh việc thay thế sớm các chất ức chế calcineurin như cyclosporin với một phác đồ sử dụng everolimus có thể cải thiện kết quả lâu dài ở người bệnh ghép thận.

Khoảng 75% everolimus trong tuần hoàn gắn với tế bào hồng cầu và gần 75% của phần còn lại gắn với protein huyết tương. Thời gian bán thải ở người bệnh ghép thận là 18-35 giờ, ở người bệnh ghép gan thời gian bán thải kéo dài hơn một chút vào khoảng 35- 40 giờ.

Nồng độ everolimus trong máu ở người bệnh ghép tạng đặc có mối liên quan với hiệu quả điều trị và tần xuất của tác dụng phụ. Do khoảng trị liệu của thuốc hẹp, tương tác dược động học của thuốc đáng kể và sự khác nhau nhiều giữa từng người bệnh, nên việc theo dõi nồng độ trong trị liệu của everolimus trong máu toàn phần được khuyến cáo ở tất cả các người bệnh ghép tạng đặc, giúp cải thiện hiệu quả điều trị.

Everolimus được định lượng bằng phương pháp miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. Trước khi thực hiện định lượng tự động trên máy, cần tiến hành bước tiền xử lý mẫu bằng tay,

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy móc: Cobas e601, e602, e170 và một số máy miễn dịch khác...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng Everolimus, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Everolimus.

3. Người bệnh:

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Xét nghiệm này sử dụng máu toàn phần. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống có chất chống đông K2 hoặc K3-EDTA.

Mẫu máu toàn phần có thể bảo quản đến 5 ngày ở 15- 25°C hoặc 7 ngày ở 2- 8°C. Nếu xét nghiệm muộn hơn 7 ngày sau, cần bảo quản mẫu đông lạnh ở - 20°C hoặc thấp hơn có thể được đến 6 tháng.

Chỉ đông lạnh một lần. Mẫu thử phải được trộn đều sau khi rã đông để đảm bảo sự nhất quán của kết quả.

Trộn mẫu đã rã đông kỹ bằng tay hoặc trên một máy trộn lăn hay máy lắc. Kiểm tra mẫu bằng mắt. Nếu quan sát thấy bị tách lớp hoặc phân tầng, tiếp tục trộn cho đến khi mẫu đồng nhất rõ ràng.

Đảm bảo nhiệt độ của các mẫu bệnh phẩm, mẫu chuẩn và mẫu chứng ở 20- 25°C trước khi tiến xử lý.

Mẫu có nồng độ everolimus trên khoảng đo (>30ng/mL) có thể được pha loãng thủ công theo tỷ lệ 1:2 với Diluent Universal hoặc Diluent Universal 2 trước khi tiến hành tiền xử lý mẫu thủ công. Nồng độ mẫu sau pha loãng phải > 12 ng/mL.

Sau khi pha loãng thủ công, nhân kết quả với hệ số pha loãng.

2. Tiến hành kỹ thuật:

Xét nghiệm Everolimus yêu cầu có bước tiền xử lý mẫu bằng tay cụ thể như sau:

Bước	Ghi chú kỹ thuật
1. Cân bằng tất cả thuốc thử, mẫu chuẩn, mẫu chứng và mẫu thử về 20- 25°C. Trộn tất cả mẫu chuẩn, mẫu chứng và mẫu thử một cách nhẹ nhàng nhưng kỹ càng ngay trước khi sử dụng.	Không trộn xoáy. Các chất lỏng có thể trộn thủ công hoặc trên máy trộn trục lăn hoặc máy lắc. Các mẫu chuẩn và mẫu chứng là mẫu ly huyết của máu toàn phần và có thể hơi khác biệt về vẻ ngoài so với mẫu máu toàn phần.
2. Dán nhãn một ống vi ly tâm cho mỗi mẫu chuẩn, mẫu chứng và/hoặc mẫu thử sẽ được tiền xử lý.	Không
3. Sử dụng một pipette chính xác, chuyển 300 µL mỗi mẫu chuẩn, mẫu chứng và/hoặc mẫu thử vào ống vi ly tâm đã dán nhãn thích hợp	Sử dụng đầu pipette mới cho mỗi mẫu chuẩn, mẫu chứng và/hoặc mẫu thử.

<p>4. Sử dụng một pipette chính xác, thêm 300 μL thuốc thử ISD Sample Pretreatment vào mỗi ống vi ly tâm. Lập tức đậy nắp mỗi ống và lập tức thực hiện bước 5</p>	<p>Lưu ý: ISD Sample Pretreatment rất dễ bay hơi. Đóng chặt nắp khi không sử dụng để tránh bay hơi.</p>
<p>5. Trộn xoáy từng ống vi ly tâm trong ít nhất 10 giây. Không thực hiện được bước này có thể dẫn đến dung dịch phía trên xuất hiện màu đỏ. Xem bước 6, ghi chú kỹ thuật</p>	<p>Lưu ý: Không trộn xoáy từng ống ngay sau khi thêm thuốc thử ISD Sample Pretreatment sẽ dẫn đến kết quả xét nghiệm sai. Hỗn hợp mẫu và thuốc thử phải hoàn toàn đồng nhất ngay sau khi trộn xoáy. Cần kiểm tra bằng mắt thường</p>
<p>6. Ly tâm các mẫu trong ít nhất 4 phút trong máy vi ly tâm (≥ 10000 g).</p>	<p>Các mẫu đã ly tâm phải có các hạt hình dạng rõ ràng và dung dịch phía trên trong suốt. Dung dịch phía trên không được mờ đục hoặc đỏ. Nếu dung dịch phía trên có màu đỏ, loại bỏ và thay thế bằng một mẫu mới tách chiết</p>
<p>7. Chuyển từng phần dung dịch phía trên trực tiếp vào lọ thích hợp và lập tức đóng nắp từng lọ. Các mẫu đã sẵn sàng để xét nghiệm.</p>	<p>Mẫu tiền xử lý có thể bảo quản trong ống đậy kín đến 4 giờ ở nhiệt độ phòng Do các hiệu ứng bay hơi, các mẫu tiền xử lý phải được phân tích trong vòng 30 phút sau khi mở lọ và nạp mẫu lên hệ thống. Tránh trì hoãn thời gian giữa việc nạp mẫu và đo mẫu để đảm bảo độ ổn định 30 phút của mẫu tiền xử lý. Điều này được đảm bảo bằng cách chạy các mẫu everolimus theo từng đợt: Dựa trên thời gian xử lý mẫu trung bình của hệ thống, có thể nạp không quá 35 mẫu everolimus đồng thời lên máy phân tích cho mỗi buồng đo đã chuẩn.</p>

- Để phân tích mẫu đã tiền xử lý thì trước đó máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Everolimus. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Everolimus. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Everolimus đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Không có khoảng nồng độ trị liệu nhất định nào đối với everolimus trong máu toàn phần. Tính phức tạp của tình trạng lâm sàng, sự khác biệt cá thể về nhạy cảm đối với tác dụng ức chế miễn dịch và tính độc với thận của everolimus, sử dụng đồng thời các chất ức chế miễn dịch khác, dạng cấy ghép, thời gian sau cấy ghép, và nhiều yếu tố khác góp phần tạo ra nồng độ tối ưu khác nhau của everolimus trong máu. Các giá trị everolimus riêng lẻ không thể được sử dụng làm chỉ thị duy nhất để tiến hành thay đổi chế độ điều trị. Mỗi người bệnh cần được đánh giá lâm sàng một cách kỹ lưỡng trước khi tiến hành điều chỉnh chế độ trị liệu, và người sử dụng xét nghiệm phải thiết lập khoảng giá trị của người bệnh dựa trên kinh nghiệm lâm sàng.

Các khoảng này sẽ thay đổi theo xét nghiệm chẩn đoán in vitro được sử dụng và phải được thiết lập cho từng xét nghiệm.

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Xét nghiệm không bị nhiễu khi hiện diện những chất có nồng độ như sau trong mẫu:

Hợp chất	Nồng độ thử nghiệm
Albumin	≤ 70 g/L
Bilirubin	≤ 1129 μmol/L
Biotin	≤ 287 nmol/L ≤ 70.0 ng/mL
Cholesterol	≤ 12.95 mmol/L
HARA (kháng thể người kháng thể)	≤ 10.0 μg/mL
Hematocrit	15-60 %
Triglycerid	≤ 22.6 mmol/L
Các yếu tố thấp khớp tối đa đến	1200 IU/mL
Uric acid	1785 μmol/L

ĐỊNH LƯỢNG GADA MÁU

(*Glutamic acid decarboxylase autoantibodies*)

I. NGUYÊN LÝ

GADA- Glutamic acid decarboxylase autoantibodies-kháng thể kháng GAD

GADA được định lượng bằng kỹ thuật ELISA.

Huyết thanh người bệnh được ủ với GAD gắn trên các vi giếng. Nếu trong mẫu có GADA, kháng thể đặc hiệu sẽ gắn GAD. Kháng thể này có thể gắn với GAD đánh dấu biotin được thêm vào ở bước ủ thứ hai. Để phát hiện phức hợp gắn biotin, enzyme POD gắn avidin được thêm vào, enzyme có khả năng tạo phản ứng có sản phẩm màu. Độ đậm màu tỷ lệ thuận với nồng độ GADA trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện

Hệ thống ELISA (máy ủ, máy rửa và máy đọc)

Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

Kit định lượng GADA

Vật liệu kiểm tra chất lượng

Nước cất

3. Người bệnh:

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

-Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện

-Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

-Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24h, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Ly tâm ống máu trong 15 phút với vận tốc 1500xg / phút.
- Tách huyết thanh/ huyết tương.
- Tiến hành các bước kỹ thuật theo quy trình của nhà sản xuất
- Tính kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích dựa vào các dung dịch chuẩn.
- Kiểm soát chất lượng:

Chạy các mức QC mỗi khi thực hiện xét nghiệm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu QC nằm trong khoảng cho phép.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

Giá trị tham chiếu: Người khoẻ mạnh GADA âm tính

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Bệnh đái tháo đường typ1 là bệnh tự miễn gây phá huỷ tế bào đảo tụy qua cơ chế hoạt hoá tế bào T và tạo các tự kháng thể. Bệnh gặp chủ yếu ở người trẻ và chiếm khoảng 10% người bệnh đái tháo đường. Việc xác định các kháng thể tự miễn chống lại kháng nguyên tế bào tiểu đảo được sử dụng để khẳng định chẩn đoán ĐTĐ typ 1 và xác định phản ứng tự miễn giai đoạn tiền lâm sàng ở người có nguy cơ. Phần lớn các trường hợp, một hoặc nhiều kháng thể tự miễn có thể phát hiện được khi biểu hiện lâm sàng.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG GH (Growth Hormone) MÁU

Theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang

I. NGUYÊN LÝ

Hormon tăng trưởng ở người (hGH- Human Growth Hormone) tồn tại ở hai dạng phân tử khác nhau có phân tử lượng 20 kDa và 22 kDa. Trên 90 % hGH tuần hoàn là đồng phân 22 kDa, bao gồm 191 acid amin. Đồng phân 20 kDa được tiết ra đồng thời với hGH 22 kDa, nó thiếu acid amin từ vị trí 32- 46 và chiếm khoảng 10 % lượng hGH toàn phần.

Sự tăng trưởng được kích thích và kiểm soát bởi hoạt động đồng hóa và gây phân bào của hormon tăng trưởng và các yếu tố tăng trưởng giống insulin (IGFs). hGH thường có tác động đồng hóa (tăng hấp thu glucose, tổng hợp protein, phân giải lipid) và chức năng chính của nó là kích thích sự kéo dài xương ở người chưa trưởng thành.

GH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang hoặc hóa phát quang.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

- Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy móc: COBAS e601, e602, e170, uniceL DxI,...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng GH, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng

GH.

3. Người bệnh:

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li heparin, K2- và K3- EDTA để định lượng GH. Với phương pháp hóa phát quang thì sử dụng huyết thanh và huyết tương heparin.

Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là Li heparin, K2- và K3- EDTA. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Bệnh phẩm ổn định trong 8 giờ ở 15- 25 °C, 1 ngày ở 2 - 8 °C, 28 ngày ở -20 °C. Chỉ đông lạnh một lần.

2. Tiễn hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm GH. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm GH. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm GH đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Để chẩn đoán, ngoài đo mức nền GH cần làm các nghiệm pháp kích thích hay ức chế.

+ Giá trị tham chiếu (phương pháp điện hóa phát quang máy COBAS e)

Giá trị này thay đổi theo giới và độ tuổi

+ Lứa tuổi 0 – 10 tuổi

- Nam: 0,094 – 6,29 ng/mL

- Nữ: 0,12 – 7,79 ng/mL

+ Lứa tuổi 11 – 17 tuổi

- Nam: 0,077 – 10,8 ng/mL

- Nữ: 0,123 – 8,05 ng/mL

+ Lứa tuổi 21 – 77 tuổi

- Nữ: 0,126 – 9,88 ng/mL

+ Lứa tuổi 20 – 79 tuổi

- Nam: <0,03 – 2,47 ng/mL

+ Giá trị tham chiếu (phương pháp hóa phát quang máy DxI)

Giá trị này áp dụng cho người trưởng thành và thay đổi theo giới

Nữ: 0,010 - 3,607 ng/mL

Nam: 0,003 - 0,971 ng/mL

Thừa hormon tăng trưởng: Bệnh không lồ và bệnh to cực.

Thiếu hormon tăng trưởng: Ở trẻ em làm chậm sự tăng trưởng xương, thiếu nghiêm trọng ở người lớn gây giảm lực cơ và khối lượng xương, nhạy cảm insulin,

béo bụng và tăng yếu tố nguy cơ cho tim mạch (bất thường lipid, xơ vữa động mạch)

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu bệnh phẩm là máu không được tách huyết thanh hay huyết tương ra khỏi cục đông ngay. Khắc phục: tách huyết thanh hay huyết tương ra khỏi cục đông ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Các mẫu có nồng độ các chất tối đa như sau không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm: Bilirubin < 428 $\mu\text{mol/L}$ (< 25 mg/dL), tán huyết Hb < 0.310 mmol/L (< 0.500 g/dL), triglycerid < 16.95 mmol/L (< 1500 mg/dL) và biotin < 123 nmol/L (< 30 ng/mL)

Xét nghiệm bị ảnh hưởng bởi pegvisomant (chất đối kháng thụ thể GH chọn lọc) nên không thích hợp xét nghiệm cho người bệnh đang điều trị với pegvisomant.

Hiệu ứng mẫu phẩm có nồng độ cao không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm với nồng độ hGH lên đến 2000 ng/mL.

Xét nghiệm không thích hợp dùng định lượng hGH cho thai phụ do phản ứng chéo với hGH của nhau thai. hGH nhau thai là một biến thể của hGH tuyến yên và nồng độ của nó trong máu tăng trong quá trình mang thai.

Trường hợp sử dụng phương pháp điện hóa phát quang, các yếu tố sau có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

- Ở người bệnh dùng liều cao biotin (> 5 mg/ngày), không nên lấy mẫu cho đến ít nhất 8 giờ sau khi dùng liều biotin cuối. Kết quả xét nghiệm không bị nhiễu bởi các yếu tố thấp với nồng độ lên đến 600 IU/mL.

- Trong một số hiếm trường hợp, nhiễu có thể xảy ra do nồng độ kháng thể kháng kháng thể đặc hiệu kháng chất phân tích, kháng streptavidin hay ruthenium quá cao của mẫu phẩm phân tích. Tuy nhiên, xét nghiệm đã được thiết kế nhằm giảm thiểu các hiệu ứng này.

ĐỊNH LƯỢNG HEMOPEXIN

I. NGUYÊN LÝ

Hemopexin đóng vai trò tương tự như haptoglobin trong việc gắn kết với thành phần heme của hemoglobin, thành phần này được phóng thích trong quá trình phân hủy hồng cầu. Trong những trường hợp tán huyết nghiêm trọng, sau khi phá hủy haptoglobin, quá trình này dẫn đến giảm mức hemopexin trong huyết thanh và huyết tương. Tương phản với haptoglobin, hemopexin không phải là protein giai đoạn cấp tính.

Nguyên lý xét nghiệm: miễn dịch tán xạ.

Hemopexin trong mẫu bệnh phẩm (kháng nguyên) sẽ tạo thành phức hợp miễn dịch với kháng thể đặc hiệu có trong thuốc thử. Các phức này phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của Hemopexin trong mẫu cần phân tích. Kết quả được đánh giá dựa trên đường chuẩn với các nồng độ đã biết.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

2.2. Hoá chất

Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc

Thuốc thử chính là huyết thanh động vật và được sản xuất bằng sự tạo miễn dịch trên thỏ với hemopexin người có độ tinh khiết cao. Nồng độ của kháng thể hoạt động là <3.5 g/L. Chất bảo quản: Sodium Azide <1 g/L. Đóng gói: 1 x 2 mL

Bảo quản và độ ổn định

- Ổn định ở 2-8°C: đến ngày hết hạn trên nhãn hộp thuốc
- Độ ổn định sau khi mở hộp thuốc: 4 tuần nếu được lưu trữ tại 2-8°C, được đậy nắp kín ngay sau mỗi lần sử dụng để tránh bị nhiễm vi sinh vật.
- Không được để đông.

- Độ ổn định trên máy: Ít nhất là 3 ngày với mỗi 8 tiếng/ ngày, hoặc khoảng thời gian tương ứng
- Ghi chú: Độ ổn định trên máy có thể thay đổi, tùy thuộc vào máy BN sử dụng và điều kiện phòng xét nghiệm. Để biết thêm thông tin chi tiết, tham khảo thêm hướng dẫn sử dụng của BN II and BN ProSpec®.

Hóa chất yêu cầu nhưng không được cung cấp trong hộp thuốc

- N Protein Standard SL (người)
- N/T Protein Controls SL/L, M và H (người),
- N Reaction Buffer,
- N Diluent

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và ngày giờ lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh hoặc huyết tương (Lithium heparin)
- Mẫu huyết thanh, huyết tương càng mới càng tốt. Nếu không phân tích ngay được có thể lưu tại nhiệt độ 2 đến 8⁰C không quá 7 ngày; Tại nhiệt độ -20⁰C đến 3 tháng
- Mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và cần tránh lưu trữ đông lần 2. Mẫu bị đục sau khi rã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15000 g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Thành lập đường cong hiệu chuẩn

Đường cong hiệu chuẩn được thành lập bởi hiệu chuẩn nhiều điểm. Một chuỗi các pha loãng của N Protein Standard SL được thực hiện tự động bởi máy sử dụng N Diluent. Các chất hiệu chuẩn pha loãng này được sử dụng trong vòng bốn giờ. Đường chuẩn này có hiệu lực chỉ khi chất kiểm chuẩn với phương pháp tương ứng, như N/T Protein Controls SL/L, M and H, được lặp lại trong khoảng tin cậy tương ứng. Cần thiết lập đường cong hiệu chuẩn mới khi một lô thuốc thử mới được sử dụng.

2.2. Mẫu xét nghiệm

Mẫu được pha loãng tự động 1:20 với N Diluent. Mẫu pha loãng cần được đo trong vòng bốn giờ. Nếu kết quả thu được nằm ngoài khoảng đo, cần chạy lại mẫu với độ pha loãng cao hơn hoặc thấp hơn.

2.3. Nội kiểm (IQC)

Chạy N/T Protein Controls SL/L, M và H sau khi thiết lập mỗi đường cong hiệu chuẩn, trước lần sử dụng đầu tiên của một lọ thuốc thử mới cũng như với mỗi lần chạy các mẫu. Mẫu kiểm chuẩn cũng được thực hiện và đánh giá giống như mẫu người bệnh.

Cần tuân theo các qui định hiện hành hoặc các yêu cầu về quản lý chất lượng cho tần suất chạy nội kiểm. Thực hiện lại nếu một kết quả của kiểm chuẩn nằm ngoài khoảng tin cậy và nếu kết quả chạy lại xác nhận sự sai lệch, cần thiết lập một đường chuẩn mới.

2.4. Cách vận hành:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu Hemopexin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Hemopexin. Kết quả IQC Hemopexin đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: Hemopexin: 0.5 - 1.15 g/L
- Hemopexin giảm trong trường hợp tán huyết.
- Tuy nhiên, mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu riêng vì giá trị có thể khác nhau theo từng quần thể dân cư.

V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi nồng độ triglycerides $\leq 2,71$ mmol/L (2,4 g/L), bilirubin ≤ 1026 μ mol/L và hemoglobin tự do ≤ 10 g/L.
- Không ghi nhận sự nhiễu từ các loại thuốc thông thường.
- Mẫu bệnh phẩm đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm. Không sử dụng các mẫu máu nhiễm mỡ và đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15000 x g).
- Những thay đổi từ người sử dụng sẽ không được khuyến cáo do có thể ảnh hưởng đến hiệu năng của máy và kết quả xét nghiệm. Người sử dụng có trách nhiệm thẩm định những sự thay đổi so với hướng dẫn trong Siemens Application Sheets hoặc IFU.

- Kết quả xét nghiệm luôn cần được giải thích kết hợp cùng với tiền sử bệnh lý, biểu hiện lâm sàng và các ghi nhận khác. Do ảnh hưởng bởi chất nền, các mẫu khảo sát liên phòng xét nghiệm và các mẫu kiểm chuẩn có thể cho kết quả khác so với phương pháp khác. Do đó, cần đánh giá kết quả trong mối tương quan với giá trị mục tiêu cụ thể của phương pháp.

ĐỊNH LƯỢNG HVA (Homovanillic acid) và VMA (Vanillyl mandelic acid) NIỆU

I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên phương pháp cổ điển để xác định thành phần của acid hữu cơ niệu gồm: chiết tách bằng ethyl acetate/ tạo dẫn xuất trimethylsilyl/sử dụng hệ thống máy GCMS. Sử dụng 1mL nước tiểu để chiết tách, thêm vào 1 chất nội chuẩn là 3-phenyl butyric acid, hỗn hợp trên được bão hòa bằng NaCl và được chiết tách bằng ethyl acetate trong môi trường acid (pH 1). Sau đó làm khô mẫu. Ủ mẫu với BSTFA trong 75 phút ở 80°C để gắn các nhóm trimethylsilyl (trong BSTFA) với 2 nhóm OH của phân tử HVA, VMA. Phân tách và xác định HVA, VMA được thực hiện bằng phương pháp SIM trên máy GCMS để định lượng nồng độ HVA, VMA.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:

+ Máy GCMS

Agilent 7890A GC System

Agilent 5975C inert XL EI/CI Mass Selective Detector with Triple Axis Detector

Agilent 7693 Autosampler

Carrier gas: helium (99.995%)

Column: HP- 5MS 30m x 0.25 mm id x 0.25 um film thickness. Catalog number 190915S-433.

+ Máy ly tâm.

+ Máy trộn multi- vortexer.

+ Hệ thống làm bay hơi dung môi.

+ Tủ sấy .

- Hóa chất:

▪ 3 Phenylbutyric acid (nội chuẩn 1), Hydroxylamonium 1%, BSTFA, Hexane, Ethyl acetate, Acid HCl 37%, NaCl.

▪ Nước cất.

▪ QC mức 1 (hãng Bio – rad).

▪ QC mức 2 (hãng Bio – rad).

▪ Chuẩn VMA/HVA/5-HIAA.

Hoàn nguyên chuẩn

- Thêm 5 mL HCl 0,2M.

- Để 15 phút ở nhiệt độ phòng.
- Trộn đều cẩn thận (dùng máy lắc ngang)
- Để thêm 15 phút.
- Trộn đều cẩn thận.
- Chia đều mỗi 1,25 mL dung dịch chuẩn vào ống nhựa Eppendof, dán nhãn HVA-VMA STD, bảo quản trong ngăn đá tủ lạnh.
- Chuẩn này dùng trong chuẩn bị Chuẩn mức 1 đến mức 3.

Hoàn nguyên QC

- Thêm 10 mL HCl 0,05M.
- Để đứng yên 15 phút ở nhiệt độ phòng.
- Trộn đều cẩn thận.
- Để đứng yên thêm 15 phút.
- Trộn đều cẩn thận.

Chia đều mỗi 1,1 mL dung dịch chuẩn vào cup nhựa, dán nhãn HVA-VMA QC1 và HVA-VMA QC2, bảo quản trong ngăn đá tủ lạnh.

3. Người bệnh: người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu tươi hoặc nước tiểu 24 giờ là mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm này.

Hướng dẫn xử lý và bảo quản bệnh phẩm nước tiểu:

*** Nước tiểu tươi:**

- Chia làm 2 ống:
 - + Ống số 1: chứa sẵn 0,5 mL HCl 0,1M, làm đầy chính xác thành 5mL.
 - + Ống số 2: không có chất bảo quản, thể tích 2 - 3mL.

Đậy nắp kín.

Nước tiểu tươi, tránh nhiễm khuẩn và nhiễm phân. Nên lấy mẫu nước tiểu sáng sớm sau ngủ dậy. Vận chuyển ngay đến phòng xét nghiệm trong vòng 4 giờ sau khi thu thập.

Tiêu chuẩn nhận nước tiểu:

Ống số 1: pH<3, kiểm tra lượng nước tiểu trong ống có chính xác 5mL hay không, nếu không ghi lại chính xác thể tích nước tiểu đo được vào phiếu xét nghiệm.

Bệnh phẩm trong ống số 1 được lắc đều, cất vào 2 ống Eppendorf tối thiểu 1,5mL, bảo quản trong ngăn đá tủ lạnh.

Bệnh phẩm trong ống số 2 được định lượng nồng độ Creatinin niệu rồi ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm.

*** Nước tiểu 24 giờ:**

Dùng HCl đặc để bảo quản, thể tích HCl cho mỗi người bệnh: 2mL.

Thu thập nước tiểu 24 giờ theo nguyên tắc thu thập nước tiểu 24 giờ.

Ghi tổng thể tích nước tiểu 24 giờ vào phiếu xét nghiệm.

Tiêu chuẩn nhận nước tiểu: pH<3.

Bệnh phẩm được lắc đều, cất vào 2 ống Eppendorf tối thiểu 1,5mL, bảo quản trong ngăn đá tủ lạnh.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1 Quá trình chiết tách mẫu bệnh phẩm nước tiểu

1. Kiểm tra áp lực bình khí heli. Yêu cầu thay bình khí nếu áp lực < 100 psi.
2. Rã đông bệnh phẩm, nội chuẩn và 2 mức QC.
3. Kiểm tra nhiệt độ lò ủ đạt 80°C.
4. Chuẩn bị bộ phận tự động hút bệnh phẩm Agilent 7963 (autosampler):
 - Thay thể dung môi (hexane) trong 2 lọ đựng dung môi để rửa syringe.Chú ý: lượng hexane trong lọ phải đầy ngang vai của lọ.\
- Rửa sạch 5 lọ đựng chất thải bằng ethyl acetate.
5. Chạy chương trình “Baking” trong máy GCMS.
Chương trình chạy sẽ kết thúc sau khoảng 1 giờ.
6. Dán nhãn ống thủy tinh (kích thước 20 x 125 mm) chuẩn bị cho chiết tách.
7. Trong các ống thủy tinh này, dùng pipet hút nội chuẩn, QC, bệnh phẩm theo

bảng sau:

Ống STT	Bệnh phẩm	Chuẩn/QC/ Bệnh phẩm	HCl 0,2M	Nội chuẩn
1	Chuẩn mức 1	200 uL	800 uL	50 uL
2	Chuẩn mức 2	400 uL	600 uL	50 uL
3	Chuẩn mức 3	1000 uL	0 uL	50 uL
4	QC 1	1000 uL	0 uL	50 uL
5	QC 2	1000 uL	0 uL	50 uL

6	Nước tiểu của người bệnh	1000 uL	0 uL	50 uL
---	--------------------------	---------	------	-------

8. Trộn đều mỗi ống và để 30 phút ở nhiệt độ phòng.
9. Acid hóa đến pH1 bằng 2 giọt HCl 37%. Kiểm tra bằng giấy quỳ.
10. Thêm 1 thìa nhỏ NaCl để tạo thành một dung dịch bão hòa.
11. Thêm 3 mL ethyl acetate. Đậy nắp và trộn đều với máy trộn trong 5 phút.
12. Ly tâm 2500 vòng trong 5 phút.
13. Chuyển lớp chất lỏng phía trên vào lọ thủy tinh nắp xoáy 4mL:
Sử dụng pipet pasteur và hút thật chậm. Bắt đầu hút từ lớp chất lỏng trên cùng tới giao diện của 2 lớp chất lỏng mà không chạm vào thành của ống thủy tinh.
14. Sấy khô bằng máy làm bay hơi dung môi với khí nitơ ở nhiệt độ phòng.
15. Kiểm tra lọ thật khô trước khi tiến hành bước tiếp theo.
16. Thêm 200 uL BSTFA, đậy nắp, trộn đều và đặt vào lò ủ 80°C trong 1h 15 phút.
17. Chuẩn bị lọ đựng mẫu (autosampler vial), dán nhãn, trên nhãn ghi ngày chiết tách bệnh phẩm. Đặt mỗi glass insert vào trong lọ đựng mẫu.
18. Chuyển bệnh phẩm đã được chiết tách vào trong glass insert tương ứng bằng pipet 200 uL.
19. Đậy nắp và trộn đều.
20. Để lọ đựng mẫu vào khay đựng bệnh phẩm trên bộ phận bơm mẫu tự động theo đúng vị trí.

2.2 Vận hành GCMS

Vận hành máy GCMS và tiến hành phân tích mẫu theo hướng dẫn sử dụng máy GCMS tại phòng Xét nghiệm.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Xác định kết quả nằm trong giới hạn bình thường:

Lứa tuổi (năm)	HVA ($\mu\text{mol}/24\text{h}$)	HVA (Creatinin) ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$)
0 - 1	<8	4.7 - 21
1 - 5	<17	2.8 - 15.8
5 - 10	3 - 37	0.7 - 9.5
10 - 20	2 - 40	< 7
>20	< 45	< 7

Tuổi (năm)	VMA ($\mu\text{mol}/\text{mmol Creatinin}$)
0 – 1	< 11
2 – 4	< 6
5 – 9	< 5
10 – 19	< 5
>19	< 3

- Trả kết quả theo yêu cầu cùng với khoảng bình thường.
- Nếu kết quả rơi vào khoảng nguy hiểm, báo ngay cho bác sĩ lâm sàng.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Không lấy đủ thể tích mẫu nước tiểu 24h. Yêu cầu lấy lại
- Mẫu nước tiểu tươi để lâu quá 2 tiếng mà không được bảo quản lạnh, yêu cầu lấy lại mẫu khác.

ĐỊNH LƯỢNG IA2A (Islet Antigen 2-autoantibodies) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IA2A được định lượng bằng kỹ thuật ELISA.

Huyết thanh người bệnh được ủ với IA2A gắn trên các vi giếng. Nếu trong mẫu có kháng thể kháng IA2A, kháng thể đặc hiệu sẽ gắn IA2A. Kháng thể này có thể gắn với IA2A đánh dấu biotin được thêm vào ở bước ủ thứ hai. Để phát hiện phức hợp gắn biotin, enzyme POD gắn avidin được thêm vào, enzyme có khả năng tạo phản ứng có sản phẩm màu. Độ đậm độ màu tỷ lệ thuận với nồng độ kháng thể kháng IA2A trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện:

Hệ thống ELISA (máy ủ, máy rửa và máy đọc).

Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

Kit định lượng IA2A

Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 1,2)

Pipet, ống nghiệm

Nước cất

3. Người bệnh:

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh, huyết tương chống đông EDTA.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24h, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Ly tâm ống máu trong 15 phút với vận tốc 1500xg / phút.
- Tách huyết thanh/ huyết tương.
- Tiến hành các bước kỹ thuật theo quy trình của nhà sản xuất
- Tính kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích dựa vào các dung dịch chuẩn.
- Kiểm soát chất lượng:

Chạy các mức QC mỗi khi thực hiện xét nghiệm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu QC nằm trong khoảng cho phép.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

Người khoẻ mạnh IA2A < 10 IU/mL

Ý nghĩa lâm sàng:

Bệnh đái tháo đường typ1 là bệnh tự miễn gây phá huỷ tế bào đảo tụy qua cơ chế hoạt hoá tế bào T và tạo các tự kháng thể. Bệnh gặp chủ yếu ở người trẻ và chiếm khoảng 10% người bệnh đái tháo đường. Việc xác định các kháng thể tự miễn chống lại kháng nguyên tế bào tiểu đảo được sử dụng để khẳng định chẩn đoán ĐTĐ typ 1 và xác định phản ứng tự miễn giai đoạn tiền lâm sàng ở người có nguy cơ. Phần lớn các trường hợp, một hoặc nhiều kháng thể tự miễn có thể phát hiện được khi biểu hiện lâm sàng.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG ICA (Islet cells autoantibodies) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

ICA- Islet cells autoantibodies- Kháng thể kháng tế bào tiểu đảo, ICA được định lượng bằng kỹ thuật ELISA.

Huyết thanh người bệnh được ủ với kháng nguyên tế bào tiểu đảo gắn trên các vi giếng. Nếu trong mẫu có ICA, kháng thể đặc hiệu sẽ gắn kháng nguyên tế bào tiểu đảo. Kháng thể này có thể gắn với kháng nguyên đánh dấu biotin được thêm vào ở bước ủ thứ hai. Để phát hiện phức hợp gắn biotin, enzyme POD gắn avidin được thêm vào, enzyme có khả năng tạo phản ứng có sản phẩm màu. Độ đậm độ màu tỷ lệ thuận với nồng độ ICA trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện:

Hệ thống ELISA (máy ủ, máy rửa và máy đọc).

Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

Kit định lượng ICA

Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 1,2)

Nước cất

3. Người bệnh:

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24h, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Ly tâm ống máu trong 15 phút với vận tốc 1500xg / phút.
- Tách huyết thanh/ huyết tương.
- Tiến hành các bước kỹ thuật theo quy trình của nhà sản xuất
- Tính kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích dựa vào các dung dịch chuẩn.
- Kiểm soát chất lượng:
Chạy các mức QC mỗi khi thực hiện xét nghiệm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu QC nằm trong khoảng cho phép.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

Người khoẻ mạnh ICA âm tính

Ý nghĩa lâm sàng:

Bệnh đái tháo đường typ1 là bệnh tự miễn gây phá huỷ tế bào đảo tụy qua cơ chế hoạt hoá tế bào T và tạo các tự kháng thể. Bệnh gặp chủ yếu ở người trẻ và chiếm khoảng 10% người bệnh đái tháo đường. Việc xác định các kháng thể tự miễn chống lại kháng nguyên tế bào tiểu đảo được sử dụng để khẳng định chẩn đoán ĐTĐ typ 1 và xác định phản ứng tự miễn giai đoạn tiền lâm sàng ở người có nguy cơ. Phần lớn các trường hợp, một hoặc nhiều kháng thể tự miễn có thể phát hiện được khi biểu hiện lâm sàng.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU Dermatophagoides pteronyssinus máu

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu *Dermatophagoides pteronyssinus* được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu *Dermatophagoides pteronyssinus* chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides pteronyssinus* đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411,
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides pteronyssinus* có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

- Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu Dermatophagoides pteronyssinus quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu Dermatophagoides pteronyssinus, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ENTEROTOXIN A (S AUREUS) TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE : Immunoglobulin E
- S. aureus : Staphylococcus aureus
- PXN: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Enterotoxin A là độc tố được tiết ra bởi Staphylococcus aureus (S. aureus), là tác nhân chính gây ra các bệnh như ngộ độc thực phẩm hoặc sốc nhiễm độc. Định lượng IgE đặc hiệu enterotoxin A là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên enterotoxin A.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu enterotoxin A (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu enterotoxin A (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu enterotoxin A có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút; Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ kỹ thuật phù hợp

2. Phương tiện , hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nôm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nôm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị

sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chống IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chửng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

4. **Người bệnh:** người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

5. **Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lập lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ALBUMIN TRỨNG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu albumin trứng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu albumin trứng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu albumin trứng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. *Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. *Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu albumin trứng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

- Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. **Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. **Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu albumin trứng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu albumin trứng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ALPHA – LACTALBUMIN TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu alpha-lactalbumin (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu alpha-lactalbumin (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu alpha-lactalbumin có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thái bộ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1-33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34-66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67-99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000. Để có danh sách đầy đủ và số catalog, vui lòng tham khảo Menu 3gAllergy.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mồi người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán)

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU AMOXICILIN

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu AMOXICILLIN được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu AMOXICILLIN chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu AMOXICILLIN đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu AMOXICILLIN có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu AMOXICILLIN quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu AMOXICILLIN, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

VI. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU AMPICILIN

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu AMPICILLIN được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu AMPICILLIN chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu AMPICILLIN đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu **AMPICILLIN** có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu AMPICILLIN quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu AMPICILLIN, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

VII. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ANISAKIS TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Anisakis là loại giun tròn thường ký sinh ở những động vật biển như cá thu, cá hồi, cá trích, mực ống. Đối với người, bệnh thường gặp ở những đối tượng người bệnh có tập quán, sở thích ăn gỏi các loại cá biển, mực, bạch tuộc còn sống, chưa được nấu chín kỹ. Ấu trùng giun có thể xâm nhập qua đường tiêu hóa khi ăn phải thức ăn hải sản nói trên không bảo đảm an toàn vệ sinh thực phẩm. Định lượng IgE đặc hiệu ấu trùng Anisakis là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng nhiễm, dị ứng của cơ thể với ấu trùng Anisakis.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu ấu trùng Anisakis (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu ấu trùng Anisakis (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu ấu trùng Anisakis có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

1 người có trình độ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút

- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nôm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nôm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu ấu trùng Anisakis: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. **Người bệnh:** người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. **Phiếu xét nghiệm:** phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, tiền sử bệnh, thời gian lấy mẫu, khoa phòng, chẩn đoán và ghi rõ chỉ định xét nghiệm, tình trạng mẫu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lập lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

VI. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ASPERGILLUS FUMIGATUS TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Aspergillus fumigatus là vi nấm gặp chủ yếu ở người bệnh sử dụng kháng sinh phổ rộng kéo dài và người bệnh suy giảm miễn dịch. Định lượng IgE đặc hiệu *Aspergillus fumigatus* là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng nhiễm, dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu *Aspergillus fumigatus* (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu *Aspergillus fumigatus* (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu *Aspergillus fumigatus* có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

1 người có trình độ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút

- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nôm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nôm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ôn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ôn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin từ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Aspergillus fumigatus*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh: người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm: phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, tiền sử bệnh, thời gian lấy mẫu, khoa phòng, chẩn đoán và ghi rõ chỉ định xét nghiệm, tình trạng mẫu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
 - Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
 - Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
 - Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lập lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BẠCH TUỘC TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu bạch tuộc (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu bạch tuộc (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu bạch tuộc có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.

- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1-33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34-66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67-99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu bạch tuộc máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu bạch tuộc. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu bạch tuộc đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu bạch tuộc không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu bạch tuộc vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BETA-LACTOGLOBIN TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu beta - lactoglobulin (tiên hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu beta - lactoglobulin (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu beta - lactoglobulin có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ôn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng

IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nôm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nôm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thái bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.

- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BIỂU MÔ CỦA CHÓ (DOG EPITHELIUM)

I. NGUYÊN LÝ

IgE đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium) được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium) chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium) đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium) kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chó. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chó. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chó đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu biểu mô của chó không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu biểu mô của chó vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BIỂU MÔ CỦA CHUỘT (MOUSE EPITHELIUM)

I. NGUYÊN LÝ

IgE đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium) được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium) chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium) đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium) kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chuột. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chuột. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chuột đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
------------	-------------	-----------------------------------

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu biểu mô của chuột không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu biểu mô của chuột vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BIỂU MÔ GÀU CỦA MÈO (CAT DANDER EPITHELIUM)

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu biểu mô gàu của mèo được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô gàu của mèo chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu biểu mô gàu của mèo đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu biểu mô gàu của mèo có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu biểu mô gàu của mèo quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu biểu mô gàu của mèo, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU *BLOMIA TROPICALIS* TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Blomia tropicalis thuộc lớp nhện thường có trong mẫu bụi nhà (còn có tên mặt nhà). Khi tiếp xúc với cơ thể người, *Blomia tropicalis* tạo nên yếu tố kích thích, khơi mào cho các bệnh viêm dị ứng nếu kết hợp với các yếu tố thuận lợi khác như gene di truyền. Định lượng IgE đặc hiệu *Blomia tropicalis* là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu *Blomia tropicalis* (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu *Blomia tropicalis* (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người

liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu *Blomia tropicalis* có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện , hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Blomia tropicallis*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh: người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thẻ tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PNX chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.

- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần
- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CÀ CHUA TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cà chua (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu cà chua (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu cà chua có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cà chua máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu cà chua. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu cà chua đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu cà chua không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu cà chua vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CÁ HỒI TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE đặc hiệu cá hồi được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu cá hồi chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu xoài đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:
 - Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
 - Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
 - Tủ lạnh
 - Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất:
 - + Gói hạt có gắn anti-ligand;
 - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 ml enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
 - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
 - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
 - + Dị nguyên đặc hiệu cá hồi kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
 - + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho dị nguyên đặc hiệu cá hồi vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu xoài, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CÁ NGỪ TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE đặc hiệu cá ngừ được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu xoài chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu cá ngừ đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:
 - Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
 - Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
 - Tủ lạnh
 - Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất:
 - + Gói hạt có gắn anti-ligand;
 - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 ml enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
 - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
 - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
 - + Dị nguyên đặc hiệu cá ngừ kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
 - + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho dị nguyên đặc hiệu cá ngừ vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu cá ngừ, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CÀ RỐT TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cà rốt (tiền hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu cà rốt (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu cà rốt có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cà rốt máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu cà rốt. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu cà rốt đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu cả rất không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu cả rất vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CAM TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cam (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu cam (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu cam có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ôn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thái bộ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cam máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu cam. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu cam đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu cam không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu cam vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CẦN TÂY TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cần tây (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu cam (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu cần tây có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. *Phương tiện:*

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. *Hóa chất:* IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ôn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thái bộ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cần tây máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu cần tây. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu cần tây đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu cần tây không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu cần tây vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CANDIDA ALBICANS TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Candida albican là vi nấm thuộc nhóm nấm men, có hình bầu dục hoặc hình tròn, gây bệnh phổ biến ở người. Định lượng IgE đặc hiệu Candida albican là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng nhiễm nấm hoặc các bệnh do Candida albican.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Candida albicans (tiên hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Candida albicans (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Candida albicans có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

1 người có trình độ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện , hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C

hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C . Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16×100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Candida albican*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở $2-8^{\circ}\text{C}$ cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lập lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CASEIN TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu casein (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu casein (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu casein có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu casein máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu casein. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu casein đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu casein không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu casein vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CHUỐI TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu chuỗi được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu chuỗi chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu chuỗi đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu chuỗi có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

- Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu chuỗi quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu chuỗi, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CLADOSPORIUM HERBARIUM TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Cladosporium herbarium là nấm mốc (mold) ngoài môi trường thường gặp nhất trên khắp thế giới. Cladosporium herbarium có thể gây dị ứng hoặc nặng hơn có thể gây hen suyễn thậm chí viêm xoang. Định lượng IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Cladosporium herbarium (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Cladosporium herbarium: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lập lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.

- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần
- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CỦA TRONG MÁU

Bảng viết tắt

IgE : Immunoglobulin E

I. NGUYÊN LÝ

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu kháng nguyên của là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là của.

IgE đặc hiệu của được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu của chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu của đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:

- + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác.
- + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- + Tủ lạnh
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho dị nguyên đặc hiệu cua vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu cua, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ĐÀO TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu đào được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu đào chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu đào đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. *Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. *Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu đào có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

- **Chú ý:** sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. **Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. **Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu đào quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu đào, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
- + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU DÂU TÂY TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu dâu tây (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu dâu tây (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu dâu tây có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu dấu tây máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu dấu tây. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu dấu tây đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mấu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu dâu tây không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu dâu tây vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ĐẬU TƯƠNG TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE : Immunoglobulin E

I. NGUYÊN LÝ

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu đậu tương là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là đậu tương.

IgE đặc hiệu đậu tương được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu đậu tương chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu đậu tương đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:
 - + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác.
 - + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
 - + Tủ lạnh
 - + Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất:
 - + Gói hạt có gắn anti-ligand;
 - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
 - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
 - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
 - + Dị nguyên đặc hiệu đậu tương kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;

+ Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho dị nguyên đặc hiệu đậu tương vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu đậu tương, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;

- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU *Dermatophagoides farinae* TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
 - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides farinae*, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU DỨA TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu dứa được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu dứa chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu dứa đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu dứa có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
 - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu dựa quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu dựa, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. -NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU DỪA TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu dừa (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu dừa (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu dừa có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu dựa máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu dựa. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu dựa đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu dừa không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu dừa vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU GẠO TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu gạo được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu gạo chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu gạo đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu gạo có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu gạo quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu gạo, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU GÀU CỦA CHÓ (DOG DANDER) TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu gàu của chó được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu hiệu gàu của chó chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu gàu của chó đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu đặc hiệu gàu của chó có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu gàu của chó quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu gàu của chó, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU GIÁN TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu gián được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu gián chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu gián đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. *Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. *Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu gián có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

- Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu gián quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu gián, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. -NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU GLUTEN TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu gluten (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu gluten (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu gluten có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu gluten máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu gluten. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu gluten đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu gluten không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu gluten vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU HẠT VÙNG TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE : Immunoglobulin E

I. NGUYÊN LÝ

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu hạt vùng là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là hạt vùng.

IgE đặc hiệu hạt vùng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu hạt vùng chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu hạt vùng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:

- + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác.
- + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- + Tủ lạnh
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu hạt vùng kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh:

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho dị nguyên đặc hiệu hạt vừng vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu hạt vừng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU KHOAI LANG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu khoai lang (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu khoai lang (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu khoai lang có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ôn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ôn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nôm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò

- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chống IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứa
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.

- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu khoai lang máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu khoai lang. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu khoai lang đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu khoai lang không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu khoai lang vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng

bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU KHOAI TÂY TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu khoai tây (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu khoai tây (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu khoai tây có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải người

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu khoai tây máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu khoai tây. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu khoai tây đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu khoai tây không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu khoai tây vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LẠC TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE : Immunoglobulin E

I. NGUYÊN LÝ

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu lạc là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là lạc.

IgE đặc hiệu lạc được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lạc chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu lạc đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:

- + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- + Tủ lạnh
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu lạc kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;

+ Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. **Người bệnh:** người bệnh người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho dị nguyên đặc hiệu lạc vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lạc, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LATEX TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Latex có bản chất là nhựa cao su gặp rất phổ biến trong môi trường sống. Định lượng IgE đặc hiệu latex là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Latex (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Latex (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Latex có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện , hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ôn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ôn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở

nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chống IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chống
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu latex: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lập lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LÔNG GÀ (CHICKEN FEATHERS)

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu lông gà được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lông gà chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu lông gà đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. *Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. *Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu lông gà có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

IV. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu lông gà quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lông gà, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LÒNG TRẮNG TRỨNG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu lòng trắng trứng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lòng trắng trứng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu lòng trắng trứng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu lòng trắng trứng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu lòng trắng trứng quết mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lòng trắng trứng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LÔNG VỊT (DUCK FEATHERS) TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu lông vịt được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lông vịt chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu lông vịt đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...

- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút

- Tủ lạnh

- **Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...**

2.2. Hóa chất

+ Gói hạt có gắn anti-ligand;

+ Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;

+ Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);

+ Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;

+ Hộp dị nguyên đặc hiệu lông vịt có mã vạch;

+ Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu lông vịt quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lông vịt, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LÚA MÌ TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu lúa mì được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lúa mì chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu lúa mì đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu lúa mì có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu lúa mì quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lúa mì, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU MẬT ONG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu mật ong được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu mật ong chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu mật ong đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu mật ong có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
 - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. **Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. **Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:

- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu mật ong quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu mật ong, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU MÙ TẠT TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu mù tạt được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu mù tạt chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu mù tạt đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1 Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2 Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu mù tạt có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
 - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

II. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu mù tạt quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu mù tạt, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU MÙI TÂY TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE đặc hiệu mùi tây được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang.

Nguyên lý kỹ thuật:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu mùi tây đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

Máy xét nghiệm IMMULITE 2000

2.2. Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu mùi tây kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh:

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho dị nguyên đặc hiệu mùi tây vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu mùi tây, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU NĂM TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu năm được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu năm chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu năm đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu năm có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

- Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu nắm quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu nắm, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU NỌC ONG MẬT TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu nọc ong mật được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu nọc ong mật chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu nọc ong mật đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu nọc ong mật có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu nọc ong mật quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu nọc ong mật, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

- IgE tăng trong các trường hợp dị ứng, hen phế quản, viêm mũi dị ứng, viêm xoang, chàm dị ứng, bệnh đa u tủy xương loại IgE, bệnh bong nước da dạng pemphigus, viêm quanh động mạch thành nút, nhiễm ký sinh trùng, nấm phổi...
- IgE giảm trong các trường hợp thiếu hụt IgE bẩm sinh, ung thư giai đoạn cuối không điều trị, ung thư biểu mô giai đoạn nặng, chứng mất điều hòa giãn mao mạch, AIDS,...

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU NỌC ONG VÀNG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu nọc ong vàng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu nọc ong vàng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu nọc ong vàng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411.
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay.

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu nọc ong vàng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu nọc ong vàng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu nọc ong vàng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ONG BẮP CÂY TRẮNG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu ong bắp cây trắng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu ong bắp cây trắng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu ong bắp cây trắng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411.
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay.

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu ong bắp cây trắng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu ong bắp cày trắng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu ong bắp cày trắng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ONG BẮP CÂY VÀNG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu ong bắp cây vàng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu ong bắp cây vàng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu ong bắp cây vàng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, v.v
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay.

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu ong bắp cây vàng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu ong bắp cày vàng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu ong bắp cày vàng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ONG GIẤY TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu ong giấy được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu ong giấy chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu ong giấy đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

5.1. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu ong giấy có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu ong giấy quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu ong giấy, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU PENICILLIUM NOTATUM TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Penicillium là dạng nấm mốc (mold) mọc trên bánh mì, trái cây và đậu phộng cũ. Penicillium notatum (tên khác Penicillium chrysogenum) là nguồn sản xuất kháng sinh beta-lactam mà chủ yếu là penicillin. Định lượng IgE đặc hiệu Penicillium notatum là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Penicillium notatum (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Penicillium notatum (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Penicillium notatum có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện , hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Penicillium notatum*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PNX chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.

- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần
- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU PENICILLOYL G TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu PENICILLOYL G được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu PENICILLOYL G chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL G đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL G có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL G quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL G, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU PENICILLOYL V TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu PENICILLOYL V được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu PENICILLOYL V chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL V đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hóa phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL V có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL V quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL V, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU QUẢ KIWI TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu quả kiwi (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu quả kiwi (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu quả kiwi có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu quả kiwi máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu quả kiwi máu. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu quả kiwi máu đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu quả kiwi không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu quả kiwi vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU SỮA DÊ TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu sữa dê được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu sữa dê chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu sữa dê đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu sữa dê có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu sữa dê quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu sữa dê, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU SỮA ĐUN SÔI TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu sữa đun sôi được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu sữa đun sôi chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu sữa đun sôi đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu sữa đun sôi có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu sữa đun sôi quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu sữa đun sôi, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU SỮA TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu sữa được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu sữa chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu sữa đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu sữa có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu sữa quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu sữa, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU TÁO TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu tảo (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu tảo (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu tảo có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu tảo trong máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu tảo. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu tảo đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu tảo không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu tảo vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU THỊT BÒ TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu thịt bò (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu thịt bò (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu thịt bò có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu thịt bò máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu thịt bò. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu thịt bò đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu thịt bò không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu thịt bò vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU THỊT LỢN TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu thịt lợn (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu thịt lợn (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu thịt lợn có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ôn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu thịt lợn máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu thịt lợn. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu thịt lợn đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu thịt lợn không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu thịt lợn vượt quá ngưỡng đo của máy thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU TÔM TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE : Immunoglobulin E

I. NGUYÊN LÝ

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu tôm là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là tôm.

IgE đặc hiệu tôm được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu tôm chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu tôm đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:

- + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- + Tủ lạnh
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu tôm kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho dị nguyên đặc hiệu tôm vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu tôm, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU TOXOCARA CANIS TRONG MÁU

Bảng viết tắt

- IgE: Immunoglobulin E
- PNX: Phòng xét nghiệm

I. NGUYÊN LÝ

Toxocara canis thuộc nhóm giun sán, bệnh nhiễm trùng ở người gây ra do ấu trùng, dạng trưởng thành của loài giun này ký sinh trong ruột của ký chủ họ chó mèo. Định lượng IgE đặc hiệu Toxocara canis là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng nhiễm hoặc các bệnh do tác nhân này gây nên.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Toxocara canis (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Toxocara canis (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Toxocara canis có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện , hóa chất

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

Thành phần bộ kit gồm có:

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nôm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nôm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị

sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chống IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chửng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Toxocara canis*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lập lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.

- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần
- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

Nhóm	KU/L	Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng
0	< 0,10	Không có hoặc không phát hiện được
	0,1 - 0,34	Rất thấp
I	0,35 - 0,69	Thấp
II	0,70 - 3,49	Vừa
III	3,50 - 17,49	Cao
IV	17,5 - 52,49	Rất cao
V	52,5 - 99,9	
VI	>100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU TRÚNG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu trướng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu trướng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu trướng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu trướng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu trứng quết mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu trứng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
IV	17.5–52.49	Rất cao
V	52.5–99.99	
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin \leq 200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin \leq 500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid \leq 3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU VANILLA TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu Vanilla được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu Vanilla chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu Vanilla đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu Vanilla có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu Vanilla quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu Vanilla, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU XOÀI TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu xoài được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu xoài chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu xoài đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu xoài có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
 - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
 - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu xoài quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
 - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
 - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu xoài, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
 - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

Mức	kU/L	Mức phản ứng với dị nguyên
0	< 0.10	Không có hoặc không thể phát hiện
	0.10–0.34	Rất thấp
I	0.35–0.69	Thấp
II	0.70–3.49	Vừa phải
III	3.50–17.49	Cao
IV	17.5–52.49	

<i>Mức</i>	<i>kU/L</i>	<i>Mức phản ứng với dị nguyên</i>
V	52.5–99.99	Rất cao
VI	≥ 100	

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Nồng độ bilirubin ≤ 200 mg/L;
 - + Nồng độ hemoglobin ≤ 500 mg/dL;
 - + Nồng độ triglycerid ≤ 3000 mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG IGF (INSULIN LIKE GROWTH FACTOR-1) TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IGF (Insulin-like growth factors) (các yếu tố sinh trưởng tương tự insulin) là các polypeptide tương tự insulin. IGFs (IGF system) là một phần trong hệ thống phức tạp qua đó tế bào trao đổi thông tin với môi trường xung quanh. Hệ thống này bao gồm hai receptor bề mặt của IGF được gọi là IGF1R và IGF2R, hai cơ chất (ligand) IGF-I và IGF-II, một nhóm gồm các protein kết hợp với IGF (IGF binding protein: IGFBP 1-6) và các enzyme có tác dụng phân giải IGFBP (các protease). IGF-1 là tên viết tắt của yếu tố tăng trưởng giống Insulin-1 (Insulin-like Growth Factor -1), còn được gọi là Somatomedin-C, là một peptid có trọng lượng phân tử khoảng 7649 Dalton, gồm 70 acid amin trong một chuỗi duy nhất với ba cầu disulfide nội phân tử, có cấu trúc giống insulin, được mã hóa bởi gene IGF-1. IGF-1 được tổng hợp chủ yếu bởi gan dưới sự điều hòa của hormone tăng trưởng (GH) của tuyến yên. IGF-1 cũng còn được tổng hợp bởi một vài mô khác dưới sự điều hòa bởi GH và một số chất điều biến (modulators) khác. Vai trò chủ yếu của IGF-1 là thúc đẩy phân bào (mitosis) và biệt hóa (differentiation) của tế bào ở các mô khác nhau.

Nguyên lý định lượng IGF-1: miễn dịch hóa phát quang trực tiếp

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

2. Phương tiện hóa chất

- Máy miễn dịch tự động: Immulite 1000, Liaison,...
- Máy ly tâm,
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipep các loại, đầu côn xanh, côn vàng.
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, ống sample cup.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và ngày giờ lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin, EDTA,..
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định 2-8⁰C trong 2 ngày hoặc 3 tháng ở -20⁰C

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IGF1. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IGF1. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IGF1 đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Định lượng IGF-1 giúp chẩn đoán nguyên nhân của những bất thường về tăng trưởng, để đánh giá chức năng tuyến yên và theo dõi điều trị chứng thiếu hụt hoặc tổng hợp quá mức GH. IGF-1 cũng có thể được sử dụng cùng với một số xét nghiệm hormon tuyến yên khác, chẳng hạn như hormon kích vỏ thượng thận (ACTH) để giúp chẩn đoán suy tuyến yên. IGF-1 còn có thể được sử dụng để theo dõi hiệu quả điều trị thiếu hụt GH hoặc hội chứng không nhạy cảm với GH (Growth hormone insensitivity syndrome). Việc định lượng IGF-1 thường cùng với xét nghiệm GH và ACTH. Nồng độ IGF-1 trong huyết tương người khỏe mạnh phụ thuộc vào tuổi và giới

4.1. Khoảng tham chiếu

Ở người khỏe mạnh nồng độ IGF1 trong huyết tương.

Tuổi	Nam (ng/mL)	Nữ (ng/mL)
2 tháng - 5 tuổi	17-248	17-248
6 - 8 tuổi	88-474	88-474
9 – 11 tuổi	110-565	117-771

12 - 15 tuổi	202-957	261-1096
16 - 24 tuổi	182-780	182-780
25 - 39 tuổi	114-492	114-492
40 - 54 tuổi	90-360	90-360
>55 tuổi	71-290	71-290

4.2. IGF-1 tăng trong các trường hợp:

- Khi nồng độ IGF-1 tăng là biểu hiện sự sản xuất GH tăng. Nồng độ IGF-1 biểu thị trị số trung bình của GH trong ngày, đó không phải là số lượng thực của GH trong máu tại thời điểm mà các mẫu xét nghiệm IGF-1 được thực hiện. GH sẽ kích thích khả năng sản xuất IGF-1 của gan, mức độ IGF-1 sẽ ổn định ở một nồng độ tăng tối đa.
- GH và IGF-1 còn tăng cao ở tuổi dậy thì và phụ nữ khi mang thai. Nhưng nếu tăng ở tuổi khác thì gợi ý một u tuyến yên
- Nếu IGF-1 vẫn cao sau phẫu thuật cắt bỏ khối u tuyến yên thì có thể khối u chưa được loại bỏ hoàn toàn.
- Giúp ích cho theo dõi kết quả điều trị: nồng độ IGF-1 giảm về mức độ bình thường trong giai đoạn xạ trị và/ hoặc hóa trị liệu cho thấy việc điều trị có hiệu quả. Mức độ IGF-1 tăng trở lại chỉ ra sự tái phát của khối u tuyến yên.

4.3. IGF-1 giảm trong các trường hợp:

- IGF-1 giảm trong thiếu hụt GH hoặc hội chứng không nhạy cảm với GH. Ở trẻ em, sự thiếu hụt GH có thể làm trẻ thấp bé, phát triển chậm. Ở người lớn, sự thiếu hụt GH làm giảm khả năng sinh sản, nồng độ thấp của IGF-1 phản ánh sự thiếu hụt GH hoặc hội chứng không nhạy cảm với GH.
- Sự giảm của IGF-1 có thể do sự suy giảm chức năng tuyến yên, trong tình trạng này, cần chỉ định thêm một số hormone khác của tuyến yên như hormone kích vỏ thượng thận (ACTH) để có thể đánh giá mức độ suy tuyến yên, từ đó có hướng điều trị bổ sung GH. Sự giảm chức năng tuyến yên có thể là do khuyết tật di truyền hoặc do tổn thương tuyến yên sau chấn thương, nhiễm khuẩn hoặc viêm.
- IGF-1 có thể giảm trong tình trạng thiếu hụt dinh dưỡng (bao gồm chán ăn tâm thần), suy thận mạn hoặc bệnh gan, trong tình trạng không hoạt động hoặc hoạt động không hiệu quả của GH hoặc khi sử dụng estrogen liều cao.

V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG IgG DƯỚI NHÓM TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

IgG dưới nhóm được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục.

Nguyên lý: cho mẫu bệnh phẩm vào dung dịch chứa kháng thể phù hợp trong một cuvette phản ứng. Một chùm ánh sáng được đi qua cuvette và vì quá trình phản ứng kháng nguyên - kháng thể ánh sáng đi qua cuvette bị tán xạ do phức hợp miễn dịch không hoà tan được tạo thành. Lượng kháng thể trong cuvette dư thừa, vì vậy lượng phức hợp miễn dịch được tạo thành tương ứng với nồng độ kháng nguyên. Trong đo độ đục, ánh sáng tán xạ được theo dõi bằng cách đo sự giảm cường độ tia tới của ánh sáng. Đầu tiên, tiến hành xét nghiệm với 6 chuẩn đã biết trước nồng độ kháng nguyên để tạo đường cong chuẩn từ ánh sáng tán xạ đo được so với nồng độ kháng nguyên. Sau đó tiến hành xét nghiệm với các bệnh phẩm và kết quả được đọc dựa vào đường cong chuẩn.

Kháng thể gắn latex: Một số phản ứng kháng nguyên- kháng thể không tạo thành phức hợp miễn dịch đủ lớn để phát hiện bằng đo độ đục. Nếu kháng thể được bao phủ trên hạt latex có kích thước phù hợp, khả năng phân tán ánh sáng của phức hợp miễn dịch được tạo thành với kháng nguyên được làm tăng lên đủ để có thể phát hiện bằng đo độ đục.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện:

- Máy sinh hóa tự động
- Máy ly tâm

2.2. Hoá chất :

- Kít định lượng IgG subclass
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 2 mức)
- Nước cất

3. Người bệnh:

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh tươi hoặc huyết thanh đông lạnh.
- Bảo quản: IgG dưới nhóm trong huyết thanh ổn định được tới 8 ngày ở 2-8°C hoặc bệnh phẩm không pha loãng bảo quản được thời gian dài ở nhiệt độ - 20°C hoặc thấp hơn.
- Không sử dụng huyết thanh bị nhiễm vi khuẩn, huyết thanh tan huyết và mỡ máu cao.
- Tránh rã đông nhiều lần.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Chuẩn bị máy sinh hóa tự động: chuẩn xét nghiệm (nếu cần) và tiến hành nội kiểm tra chất lượng (chạy QC) cho xét nghiệm IgG dưới nhóm.
- Nhận mẫu bệnh phẩm từ các khoa lâm sàng.
- Ly tâm mẫu bệnh phẩm trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/phút.
- Ống bệnh phẩm đã được ly tâm đưa vào máy phân tích.
- Vận hành máy theo quy trình vận hành máy.
- Duyệt kết quả
- Kiểm soát chất lượng:

Hàng ngày : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

Định kỳ : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

Người lớn :	IgG1	3824 – 9286 mg/L
	IgG2 :	2418 – 7003 mg/L
	IgG3 :	218,2 – 1760, 6 mg/L
	IgG4 :	39,2 – 864,0 mg/L
Trẻ em : 0 – 2 tuổi:	IgG1	1940 – 8420 mg/L
	IgG2 :	225 – 3000 mg/L
	IgG3 :	186 – 853 mg/L
	IgG4 :	5 – 784,0 mg/L
	IgG total :	3270 – 12700 mg/L
2 – 4 tuổi:	IgG1	3150 – 9450 mg/L

	IgG2 :	360 – 2250 mg/L
	IgG3 :	173 – 676 mg/L
	IgG4 :	10 – 537 mg/L
	IgG total :	4680 – 12500 mg/L
4 – 8 tuổi :	IgG1	3060 – 9450 mg/L
	IgG2 :	605 – 3450 mg/L
	IgG3 :	99 – 1221 mg/L
	IgG4 :	18 – 1125 mg/L
	IgG total :	5320 – 13400 mg/L
6 – 8 tuổi :	IgG1	2880 – 9180 mg/L
	IgG2 :	440 – 3750 mg/L
	IgG3 :	155 – 853 mg/L
	IgG4 :	4 – 992 mg/L
	IgG total :	4540 – 13600 mg/L
8 – 10 tuổi :	IgG1	4320 – 10200 mg/L
	IgG2 :	720 – 4300 mg/L
	IgG3 :	127 – 853 mg/L
	IgG4 :	19 – 932 mg/L
	IgG total :	5680 – 13600 mg/L
10 – 12 tuổi :	IgG1	4230 – 10600 mg/L
	IgG2 :	760 – 3550 mg/L
	IgG3 :	173 – 1730 mg/L
	IgG4 :	16 – 1150 mg/L
	IgG total :	5680 – 14900 mg/L
12 – 14 tuổi :	IgG1	3420 – 11500 mg/L
	IgG2 :	1000 – 4550 mg/L
	IgG3 :	283 – 1250 mg/L
	IgG4 :	37 – 1360 mg/L
	IgG total :	6640 – 14900 mg/L
14 – 18 tuổi :	IgG1	3150 – 8550 mg/L
	IgG2 :	640 – 4950 mg/L
	IgG3 :	230 – 1960 mg/L
	IgG4 :	110 – 1570 mg/L
	IgG total :	5500 – 14400 mg/L

Ý nghĩa lâm sàng:

- Ở người lớn bình thường, IgG chiếm khoảng 75% tổng immunoglobulin trong huyết thanh. Trong các phân nhóm IgG, thứ tự bình thường của nồng độ 4 phân nhóm là IgG1>IgG2>IgG3>IgG4, nhưng nồng độ thực sự của mỗi IgG subclass có thể khác nhau đáng kể giữa các cá nhân.
- 4 phân nhóm IgG thể hiện sự khác nhau đáng kể trong các đặc tính của chúng, bao gồm khả năng cố định kháng thể, kết hợp với đại thực bào và qua nhau thai.
- Mức bất thường của 1 hoặc nhiều phân nhóm có thể liên quan với những điều kiện bệnh lý nhất định, bao gồm quá mẫn, tự miễn và bệnh gut cũng như thiếu hoặc cường gammaglobulin máu. Giảm nồng độ IgG2 ở trẻ em liên quan với nhiễm khuẩn tái diễn

IV.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG IL2R (interleukin 2 receptor) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Thụ thể IL-2 đóng một vai trò quan trọng trong phản ứng miễn dịch. Thụ thể IL2 gắn kết với IL-2 trên bề mặt tế bào lympho T tạo ra một loạt các phản ứng nội bào dẫn đến sự kích hoạt và tăng sinh của tế bào T.

IL-2R được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp .

2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy móc: Immulite
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng IL-2R, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng IL-2R.

3. Người bệnh:

Người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (với chất chống đông EDTA).
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay có chất chống đông theo quy định tùy mục đích muốn thu được huyết thanh hay huyết tương.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh, huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 2-8°C, nếu bảo quản lâu hơn phải bảo quản ở -20°C.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IL-2R. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IL-2R. Kết

quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IL-2R đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

223 - 391 - 710 U/mL

Mức độ IL-2R tăng cao đáng kể trong các trường hợp bệnh lý như ung thư, bệnh tự miễn dịch, ghép nội tạng và các nhiễm trùng khác nhau.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Lấy máu không đúng kỹ thuật như gây vỡ hồng cầu. Khắc phục: Huấn luyện cán bộ có kỹ năng lấy máu thuần thục.
- Bệnh phẩm để lâu mới phân tích. Khắc phục: Nên xét nghiệm ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Mẫu vỡ hồng cầu với lượng Hemoglobin đến 384 mg/dL, triglycerid đến 3000 mg/mL, Bilirubin đến 200mg/L không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Không có hiệu ứng Hight-dose Hook khi IL-2R đến 225 000U/mL

ĐỊNH LƯỢNG INHIBIN A TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Inhibin là hormon được tế bào Sertoli (nam), tế bào trứng (nữ) tiết ra.

Inhibin có bản chất là glycoprotein, tan được trong nước. Cấu tạo gồm 2 phân tử alpha và beta gắn với nhau. Inhibin chia làm 2 loại A và B. Tế bào sertoli của nam chỉ tiết loại B, tế bào trứng của nữ tiết cả 2 loại, trong giai đoạn mang thai chỉ tiết loại A. Tác dụng: làm giảm FSH, ức chế sản sinh tinh trùng ở nam, ức chế quá trình chín của trứng ở nữ. Đặc biệt trong giai đoạn mang thai, inhibin A tăng cao là biểu hiện của tế bào thai nhi bị hội chứng Down.

Nồng độ inhibin A trong máu được làm cùng AFP, hCG, uE3 trong khoảng thời gian từ tuần thứ 15 đến 20 thai kỳ

Nguyên lý miễn dịch sandwich

Kháng nguyên trong bệnh phẩm được ủ với các hạt từ có gắn kháng thể đơn dòng kháng Inhibin A. Thuốc thử và kháng nguyên thừa được rửa bỏ. Kháng thể đơn dòng kháng Inhibin A kết hợp với phosphatase kiềm nhằm phát hiện Inhibin A gắn với các hạt từ. Các thành phần pha rắn được giữ lại trong từ trường trong khi các thành phần khác sẽ được rửa trôi. Lumi-Phos 530 được thêm vào. Ánh sáng tạo ra bởi phản ứng được đo bởi bộ phận đo quang. Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ thuận với nồng độ Inhibin A trong mẫu. Lượng chất cần phân tích trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn nhiều điểm đã được lưu trên máy.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 1 người có trình độ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả; 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

2. Phương tiện và hóa chất:

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm miễn dịch tự động như: Access, Access 2, SYNCHRON Lxi, UniCel DxH 600i của hãng Beckman Coulter,
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

2.2. Hóa chất: thường đi theo hệ thống máy của các công ty VD hóa chất Access Inhibin A của Beckman Coulter

- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống của Beckman Coulter

3. Người bệnh:

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương (chống đông bằng EDTA hoặc Heparin). Lấy 3 ml máu tĩnh mạch. Ly tâm 3000 vòng/ phút trong 5 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương ngay khi có thể. Bệnh phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng (luôn đậy nắp) (15-30°C) không quá 8h; 48h ở 2-8 °C; >48h ở -20 °C. Chỉ rã đông 1 lần duy nhất. Tránh xét nghiệm các mẫu nhiễm mỡ và vỡ hồng cầu.

2. Tiến hành kỹ thuật

- KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG: việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 3 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Khoảng tham chiếu:

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh. Kết hợp với AFP, hCG, uE3, tuổi thai phụ để nhận định kết quả

Quần thể Phụ nữ có chu kì kinh bình thường (từ thời điểm LH tăng):	n	Trung vị (pg/mL)	Cận dưới 2,5% (pg/mL)	Cận trên 97,5% (pg/mL)
Pha sớm của nang noãn (ngày -14 tới -10)	211	6,4	1,8	17,3
Pha giữa của nang noãn (ngày -9 tới -4)	264	11,7	3,5	31,7
Pha muộn của nang noãn (ngày -3 tới -1)	121	29,0	9,8	90,3

Giữa chu kỳ kinh (ngày 0, LH tăng đột biến)	96	41,8	16,9	91,8
Pha sớm của hoàng thể (ngày 1 tới 3)	122	43,7	16,1	97,5
Pha giữa của hoàng thể (ngày 4 tới 11)	344	38,3	3,9	87,7
Pha muộn của hoàng thể (ngày 12 tới 14)	138	12,5	2,7	47,1
Phụ nữ sau mãn kinh	58	1,1	< 1,0	2,1
Nam giới	67	1,1	< 1,0	2,0

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

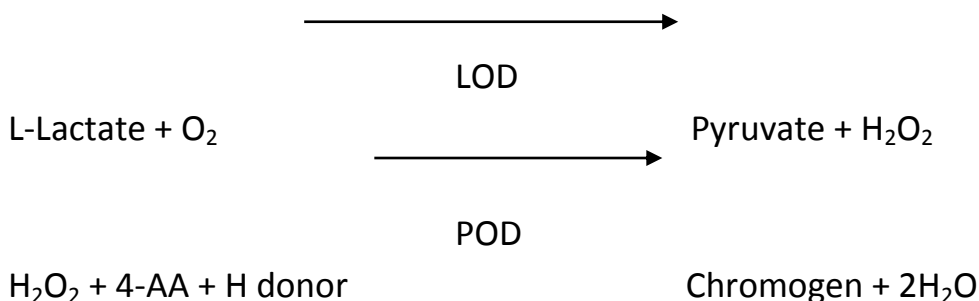
- Giới hạn phát hiện xấp xỉ 1-1500 pg/mL. Nếu nồng độ của mẫu > 1500 pg/mL thì pha loãng bệnh phẩm với Access Sample Diluent A.
- Các mẫu lấy trong thời điểm 27-40 tuần tuổi thai thể hiện sự pha loãng không tuyến tính

ĐỊNH LƯỢNG LACTAT DỊCH NÃO TỦY

I. NGUYÊN LÝ

Lactat là sản phẩm của quá trình chuyển hóa tế bào. Tùy thuộc vào pH, đôi khi nó tồn tại dưới dạng acid lactic. Tuy nhiên, với độ pH trung tính được duy trì bởi cơ thể, hầu hết nó sẽ có trong máu dưới dạng lactate. Thông thường nồng độ lactate máu và dịch não tủy thấp, nó được sản xuất quá mức bởi các tế bào cơ, não, hồng cầu và các mô khác khi tế bào không có đủ oxy.

Lactat bị oxi hóa bởi lactate oxidase (LOD) tạo thành pyruvate và hydrogen peroxide. Một sản phẩm màu được tạo ra bởi phản ứng của peroxidase (POD), hydrogen peroxidase, 4- aminoantipyrine và chất hydrogen donor (TOOS). Sản phẩm màu được đo bằng máy đo quang. Độ đậm màu tỉ lệ với nồng độ Lactate có trong bệnh phẩm



2. TÀI LIỆU THAM KHẢO

2.1. Phương tiện:

- + Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- + Máy ly tâm

2.2. Hóa chất:

- Hóa chất làm xét nghiệm Lactat (hãng Olympus)
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (Lyphocheck)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (Lyphocheck)
- Huyết thanh chuẩn
- Nước cất

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- **Dịch não tủy** : Lấy trong ống chứa chất natri florua hoặc kali oxalat. Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 2-8⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng lactate dịch não tủy. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm lactate dịch não tủy. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm lactate dịch não tủy đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu của lactate dịch não tủy.

- dịch não tủy

Trẻ sơ sinh : 1,1 – 6,7 mmol/L (10 – 60 mg/dL)

Trẻ 3-10 ngày : 1,1 - 4,4 mmol/L (10- 40 mg/dL)

Trẻ trên 10 ngày : 1,1 – 2,8 mmol/L (10- 25 mg/dL)

Người lớn : 1,1 – 2,4 mmol/L (10 – 22 mg/dL)

- Ở các người bệnh có triệu chứng của viêm màng não, xét nghiệm lactate dịch não tủy tăng cao giúp gợi ý viêm màng não do vi khuẩn, trong khi lactat dịch não tủy bình thường hoặc tăng nhẹ ở người bệnh viêm màng não do virus.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ Ascorbate \leq 10 mg/dL

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ lactat không vượt quá ngưỡng đo (13,32 mmol/L). Nếu nồng độ lactat vượt quá 13,32 mmol/L thì có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm, sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự động tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG LBP MÁU

I. NGUYÊN LÝ

LBP được định lượng bằng kỹ thuật miễn dịch hoá phát quang

Nguyên lý: Pha rắn (hạt phủ kháng thể đơn dòng kháng LBP) được trộn với thuốc thử chứa kháng thể đa dòng kháng LBP liên hợp với ALP và mẫu bệnh phẩm. LBP có mặt trong mẫu bệnh phẩm kết hợp với kháng thể đặc hiệu của pha rắn và kháng thể có trong thuốc thử tạo thành phức hợp dạng bánh mì kẹp chứa kháng thể-LBP- kháng thể trên hạt. Phức hợp này bám vào các hạt đã được gắn alkaline phosphatase. Sau khi các kháng thể liên hợp enzym được loại bỏ bằng rửa ly tâm, cơ chất phát quang được thêm vào. Tín hiệu tạo ra tỷ lệ thuận với lượng kháng thể liên hợp enzyme gắn hay nói cách khác là với nồng độ LBP có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Nhân viên thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện:

- Hệ thống máy miễn dịch tự động.
- Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

- Thuốc thử LBP
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 1,2)
- Nước cất

3. Người bệnh: Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (không sử dụng huyết tương chống đông EDTA).
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.

- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 2 ngày.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Ly tâm ống máu trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy miễn dịch IMMULITE 2000.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

Hàng ngày : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

Định kỳ : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

Giá trị tham chiếu: Người trưởng thành từ 2,2 $\mu\text{g/mL}$ đến 11,4 $\mu\text{g/mL}$.

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Các nội độc tố (lipopolysaccharide và lipooligosaccharide; LPS và LOS) sản sinh bởi vi khuẩn gram âm là đại diện cho các chất có khả năng kích hoạt phản ứng viêm, kích thích sản sinh các cytokine gây viêm (ví dụ, IL-6, TNF, IL-8) bởi bạch cầu đơn nhân, tế bào màng trong, bạch cầu hạt và tế bào lympho. Khả năng nhận ra LPS bởi các tế bào tác động được tăng thêm nhiều thông qua chức năng của protein liên kết với lipopolysaccharide (LBP), một dạng protein pha cấp tính liên kết và hút nội độc tố về bề mặt của những tế bào này. LBP có liên quan về mặt kết cấu với protein làm tăng tính diệt khuẩn/khả năng thẩm thấu (BPI), một glycoprotein được sản sinh ở dạng hạt ưa azua của bạch cầu hạt có khả năng diệt vi khuẩn và trung hòa cũng như loại bỏ các nội độc tố. Do đóng vai trò trọng yếu trong giai đoạn đầu khi phản ứng trước vi khuẩn và nội độc tố, nồng độ của LBP trong huyết tương đã được nghiên cứu ở rất nhiều tập hợp người. Ở những người bình thường, LBP có mặt trong huyết tương với nồng độ từ 2 đến 10 $\mu\text{g/mL}$. Trong một số tập hợp người bệnh, nồng độ LBP có thể vượt 100 $\mu\text{g/mL}$ và có thể duy trì trong vài ngày. Người ta đã ghi nhận nồng độ LBP trong huyết tương tăng cao ở những người bệnh mắc nhiễm khuẩn huyết, nhiễm trùng dạ dày, màng não cầu huyết, SIRS, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, hội chứng tan huyết urê huyết, và người bệnh có tim phổi nhân tạo. Tiêm nội độc tố vào những tình nguyện viên khỏe mạnh cũng làm tăng mức LBP, và quá trình lấy mẫu theo chiều dọc từ những người bệnh được phẫu thuật gan hoặc người bệnh bị xuất huyết do chấn thương cũng cho thấy mức LBP tăng cao trong vòng giờ đầu bị chấn thương. Nồng độ LBP có vẻ như không tăng ở những người bệnh mắc các chứng rối loạn viêm. Vì những lý do này, người ta đã cho rằng mức LBP có thể là

dấu hiệu của phơi nhiễm với vi khuẩn hoặc nội độc tố và tiên lượng về tiến triển bệnh, đồng thời có thể cung cấp một công cụ mới để theo dõi việc điều trị người bệnh và quản lý người bệnh về lâu dài.

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG LITHIUM MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Lithium được sử dụng trong điều trị bệnh tâm thần hưng trầm cảm. Lithium tác động lên các chất dẫn truyền thần kinh và tạo ra tác dụng an thần trên hệ thống thần kinh trung ương. Mức lithium tăng có thể gây độc. Các triệu chứng ngộ độc bao gồm sự thờ ơ, chậm chạp, buồn ngủ, hôn mê, khó nói, run, suy nhược cơ, và thiếu máu. Liệu pháp lithi dài hạn có thể gây ra cường cận giáp ở một số người bệnh và làm tăng calci máu.

Lithium được định lượng bằng phương pháp so màu.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

- Người thực hiện cần có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

Phương tiện

- Máy có thể phân tích: ARCHITECT C, COBAS C, AU...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

Hoá chất

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng Lithium: Khi chưa mở nắp, thuốc thử ổn định ở 2- 8 °C cho đến hết hạn sử dụng ghi trên hộp. Cần tránh ánh sáng. Thuốc thử đã mở nắp và để trên máy ổn định trong 18 ngày.

- Chất chuẩn
- Chất kiểm tra chất lượng.

3. Người bệnh:

Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1.Lấy bệnh phẩm:

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương để thực hiện xét nghiệm này.

Huyết thanh: Chỉ ly tâm khi đã hình cục máu đông. Không sử dụng ống thủy tinh để lấy máu.

Huyết tương: Thuốc chống đông có thể chấp nhận được là Natri heparin và K2-EDTA. Không sử dụng Lithium heparin. Không sử dụng ống thủy tinh để lấy máu.

Mẫu được bảo quản ở 20 – 25°C tối đa 1 ngày, ở 2 – 8°C tối đa 7 ngày, ở -20°C tối đa 6 tháng.

Mẫu có nồng độ Lithium >3,51 mmol/L cần hòa loãng thủ công hoặc tự động. Nếu pha loãng thủ công kết quả cần nhân với độ hòa loãng. Pha loãng tự động máy sẽ pha loãng 1:40 và kết quả tự động được nhân với độ hòa loãng.

2.Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Lithium. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Lithium. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Lithium đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Nồng độ Lithium 12 giờ sau liều điều trị: 1,0 đến 1,2 mmol/L

Nếu lớn hơn 1,5 mmol/L 12 giờ sau liều là có nguy cơ gây ngộ độc đáng kể.

IV. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Huyết thanh vàng: Không có nhiều đáng kể với nồng độ bilirubin liên hợp khoảng: 684 μ mol/L (40 mg/dL), bilirubin không liên hợp khoảng: 428 μ mol/L (25 mg/dL).

Tán huyết: Không có nhiều đáng kể với nồng độ hemoglobin: 1000 mg/dL.

Huyết thanh đục: Không có nhiều đáng kể với nồng độ triglycerid tối đa đến 1500 mg/dL.

ĐỊNH LƯỢNG Lp (a) (N LATEX LP a)

Bảng viết tắt:

Lp(a): lipoprotein(a)

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm định lượng lipoprotein(a) [Lp(a)] trong huyết thanh người và huyết tương heparin bằng hạt hóa phát quang sử dụng hệ thống BN II and BN ProSpec® System. Đo lường Lp(a) hỗ trợ trong việc xác định các cá thể có nguy cơ bị các bệnh lý tim mạch đối với 1 nhóm dân số cụ thể khi sử dụng kết hợp với các đánh giá lâm sàng. Lp(a) bao gồm 2 thành phần LDL với apolipoprotein B-100 là protein thành phần chính được liên kết cộng hóa trị với glycoprotein, apolipoprotein(a) [Apo(a)]. Nồng độ Lp(a) trong máu phụ thuộc vào yếu tố về gen, khoảng biến thiên trong 1 nhóm dân số là khá lớn. Sự tăng nồng độ Lp(a) là nguy cơ cho bệnh mạch vành. Xác định nồng độ Lp(a) có thể hữu ích để quản lý hướng dẫn các cá nhân có lịch sử gia đình mắc bệnh mạch vành hoặc đang mang bệnh.

Nguyên lý: Hạt Polystyrene được bao với kháng thể đặc biệt với Lp(a) người được kết tụ khi trộn lẫn với mẫu có chứa Lp(a). Những kết tủa này phản chiếu ánh sáng được chiếu qua mẫu. Cường độ của ánh sáng phản xạ tỉ lệ với nồng độ của protein cần đo trong mẫu. Kết quả được đánh giá bằng việc so sánh với nồng độ của chất chuẩn đã biết.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

2.1 Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

2.2. Hoá chất

- Hóa chất dùng để phân tích

N Latex Lp(a) 3 x 2 mL

Thành phần: N Latex Lp(a) chứa các hạt polystyrene được làm khô lạnh và được bao bởi khagns thể kháng mảnh Lp(a)- γ -globulin người được sản xuất từ thỏ (62.5 mg/L).

- Chất chuẩn N Lp(a) Standard SY, REF OQCV

Chất kiểm chuẩn N Lp(a) Control SY, REF OQCW

Chất pha loãng N Diluent, REF OUMT

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm là mẫu huyết thanh hoặc mẫu huyết tương (chống đông bằng heparin), mẫu mới lấy nhất có thể (bảo quản ở 2- 8 °C không quá 7 ngày) hoặc mẫu đông lạnh. Mẫu có thể bảo quản dưới -20 °C trong 1 tháng nếu mẫu được đông lạnh ngay trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và tránh rã đông nhiều lần. Mẫu huyết thanh phải được làm đông hoàn toàn và sau khi ly tâm phải không được chứa bất kì hạt nào hoặc dấu tích của fibrin.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị hóa chất: hòa trộn thành phần khô trong ống với 2 mL nước cất và để 30 phút trước khi sử dụng. Lắc kỹ để hòa trộn đều trước khi dùng.
- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Lp(a). Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Lp(a). Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Lp(a) đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu

Nhóm nghiên cứu	Số lượng	5-95% (mg/L)
Da trắng	628	0.02 - 0.72
African-American	142	0.04 - 1.09
Tây Ban Nha- Bồ Đào Nha (Hispanic)	39	0.02 - 0.53

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ:

- Những chất sau được ghi nhận không ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm: Triglycerides dưới 11.6 g/L, hemoglobin tự do dưới 10 g/L, bilirubin dưới 600 mg/L.
- Các thuốc sau không ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm: ASPIRIN, β -estradiol (estrogen), niacin, pravastatin or simvastatin.
- Mẫu máu lipid cao hoặc mẫu đông lạnh sau khi được rã đông sẽ bị đục, phải được làm trong bằng ly tâm (10 phút ở 15 000 x g) trước khi xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG METHADONE

I. NGUYÊN LÝ

Methadone là một xét nghiệm chẩn đoán in vitro dùng để phát hiện định tính và bán định lượng methadone trong nước tiểu. Đây là một diphenylpropylamine tổng hợp sử dụng để giải độc và duy trì nghiện ma túy tạm thời cũng như điều trị đau cấp và mạn tính. Quá liều methadone gây choáng váng, ức chế hô hấp, da ẩm và lạnh, hạ huyết áp, hôn mê, suy tuần hoàn. Thuốc dùng đường tiêm bắp hoặc đường uống. thuốc được đào thải qua nước tiểu

Xét nghiệm dựa trên sự tương tác động học của các vi hạt trong dung dịch, được đo bởi những thay đổi trong dẫn truyền ánh sáng. Trong trường hợp không có thuốc mẫu, thuốc liên hợp hòa tan gắn với vi hạt liên kết với kháng thể, tạo thành các vi hạt kết tập. Khi mẫu nước tiểu chứa thuốc đang nghi ngờ, thuốc này cạnh tranh với dẫn xuất thuốc liên hợp với vi hạt liên kết với kháng thể. Kháng thể gắn với thuốc trong mẫu thử không còn khả năng thúc đẩy hình thành hạt ngưng kết, sau đó ức chế hình thành lưới hạt. Sự có mặt của thuốc trong mẫu thử làm giảm sự gia tăng độ hấp thu, tỷ lệ với nồng độ thuốc trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

- 1 cán bộ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả;
- 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

2. Phương tiện và hóa chất:

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

2.2. Hóa chất:

- Hóa chất định lượng
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống

3. Người bệnh: cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu nước tiểu mới có thể sử dụng ngay nhưng tránh cận. pH mẫu nước tiểu khoảng 5-8.

Bảo quản nước tiểu 5 ngày ở 2-8⁰C. Nếu để lâu hơn nên đông lạnh mẫu.

Ly tâm nếu nước tiểu đục

2. Tiến hành kỹ thuật

- **KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG:** việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
Với xét nghiệm định tính, ngưỡng chuẩn được sử dụng để tham chiếu trong phân biệt giữa mẫu dương tính sơ bộ và mẫu âm tính.
Xét nghiệm định tính: kết quả của xét nghiệm này chỉ phân biệt được mẫu dương tính sơ bộ với mẫu âm tính. Không thể ước lượng thuốc được phát hiện trong một mẫu dương tính sơ bộ
- Giới hạn phát hiện: 10.4 ng/mL

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả dương tính sơ bộ cho thấy sự hiện diện của methadone và/hoặc các chất chuyển hóa của nó có trong nước tiểu. Xét nghiệm không đo mức độ của sự nhiễm độc
- Một số chất dưới đây có thể gây nhiễu kết quả: Acetone, acid ascorbic, bilirubin, creatinin, ethanol ...

ĐỊNH LƯỢNG OSTEOCALCIN MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Osteocalcin được định lượng theo nguyên lý kỹ thuật miễn dịch hoá phát quang kiểu sandwich.

Nguyên lý: Các hạt rắn được gắn KT đơn dòng của chuột kháng osteocalcin. Thuốc thử có KT đa dòng của thỏ liên hợp với alkaline phosphatase kháng lại osteocalcin. Kháng nguyên có mặt trong mẫu bệnh phẩm kết hợp với hai loại KT đặc hiệu nêu trên tạo phức hợp kiểu sandwich: KT-KN-KT. Sau khi các thành phần không tham gia phản ứng được rửa khỏi ống phản ứng, cơ chất có khả năng phát quang (chemiluminescent substrate) được thêm vào, cường độ sáng sinh ra tỷ lệ thuận với nồng độ osteocalcin có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Nhân viên của phòng xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy miễn dịch tự động IMMULITE 2000.
- Máy ly tâm

2.2. Hoá chất

- Thuốc thử osteocalcin
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC)
- Nước cất

3. Người bệnh: Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh hoặc huyết tương chống đông heparin được khuyến cáo sử dụng cho XN này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu sau khi lấy được để trong đá.

- Ly tâm lạnh, sau đó tách huyết thanh/ huyết tương ngay.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 2 giờ.
- Bảo quản bệnh phẩm ở - 20°C được 30 ngày.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Ly tâm ống máu trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy miễn dịch IMMULITE 2000.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

Hàng ngày : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

Định kỳ : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

Giá trị osteocalcin ở người lớn từ <2 – 22 ng/ml.

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Osteocalcin là một protein phụ thuộc vitamin K trọng lượng phân tử khoảng 5800 Daltons. Osteocalcin là một trong các protein không phải collagen phổ biến nhất trong xương, chiếm 3% protein của xương. Định lượng Osteocalcin giúp tiên lượng tiến triển của bệnh xương. Nồng độ Osteocalcin tăng gấp trong các bệnh như nhuyễn xương, bệnh Paget, cường giáp, cường cận giáp tiên phát, loạn dưỡng xương trong bệnh thận, loãng xương mãn kinh. Nồng độ osteocalcin giảm trong suy cận giáp, điều trị corticosteroid dài ngày.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG p2PSA

I. NGUYÊN LÝ

Kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (TTL) (Prostate-specific antigen – PSA) là một serine protease, được sản xuất bởi cả các tế bào biểu mô TTL lành tính và ác tính. Những bất thường trong cấu trúc của TTL do chấn thương hay bệnh lý đều có thể dẫn tới “thấm thấu” PSA vào máu. Trong huyết thanh, PSA tồn tại ban đầu dưới ở dạng tự do “không tạo phức” (fPSA) hoặc dạng “phức hợp” (cPSA) gắn với chất ức chế protease huyết thanh alpha 1-antichymotrypsin. Thông thường, 70 – 90% PSA trong huyết thanh là cPSA, còn lại là fPSA. Trị số %fPSA (fPSA/t PSA) càng cao thì nguy cơ mắc ung thư TTL càng thấp, ngược lại trong khi giá trị %fPSA càng thấp đồng nghĩa với nguy cơ mắc ung thư cao hơn.

Các dạng tồn tại khác của fPSA là ProPSA và BPSA cho thấy mối liên hệ với bệnh lớn hơn so với PSA, fPSA hay cPSA riêng lẻ. Các dạng cắt ngắn của proPSA trong các mô ung thư thuộc vùng ngoại vi tăng cao hơn so với trong các mô BPH (phì đại lành tính TTL). ProPSA tăng trong các mô ung thư của TTL, trong khi BPSA tăng trong các mô thuộc vùng chuyển tiếp các nốt BPH (nốt tăng sản) và tăng cao hơn so với nồng độ của nó ở các mô vùng ngoại vi. ProPSA tìm thấy ở dạng gốc chứa một đoạn pro peptide dẫn đường (pro leader peptide) gồm 7 acid amin ([-7]proPSA), tương tự như các dạng pro peptide dẫn đường cắt ngắn khác. Các dạng cắt ngắn của proPSA chủ yếu gồm ProPSA gắn với một đoạn pro peptide dẫn đường gồm 5 acid amin ([-5]proPSA), 4 acid amin ([-4]proPSA) hoặc 2 acid amin ([-2]proPSA) hay [p2PSA]. p2PSA là pro peptide đáng chú ý nhất vì đây là dạng chủ yếu được tìm thấy khi chiết xuất khỏi u và thể hiện màu nhuộm miễn dịch trong khối u TTL cao hơn so với mô lành tính. Ngoài ra, trong chẩn đoán *in vitro*, p2PSA cũng là dạng ổn định nhất trong số 5 dạng proPSA đã được xác định. Khi có trị số p2PSA có thể kết hợp với kết quả của tPSA và fPSA để tính chỉ số *phi* (chỉ số sức khỏe tiền liệt tuyến). *Có độ nhạy và đặc hiệu trên lâm sàng trong phát hiện ung thư TTL.*

Định lượng p2PSA dựa trên nguyên lý miễn dịch kiểu “Sandwich” enzyme 2 vị trí gắn. Mẫu bệnh phẩm định lượng p2PSA được cho vào cuvet phản ứng cùng với chất cộng hợp kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng [-2]PSA - alkaline phosphatase, các hạt thuận từ phủ kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng [-2]proPSA và dung dịch khóa (blocking reagent). [-2]proPSA có trong mẫu bệnh phẩm gắn với kháng thể đơn dòng kháng [-2]proPSA đã được cố định trên pha rắn, cùng lúc đó, chất cộng hợp kháng thể đơn dòng kháng PSA – alkaline phosphatase phản ứng với các vị trí kháng nguyên khác trên phân tử [-2]proPSA. Sau khi ủ trong giếng phản ứng, các chất gắn với pha rắn sẽ được giữ lại trong từ trường, các thành phần không gắn sẽ bị rửa trôi. Tiếp đó, chất nền quang hóa

Lumi-Phos 530 được thêm vào giếng phản ứng và ánh sáng tạo ra bởi phản ứng được đo bằng bộ phận đo quang (luminometer). Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ thuận với nồng độ [-2]proPSA có trong mẫu phản ứng. Lượng chất cần phân tích trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn đa điểm đã được lưu trong máy.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Unicel DxI 800 và một số máy miễn dịch khác có thuốc thử thực hiện xét nghiệm này.
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản chất chuẩn cal, QC, mẫu bệnh phẩm
- pipet các loại, cốc đựng bệnh phẩm
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

Các hóa chất cần thiết cho phân tích trên máy Unicel DxI 800 gồm:

- Hóa chất chính Access Hybritech p2PSA: Hóa chất tích hợp sẵn sàng cho sử dụng, đóng gói 100 xét nghiệm/hộp. Bảo quản ở 2-8°C.
- Chất hiệu chuẩn Access Hybritech p2PSA Calibrators: dùng để xây dựng đường cong chuẩn cho xét nghiệm p2PSA trên máy Unicel DXI 800. Chất hiệu chuẩn có 7 mức, được bảo quản ở -20°C khi chưa mở nắp, sau khi mở nắp, bảo quản ở 2-10°C chất chuẩn ổn định trong vòng 60 ngày.
- Chất kiểm chứng Access Hybritech p2PSA QC: Dùng để kiểm tra tính chính xác của kết quả xét nghiệm p2PSA.
- Access Substrate: Cơ chất phát quang
- Unicel DxI Wash buffer II: Dung dịch rửa phản ứng
- Unicel DxI Reaction Vessel: Giếng phản ứng

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và ngày giờ lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Nên sử dụng bệnh phẩm là huyết thanh. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông.
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Mẫu xét nghiệm trong vòng 24 giờ, sau khi lấy mẫu cần phải ly tâm tách huyết thanh và được bảo quản trong ở 2 – 8°C. Các mẫu bệnh phẩm lưu giữ trong thời gian dài hơn (khoảng 5 tháng) nên để đông lạnh ở -20°C hoặc lạnh hơn. Nếu lưu giữ trong khoảng thời gian dài hơn 5 tháng, mẫu bệnh phẩm cần được làm đông lạnh ở -70°C. Mẫu nên rã đông 1 lần

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm p2PSA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm p2PSA. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm p2PSA đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo chu trình thực hiện tự động của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

3. Giá trị tham chiếu

Chỉ sử dụng đơn thuần các giá trị [-2]proPSA chưa được chứng minh là có hiệu quả trong việc theo dõi người bệnh. Chỉ số *phi* Beckman Coulter được tính toán dựa trên nồng độ của PSA, fPSA, và [-2]proPSA, được thiết kế để tối ưu hóa độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng, hỗ trợ trong việc xác định nguy cơ ung thư tuyến tiền liệt.

		Lành tính	Ung thư	Toàn phần
PSA (ng/mL) Hiệu chuẩn Hybritech	Trung vị	5,09	5,28	5,15
	Trung bình ± SD	5,29 ± 1,95	5,35 ± 1,87	5,31 ± 1,91
	Dải giá trị	1,99 - 10,04	2,02 - 9,68	1,99 - 10,04
fPSA (ng/mL) Hiệu chuẩn Hybritech	Trung vị	0,98	0,80	0,90
	Trung bình ± SD	1,04 ± 0,51	0,92 ± 0,55	0,99 ± 0,53
	Dải giá trị	0,26 - 4,34	0,18 - 3,91	0,18 - 4,34
[-2] proPSA (pg/mL)[†]	Trung vị	12,44	13,41	12,94
	Trung bình ± SD	13,84 ± 6,79	16,08 ± 10,30	14,85 ± 8,61
	Dải giá trị	2,86 - 43,54	3,98 - 90,78	2,86 - 90,78
%fPSA	Trung vị	19,38	16,15	17,80
	Trung bình ± SD	20,33 ± 7,94	17,51 ± 8,05	19,06 ± 8,11
	Dải giá trị	3,51 - 53,22	5,37 - 51,07	3,51 - 53,22
Chỉ số phi	Trung vị	29,42	37,63	32,59
	Trung bình ± SD	31,81 ± 13,25	43,69 ± 26,64	37,14 ± 21,20
	Dải giá trị	13,67 - 94,44	14,03 325,80	- 13,67 - 325,80

Đối với các người bệnh có PSA nằm trong dải từ 2-10 ng/mL và có kết quả thăm khám trực tràng bằng ngón tay (DRE) âm tính, chỉ số *phi* càng cao thể hiện nguy cơ ung thư cao và ngược lại.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Việc sử dụng thường xuyên các thuốc ức chế 5 α -reductase làm giảm nồng độ PSA, fPSA và [-2]proPSA trong huyết thanh người bệnh. Những thuốc khác được dùng để điều trị phì đại lành tính tuyến tiền liệt cũng có thể ảnh hưởng tới nồng độ PSA. Do đó, cần thận trọng khi đánh giá kết quả ở những người bệnh đang sử dụng các thuốc này.

- Nồng độ protein sinh lý toàn phần bình thường nằm trong khoảng 60-80 g/L. Đối với những mẫu bệnh phẩm có nồng độ protein toàn phần tăng cao > 80 g/L, protein toàn phần có thể trở thành yếu tố gây nhiễu. Do đó, cần thận trọng khi đánh giá kết quả ở những người bệnh có nồng độ protein toàn phần tăng cao.

- Các mẫu huyết thanh có chứa đến 500 mg/dL (5 g/L) hemoglobin, 20 mg/dL (0,2 g/L) bilirubin, 1500 mg/dL (15 g/L) triglyceride, và nồng độ protein toàn phần là 62 g/L không ảnh hưởng đến xét nghiệm Access Hybritech p2PSA.
- Tránh trường hợp mẫu bị cục đông hoặc sợi huyết cần thực hiện đúng quy trình tiền phân tích và ly tâm đủ thời gian để huyết thanh được tách toàn bộ và trong suốt.

ĐỊNH LƯỢNG PIVKA II

I. NGUYÊN LÝ

PIVKA-II: là tên viết tắt của Prothrombin induced by the absence of vitamin K hay còn gọi là antagonist-II PIVKA-II là protein des-carboxylated prothrombin (DCP) bất thường được tạo ra do sự thiếu hụt vitamin K hoặc có ở người bệnh được điều trị bằng warfarin hay phenprocoumon. Protein des-carboxylated prothrombins bị hỏng chức năng do không thể gắn kết với canxi và phospholipid.

Đo PIVKA-II giúp phát hiện thiếu hụt Vitamin K trước khi kết quả xét nghiệm đông máu thay đổi hay xảy ra xuất huyết. PIVKA-II không có trong cá thể bình thường, nhưng ở cá thể bị bệnh gan và gan ác tính, PIVKA-II có thể xuất hiện dù không bị thiếu hụt vitamin K. Nồng độ PIVKA-II được xác định để hỗ trợ chẩn đoán và tiên lượng ở người bệnh bị HCC và theo dõi HCC trong quá trình điều trị.

Định lượng PIVKA-II dựa trên nguyên lý miễn dịch hai bước để định lượng PIVKA-II trong huyết thanh hay huyết tương người sử dụng công nghệ CMIA với quy trình xét nghiệm linh hoạt, còn gọi là Chemiflex.

Bước 1. Mẫu, dung dịch pha loãng xét nghiệm và vi hạt thuận từ hủ anti-PIVKA-II được kết hợp lại. PIVKA-II có trong mẫu gắn kết với anti-PIVKA-II phủ trên vi hạt.

Bước 2. Sau khi rửa, chất kết hợp anti-prothrombin có đánh dấu acridinium được cho vào hỗn hợp phản ứng.

Bước 3. Tiếp theo một quá trình rửa sau đó, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đối (RLU). Có sự tương quan trực tiếp giữa lượng PIVKA-II trong mẫu và RLU được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy, thiết bị có thể phân tích: Architect i1000SR, Architect i2000SR và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất, calibrator, control và mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại
- Ống chứa mẫu bệnh phẩm
- Đầu pipet tùy chọn
- Giá chứa mẫu bệnh phẩm

2.2. Hóa chất

- PIVKA-II Reagent Kit (Bộ Thuốc thử) bao gồm:
 - + Microparticle (vi hạt từ): Anti-PIVKA-II (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm Tris-HCl với chất ổn định protein (từ bò). Nồng độ tối thiểu: 0,025% rắn. Chất bảo quản: ProClin 300 và ProClin 950.
 - + Conjugate (chất gắn kết): Anti-prothrombin (chuột, kháng thể đơn dòng) chất kết hợp có đánh dấu acridinium trong dung dịch đệm MES với chất ổn định protein (từ bò). Nồng độ tối thiểu: 750/mL. Chất bảo quản: ProClin 300 and ProClin 950.
 - + Assay diluent (Dung dịch pha loãng cho xét nghiệm): Tris-HCl diluent. Chất bảo quản: ProClin 950 và sodium azide.
- PIVKA-II Assay file.
- PIVKA-II Calibrators
- PIVKA-II Controls
- Pre-Trigger Solution (Dung dịch tiền phản ứng)
- Trigger Solution (Dung dịch phản ứng)
- Wash Buffer (Dung dịch đệm rửa)
- Reaction Vessels (Cống phản ứng)
- Sample Cups (Cốc đựng mẫu)
- Septum (Màng ngăn)
- Replacement Caps (Nắp thay thế)

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như sodium heparin, lithium heparin, EDTA.
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.

- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định nhiệt độ phòng trong vòng 24 giờ, 2-8 °C trong 7 ngày hoặc 5 năm ở -20°C
- Nếu xét nghiệm được thực hiện trễ hơn 7 ngày, bảo quản đông lạnh mẫu huyết thanh hay huyết tương ở nhiệt độ -20°C hoặc thấp hơn.
- Tránh đông lạnh/rã đông hơn 2 lần.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PIVKA II. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PIVKA II. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PIVKA II đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

≤40 mAU/mL.

2. Tăng trong trường hợp

Thiếu hụt vitamin K hoặc không thiếu hụt vitamin K ở những cá thể bị bệnh gan hoặc ung thư gan ác tính

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Các mẫu xét nghiệm lấy từ người bệnh đã nhận các chế phẩm từ các kháng thể đơn dòng chuột cho chẩn đoán hoặc điều trị có thể chứa các kháng thể kháng chuột ở người (HAMA). Những mẫu này có thể cho giá trị thay đổi tăng hoặc giảm giả khi xét nghiệm với các bộ xét nghiệm như PIVKA-II có sử dụng các kháng thể đơn dòng chuột. Có thể yêu cầu thêm thông tin cho chẩn đoán.
- Kháng thể dị hình trong huyết thanh người có thể phản ứng với immunoglobulins thuốc thử, gây nhiễu với xét nghiệm miễn dịch in vitro. Người bệnh thường phơi nhiễm với động vật hay các sản phẩm huyết thanh động vật có thể dễ gây nhiễu và cho kết quả bất thường. Cần thêm thông tin bổ sung để chẩn đoán.
- Yếu tố dạng thấp (RF) trong huyết thanh người có thể phản ứng với immunoglobulins thuốc thử, gây nhiễu với xét nghiệm miễn dịch in vitro. Có thể yêu cầu thêm thông tin cho chẩn đoán.
- Thuốc có chứa Vitamin K có thể dẫn đến kết quả bị lệch âm tính đến giá trị (PIVKA-II). Giá trị PIVKA-II có thể cho giá trị lệch dương tính khi người

bệnh được điều trị bằng thuốc kháng sinh, thuốc đối kháng vitamin K, tình trạng dinh dưỡng ít vitamin K, người bệnh bị bệnh gan do sử dụng chất cồn.

- **Các chất có nguy cơ gây nhiễm**

Dữ liệu từ nghiên cứu cơ chất có ảnh hưởng nhiều được tóm tắt tại bảng sau.

ĐỊNH LƯỢNG PYRILINKS-D

I. NGUYÊN LÝ

Khoảng 90% chất nền hữu cơ của xương là collagen loại 1, một protein có cấu trúc xoắn ba. Collagen loại 1 của xương được liên kết chéo bởi các phân tử đặc trưng tạo nên độ bền và độ chặt cho protein này. Các liên kết chéo của collagen loại 1 trưởng thành trong xương là liên kết chéo pyridinium, pyridinoline (PYD) và deoxypyridinoline (DPD). DPD được tạo thành nhờ tác động enzym của lysyl oxidase lên amino acid lysine. DPD được giải phóng vào tuần hoàn trong quá trình tiêu xương. DPD được bài tiết dưới dạng không bị chuyển hóa vào nước tiểu và không bị ảnh hưởng bởi chế độ ăn, đặc điểm này khiến DPD phù hợp để đánh giá tình trạng tiêu xương. Xét nghiệm Ppyrilinks-D để theo dõi các thay đổi về bài tiết DPD trong nước tiểu liên quan đến liệu pháp chống tiêu xương bằng amino-bisphosphonate (alendronate). Kết quả từ nghiên cứu này cho thấy xét nghiệm Ppyrilinks-D an toàn và hiệu quả để theo dõi tác dụng chống tiêu xương của liệu pháp aminobisphosphonate (alendronate) ở những đối tượng được chẩn đoán bị loãng xương.

Nguyên lý xét nghiệm: miễn dịch cạnh tranh hóa phát quang pha rắn, đánh dấu enzym. Pha rắn (hạt) được bọc kháng thể đơn dòng của chuột kháng deoxypyridinoline (kháng thể kháng DPD). Pha lỏng chứa photphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với deoxypyridinoline (DPD).

Mẫu bệnh phẩm và thuốc thử được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong thời gian này, DPD trong mẫu cạnh tranh với DPD được liên hợp với enzym trong thuốc thử để giành một số lượng có giới hạn các vị trí gắn kháng thể trên hạt. Sau đó, mẫu của người bệnh không liên kết và liên hợp enzyme được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào đơn vị xét nghiệm có chứa hạt và tín hiệu được sinh ra tỷ lệ với enzym liên kết.

Chu kỳ ủ: 1 × 30 phút

Thời gian đến khi đạt kết quả đầu tiên: 42 phút

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy immulite 1000 tự động.

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy phân tích: IMMULITE®/IMMULITE 1000 Ppyrilinks-D,...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm

- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipep các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cotton sát trùng, găng tay,...

2.2. Hoá chất

Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc

- Đơn vị xét nghiệm Pyrilinks-D (LPD1)

Mỗi đơn vị được đánh dấu bằng mã vạch chứa một hạt được bọc bằng kháng thể đơn dòng của chuột kháng DPD. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

LKPD1: 100 đơn vị

- Hộp thuốc thử hình nôm Pyrilinks-D (LPD2)

Có mã vạch. 7,5 mL photphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với DPD trong dung dịch đệm, có chất bảo quản. Bảo quản trong điều kiện đóng nắp và lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Khuyến cáo sử dụng trong vòng 30 ngày sau khi mở khi được bảo quản đúng quy định.

LKPD1: 2 hộp hình nôm

Các chất điều chỉnh Pyrilinks-D (LPDL, LPDH)

- Hai lọ (nồng độ Thấp và nồng độ Cao), mỗi lọ 3 mL, DPD trong chất nền phosphoric acid. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết tách) ở -20°C.

LKPD1: 1 bộ

Các thành phần của bộ dụng cụ được cung cấp riêng

Chất pha loãng mẫu Pyrilinks-D (LPDZ)

Để pha loãng các mẫu của người bệnh theo cách thủ công. Một lọ chứa 25 mL chất nền phosphoric acid không có DPD. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc thời gian dài hơn (được chiết tách) ở -20°C.

LSUBX: Cơ chất hóa phát quang

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm nước tiểu không có chất bảo quản: lấy mẫu đầu tiên hoặc thứ hai buổi sáng, trước 10 giờ sáng để tránh bất kỳ khả năng ảnh hưởng nào từ biến thiên trong ngày. Mẫu nước tiểu có chứa bilirubin hoặc hemoglobin không phù hợp để sử dụng. Cả hai chất này đều làm tăng DPD biểu kiến.

Bảo quản mẫu: mẫu lưu 7 ngày ở 2–8°C; thời gian dài hơn nếu được làm đông ở -20°C. Tránh lặp lại nhiều lần các chu kỳ đông đá/rã đông và tiếp xúc kéo dài với ánh sáng mặt trời.

- Trước khi xét nghiệm, để mẫu đạt đến nhiệt độ phòng (15–28°C). Sau khi làm lạnh hoặc làm đông và rã đông, hay nếu có vẩn đục, cần làm trong mẫu bằng cách ly tâm trước khi sử dụng. Tách riêng phần nước tiểu phía trên khỏi cặn lắng và trộn bằng cách lắc hoặc đảo đi đảo lại nhẹ nhàng.

- Khi theo dõi liệu pháp, mẫu ban đầu và tất cả các mẫu tiếp theo nên được lấy vào cùng một thời điểm trong ngày. Không trao đổi giữa lần đi tiểu đầu tiên và lần đi tiểu thứ hai vào buổi sáng.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Pyrilinks-D. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Pyrilinks-D. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Pyrilinks-D đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

Lưu ý rằng để có hiệu suất tối ưu, điều quan trọng là cần phải thực hiện tất cả các quy trình bảo dưỡng định kỳ theo quy định trong Sổ tay hướng dẫn vận hành hệ thống IMMULITE hoặc IMMULITE 1000.

Xem thêm trong Sổ tay hướng dẫn vận hành hệ thống IMMULITE hoặc IMMULITE 1000 để biết các quy trình chuẩn bị, thiết lập, pha loãng, điều chỉnh, xét nghiệm và kiểm soát chất lượng.

Khoảng điều chỉnh được khuyến nghị: 4 tuần

Kiểm soát chất lượng: Sử dụng IQC hàng ngày với ít nhất là hai mức cho DPD.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Biện luận kết quả:

Để hiệu chỉnh các biến thiên trong dòng nước tiểu, các kết quả DPD phải được chuẩn hóa theo nồng độ creatinine trong nước tiểu và được thể hiện theo nanomol DPD trên lít chia cho millimol creatinine trên lít (nM DPD/mM creatinine).

Hệ số chuyển đổi:

Creatinine mg/dL \times 0,088 \rightarrow mmol/L creatinine

Giá trị dự kiến

Các khoảng tham chiếu sau đây dành cho DPD trong nước tiểu (được chuẩn hóa theo nồng độ creatinine) đã được thiết lập cho người trưởng thành trên 25 tuổi bằng một xét nghiệm miễn dịch enzym cho Ppyrilinks®-D từ Metra Biosystems, Inc:

Nữ: 3,0–7,4 nM DPD/mM creatinin

Nam: 2,3–5,4 nM DPD/mM creatinin

Chỉ xem các giới hạn này là tham khảo. Mỗi phòng xét nghiệm cần phải thiết lập phạm vi tham chiếu của riêng mình.

Xét nghiệm Ppyrilinks-D để theo dõi các thay đổi về bài tiết DPD trong nước tiểu liên quan đến liệu pháp chống tiêu xương bằng amino-bisphosphonate (alendronate).

V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Mặc dù IMMULITE/IMMULITE 1000 Ppyrilinks-D đóng vai trò chỉ báo tình trạng tiêu xương, nhưng vai trò của xét nghiệm này trong việc dự đoán sự phát triển của loãng xương hoặc rủi ro gãy xương trong tương lai chưa được thiết lập, cũng như chưa thiết lập được cách sử dụng trong bệnh cường tuyến cận giáp, hoặc cường giáp.
- Khi theo dõi liệu pháp, kết quả xét nghiệm IMMULITE/IMMULITE 1000 Ppyrilinks-D có thể bị nhầm lẫn ở các người bệnh mắc các tình trạng lâm sàng được biết là ảnh hưởng đến quá trình tiêu xương, ví dụ: di căn xương, ngoài các bệnh và tình trạng nêu ở trên. Kết quả DPD phải được diễn giải kết hợp với các phát hiện lâm sàng và kết quả chẩn đoán khác và không nên là yếu tố quyết định duy nhất để bắt đầu hay thay đổi liệu pháp.

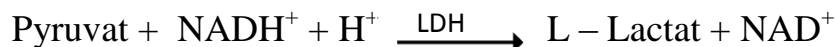
ĐỊNH LƯỢNG PYRUVAT

I. NGUYÊN LÝ

Pyruvat là một chất chuyển hóa trung gian, đóng vai trò quan trọng trong việc liên kết quá trình chuyển hóa carbohydrat và amino acid thành chu trình axit tricarboxylic, quá trình beta oxy hóa beta acid béo, và phức hợp chuỗi hô hấp tế bào. Xét nghiệm pyruvate trong máu được thực hiện để xác nhận rối loạn chuyển hóa ty thể và giúp theo dõi hiệu quả điều trị rối loạn chuyển hóa ty thể.

Dưới sự có mặt của enzym Lactat Dehydrogenase (LDH), Pyruvat và NADH^+ được chuyển thành L – Lactat và NAD^+ . Sự oxy hóa của NADH^+ thành NAD^+ làm giảm mật độ quang học ở bước sóng 340 nm.

Lượng Pyruvat có trong bệnh phẩm tỷ lệ với sự thay đổi mật độ quang học (ΔA)



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy bán tự động Screen Master 3000
- Máy ly tâm

2.2. Hóa chất:

- Thuốc thử Pyruvat
- Chuẩn
- Nước cất

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Hút 2mL máu toàn phần vào một ống ly tâm chứa 4 mL acid Perchloric 0.6 M lạnh. Lắc khoảng 30 giây.
- Để máu lắng xuống trong khoảng 5 phút ở nhiệt độ 4 – 8⁰C để protein kết tủa. Ly tâm ống máu trong 10 phút với tốc độ 1500 x g. Dịch nổi lên trên không còn protein được sử dụng để làm xét nghiệm
- Dung dịch chuẩn được pha loãng với Perchloric cùng tỷ lệ với bệnh phẩm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Phương pháp: Đo điểm cuối. Bước sóng: 340 nm
- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng pyruvat máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm pyruvat. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm pyruvat đạt yêu cầu, không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giới hạn bình thường ở nhiệt độ 37⁰C :

Trẻ em:	0.1 – 0.75 mg/dl	hoặc	11 – 86 μmol/l
Người lớn:	0.36 – 0.6 mg/dl	hoặc	41 - 67 μmol/l

Xét nghiệm pyruvat thường thực hiện kèm với lactate máu. Tỷ lệ lactat/pyruvat thấp (tăng pyruvat không cân xứng) ở người bệnh bị rối loạn chuyển hóa pyruvat do di truyền. Bất thường của phức hợp pyruvate dehydrogenase dẫn đến tỷ lệ lactat/pyruvat dưới 10.

Tỷ lệ lactate/pyruvat bình thường ở những người bệnh khác. Có thể tìm thấy một tỷ lệ cao giả tạo nếu người bệnh bị bệnh nặng.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không để garo lâu quá, sau khi lấy máu tĩnh mạch phải khử tạp ngay vì để lâu một phần pyruvat sẽ chuyển sang lactat gây sai số thấp.

ĐỊNH LƯỢNG QUINIDINE MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Quinidine được sử dụng trong phòng và điều trị loạn nhịp thất, loạn nhịp nhĩ thất, và loạn nhịp trên thất. Khoảng 75% quinidine gắn với protein huyết thanh. Thời gian bán thải của quinidine thay đổi từ 4 đến 10 giờ ở người khỏe mạnh và có thể kéo dài ở người lớn tuổi. Từ 60 đến 80% được chuyển hóa bởi gan với phần lớn phần còn lại được thải trừ qua thận ở dạng không đổi. Liều quinidine cần thiết để đạt nồng độ trị liệu trong huyết thanh phụ thuộc vào dạng bào chế thuốc, tuổi của người bệnh, và sự khác biệt trong hấp thu và chuyển hóa của mỗi cá nhân.

Xét nghiệm này là một xét nghiệm miễn dịch đồng nhất dựa trên nguyên lý đo sự thay đổi ánh sáng tán xạ hay hấp thụ xảy ra khi các vi hạt đã hoạt hóa ngưng kết lại. Các vi hạt được phủ quinidine và nhanh chóng ngưng kết trong dung dịch có chứa kháng thể kháng quinidine. Khi mẫu thử có chứa quinidine, phản ứng ngưng kết bị ức chế một phần, làm giảm tốc độ của quá trình ngưng kết. Kháng thể gắn với thuốc trong mẫu thử không còn khả năng thúc đẩy hình thành vi hạt ngưng kết, ức chế sự hình thành lưới hạt. Từ đó, một đường cong ức chế điển hình tương ứng với nồng độ quinidine sẽ được ghi nhận, với tốc độ ngưng kết tối đa ứng với nồng độ quinidine thấp nhất. Bằng cách theo dõi sự thay đổi ánh sáng tán xạ hay hấp thụ sẽ ghi được một đường cong phụ thuộc nồng độ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

Phương tiện

- Máy có thể phân tích: COBAS C, AU...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

Hoá chất

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng quinidine. Chất chuẩn, Chất kiểm tra chất lượng quinidine.

3. Người bệnh:

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (K2, K3- EDTA, hoặc natri hay lithium heparin) để thực hiện xét nghiệm này. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là K2, K3- EDTA, hoặc natri hay lithium heparin. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Bệnh phẩm ổn định: 8 giờ ở 15- 25 °C, 48 giờ ở 2- 8 °C, 4 tuần ở -20 °C. Không rã đông nhiều lần

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm quinidine. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm quinidine. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm quinidine đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Nồng độ quinidine trong huyết thanh là 1.5 đến 5 µg/mL (4.6 đến 15.4 µmol/L) là có tác dụng trị liệu. Tuy nhiên, hiệu quả làm giảm các cơn co thắt tâm thất sớm đã được báo cáo với nồng độ trong máu <1.0 µg/mL (3.1 µmol/L). Ngưỡng độc tính ở nồng độ 6 µg/mL (18.5 µmol/L). Các biểu hiện ngộ độc bao gồm nhịp nhanh thất, chẹn tim, giảm tiểu cầu và “hội chứng quá liều quinine” bao gồm các triệu chứng đau đầu, chóng mặt, ù tai, bồn chồn, mờ mắt, buồn nôn và nôn.

Nồng độ quinidine đo được thấp hơn khi sử dụng các phương pháp xét nghiệm đặc hiệu (HPLC và xét nghiệm miễn dịch). Bác sĩ lâm sàng khi muốn định lượng quinidine trong huyết thanh nên yêu cầu sử dụng phương pháp đặc hiệu.

Các chất chuyển hóa của quinidine có thể tìm thấy trong huyết thanh là 3(S)-hydroxyquinidine, 2'-oxoquinidinone, quinidine-N-oxide, o-desmethylquinidine, và quinidine 10,11- dihydrodiols. Hầu hết các chất chuyển hóa này có tác dụng dược lý trong một số nghiên cứu trên người và động vật, và một số chất chuyển hóa của quinidine có thể có hiệu lực như thuốc gốc. Do sự khác biệt trong chuyển hóa ở từng

người bệnh, nên tỷ lệ tương đối các chất chuyển hóa này được báo cáo trong y văn cũng khác nhau. Mẫu thử huyết thanh chứa quinidine cũng có thể chứa cả dihydroquinidine, một chất tương tự có trong chế phẩm quinidine với tỷ lệ 5 đến 10 % liều. Dihydroquinidine có hoạt tính chống loạn nhịp tương đương quinidine. Những báo cáo gần đây cho rằng nồng độ digoxin trong huyết tương tăng lên khi dùng chung với quinidine. Do vậy, những người bệnh được điều trị phối hợp thuốc cần được theo dõi cẩn thận.

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Huyết thanh vàng: Không có nhiều đáng kể với nồng độ bilirubin khoảng: 855 $\mu\text{mol/L}$ hoặc 50 mg/dL.

Tán huyết: Không có nhiều đáng kể với nồng độ hemoglobin: 621 $\mu\text{mol/L}$ hoặc 1000 mg/dL.

Trong một số trường hợp, các mẫu có nồng độ cao triglyceride (ví dụ gần 800 mg/dL hoặc 9,04 mmol/L) có thể gây nhiễu.

Yếu tố dạng thấp: Không có nhiều bởi các yếu tố thấp khớp với nồng độ tối đa đến 100 IU/mL.

Protein toàn phần: Không có nhiều từ protein từ 20- 100 g/L.

Trong một số hiếm trường hợp, bệnh gammaglobulin, đặc biệt tít IgM (bệnh tăng macroglobulin Waldenström), có thể cho kết quả không đáng tin cậy. Do vậy, với mục tiêu chẩn đoán, kết quả xét nghiệm cần được đánh giá kèm theo bệnh sử, thăm khám lâm sàng và các yếu tố khác.

ĐỊNH LƯỢNG RBP (RETINOL-BINDING PROTEIN) MÁU

BẢNG VIẾT TẮT:

RETINOL-BINDING PROTEIN (RbP): protein vận chuyển retinol

TỔNG QUAN:

RbP được tổng hợp tại gan và là một protein vận chuyển cho retinol (vitamin A). Nồng độ RbP trong huyết thanh và huyết tương phản ánh khả năng tổng hợp của gan và giảm mạnh trong trường hợp dinh dưỡng kém và các điều kiện khác. Do chu kỳ bán rã ngắn (12 giờ), RbP có thể thích hợp cho theo dõi tình trạng dinh dưỡng và hiệu quả của dinh dưỡng ngoài đường tiêu hóa.

I. NGUYÊN LÝ

Protein trong các dịch cơ thể phản ứng hóa miễn dịch với kháng thể đặc hiệu tạo thành phức thể miễn nhiễm. Các phức này phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của protein tương ứng trong mẫu. Kết quả được đánh giá bằng cách so sánh với chuẩn đã biết nồng độ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

2.2. Hoá chất

- Hóa chất dùng để phân tích

Là huyết thanh động vật được sản xuất bởi sự tạo miễn dịch thỏ với RbP người độ tinh khiết cao. Nồng độ kháng thể hoạt động < 0.5 g/L

Chất bảo quản: sodium azide < 1 g/L

Đóng gói: Hóa chất sẵn sàng cho sử dụng, 1 x 2 mL

Bảo quản và độ ổn định

Ổn định ở 2 đến 8 °C: đến ngày hết hạn trên nhãn hộp thuốc

Độ ổn định sau khi mở hộp thuốc: 4 tuần nếu được lưu trữ tại 2-8°C, được đậy nắp kín ngay sau mỗi lần sử dụng và không bị nhiễm (e.g., vi sinh vật).

Trong thời gian bảo quản, thuốc thử có thể bị tủa hoặc đục nhưng không phải do bị nhiễm vi sinh vật và vì thế sẽ không ảnh hưởng đến độ hoạt động của thuốc. Trong

trường hợp đó, thuốc thử cần được lọc trước khi sử dụng. Màng lọc thích hợp có kích thước lỗ 0.45 µm.

Không được để đông.

Độ ổn định trên máy: Ít nhất là 3 ngày với mỗi 8 tiếng/ ngày, hoặc khoảng thời gian tương ứng.

Ghi chú: Độ ổn định trên máy có thể thay đổi, tùy thuộc vào máy BN sử dụng và điều kiện phòng xét nghiệm. Để biết thêm thông tin chi tiết, tham khảo thêm hướng dẫn sử dụng của máy BN ProSpec®

- Chất chuẩn:
 - N Protein Standard SL (người)
 - N/T Protein Controls SL/L, M và H (người)
 - N Reaction Buffer
 - N Diluent
 - N Supplementary Reagent/Precipitation

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu thích hợp là mẫu huyết thanh và huyết tương heparin, mẫu càng mới càng tốt (lưu tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày) hoặc mẫu được trữ đông. Mẫu có thể được lưu dưới -20 °C đến 3 tháng, nếu mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và cần tránh chu trình kết đông-xả đông. Mẫu huyết thanh phải được đông lại hoàn toàn và, sau khi ly tâm, không được chứa hạt nào hoặc dấu vết của fibrin. Mẫu máu nhiễm mỡ bị đục sau khi đã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15,000 x g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Cách vận hành

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm RbP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm RbP.

Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm RbP đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

2.2. Thành lập đường cong hiệu chuẩn

Đường cong hiệu chuẩn được thành lập bởi hiệu chuẩn nhiều điểm. Một chuỗi các pha loãng của N Protein Standard SL được thực hiện tự động bởi máy sử dụng N Diluent. Các chất hiệu chuẩn pha loãng này được sử dụng trong vòng 4 giờ. Đường chuẩn này có hiệu lực khi chất kiểm chuẩn, như N/T Protein Controls SL/L, M và H, được lặp lại trong khoảng tin cậy tương ứng. Cần thiết lập đường chuẩn mới khi một lô thuốc thử mới được sử dụng.

2.3. Mẫu xét nghiệm

Mẫu được pha loãng tự động 1:5 với N Diluent. Mẫu pha loãng cần được đo trong vòng 4 giờ. Nếu kết quả thu được nằm ngoài khoảng đo, cần chạy lại mẫu với độ pha loãng cao hơn.

2.4. Nội kiểm

Chạy N/T Protein Controls SL/L, M và H sau khi thiết lập mỗi đường cong hiệu chuẩn, trước lần sử dụng đầu tiên của một lọ thuốc thử cũng như với mỗi lần chạy các mẫu huyết thanh và huyết tương. Chất kiểm chuẩn cũng được thực hiện và đánh giá kết quả tương tự như mẫu người bệnh.

Cần tuân theo các qui định hiện hành hoặc các yêu cầu về quản lý chất lượng cho tần suất chạy nội kiểm. Cần thực hiện lại nếu một kết quả của kiểm chuẩn nằm ngoài khoảng tin cậy. Nếu kết quả chạy lại xác nhận sự sai lệch, cần thiết lập một đường chuẩn mới. Không báo cáo kết quả khi nguyên nhân của sự sai lệch chưa được xác định và hiệu chỉnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Đánh giá được thực hiện tự động theo g / L hoặc trong một đơn vị được người sử dụng lựa chọn trên hệ thống BN.

Khoảng tham chiếu:

Khoảng tham chiếu áp dụng cho mẫu huyết thanh và huyết tương người khỏe mạnh:

RbP: 0.03 - 0.06 g/L

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi nồng độ triglycerid ≤ 4.6 g/L, bilirubin ≤ 0.6 g/L và hemoglobin tự do ≤ 10 g/L.

- Xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi các loại thuốc thông thường.
- Mẫu bệnh phẩm đực có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm, do vậy mẫu cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm bằng cách ly tâm (10 phút tại 15,000 x g).

Nhận định kết quả xét nghiệm luôn cần được giải thích kết hợp cùng với tiền sử bệnh lý và biểu hiện lâm sàng trên người bệnh

ĐỊNH LƯỢNG RENIN MÁU BẰNG KỸ THUẬT ELISA

I. NGUYÊN LÝ

Renin được định lượng bằng kỹ thuật ELISA kiểu sandwich .

Kháng thể đơn dòng của chuột đặc hiệu với rennin được phủ trên đĩa 96 giếng. Các dung dịch chuẩn và mẫu thử được thêm vào các giếng, kháng thể đa dòng của dê kháng rennin gắn với biotin được thêm vào; tiếp theo là rửa bởi đệm muối phosphate. Phức hợp avidin-biotin-peroxidase được thêm vào, các thành phần không gắn bị loại bỏ bằng rửa bởi đệm muối phosphate. Cơ chất TMB được thêm vào, peroxidase xúc tác chuyển TMB thành sản phẩm màu xanh da trời. Khi cho dung dịch acid để dừng phản ứng, màu chuyển sang vàng. Độ đậm màu vàng tỷ lệ thuận với nồng độ rennin trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

- Hệ thống ELISA (máy ủ, máy rửa và máy đọc).
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu
- Kit định lượng rennin
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 1,2)
- Pipet
- Ống nghiệm
- Nước cất

3. Người bệnh: Người bệnh và gười nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh, huyết tương chống đông EDTA hoặc heparin.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.

- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24h, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Ly tâm ống máu trong 15 phút với vận tốc 1500xg / phút.
- Tách huyết thanh/ huyết tương.
- Tiến hành các bước kỹ thuật theo quy trình của nhà sản xuất
- Tính kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích dựa vào các dung dịch chuẩn.
- Kiểm soát chất lượng:

Chạy các mức QC mỗi khi thực hiện xét nghiệm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu QC nằm trong khoảng cho phép.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

Giá trị tham chiếu:

Loại mẫu	Trung bình (pg/mL)	Khoảng tham chiếu (pg/mL)	Độ lệch chuẩn (pg/mL)
Huyết thanh	776	232- 1892	374
Huyết tương EDTA	726	201- 1852	365
Huyết tương heparin	680	179- 1760	349

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Định lượng renin có ý nghĩa quan trọng trong đánh giá các người bệnh tăng huyết áp. Đặc biệt việc định lượng rennin giúp chẩn đoán bệnh tăng huyết áp do cường aldosteron tiên phát (55-13% các trường hợp tăng huyết áp) và hỗ trợ điều trị và theo dõi các dạng tăng huyết áp khác.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

ĐỊNH LƯỢNG RENIN MÁU THEO KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG

I. NGUYÊN LÝ

Renin có trọng lượng phân tử khoảng 42 kDa, chủ yếu được tổng hợp bởi các tế bào cận cầu thận (juxtaglomerular cell) và được lưu trữ ở dạng hạt như prorenin (tiền renin) và renin. Nó được sản xuất để đáp ứng với các tình trạng của cơ thể như thể tích máu và huyết áp giảm, giảm nồng độ natri...

Renin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ miễn dịch hóa phát quang (CLIA - Chemiluminescence Immunoassay).

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy móc: LIAISON...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng Renin, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng

Renin.

3. Người bệnh: Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Chỉ dùng mẫu huyết tương EDTA trong xét nghiệm định lượng Renin. Nếu sử dụng huyết thanh, huyết tương heparin và huyết tương citrate sẽ làm giá trị renin thấp hơn.

Cần thận trọng trong quá trình chuẩn bị và lấy mẫu bệnh phẩm để có kết quả định lượng Renin tin cậy:

Nhịn ăn trước khi lấy máu được khuyến khích nhưng không bắt buộc.

Mẫu được lấy trong khoảng từ 07:00 đến 10:00 sáng, người bệnh ở tư thế hoặc đứng thẳng hoặc nằm ngửa ít nhất được 30 phút.

Lấy máu tĩnh mạch ở nhiệt độ phòng rồi cho vào ống có chứa chất chống đông EDTA. Ghi lại thời gian lấy máu trong ngày và tư thế của người bệnh trong quá trình lấy máu (nằm ngửa, đứng thẳng).

Ông máu không cần làm lạnh chỉ cần để ở nhiệt độ phòng. Nếu mẫu được làm lạnh đến nhiệt độ 4 ° C hoặc thấp hơn (nhưng không đông) trong thời gian dài và khi mẫu được ướp lạnh nhưng không đông lạnh thì prorenin bị kích hoạt để tạo ra renin làm sai lệch kết quả xét nghiệm.

Ly tâm ông máu với máy ly tâm thường 4000 vòng/5 phút (không phải ly tâm lạnh), sau đó tách huyết tương (Thể tích tối thiểu cho 1 xét nghiệm là 505 μ L huyết tương). Cần phân tích mẫu ngay, nếu với bất cứ lý do gì mà việc phân tích mẫu không thực hiện được ngay thì cần làm đông sâu mẫu ở -20 ° C hoặc thấp hơn ngay lập tức.

Cần thận rã đông trước khi xét nghiệm, kiểm tra và loại bỏ các bọt khí trước khi xét nghiệm. Nên thực hiện việc định lượng Renin ngay sau khi đã rã đông và nạp mẫu vào máy. Chỉ rã đông 1 lần.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Renin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Renin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Renin đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Giá trị tham chiếu của Renin áp dụng cho các đối tượng:

Người lớn từ 18- 65 tuổi, có huyết áp bình thường và mức đường huyết lúc đói bình thường. Không áp dụng cho người dưới 18 tuổi; có chế độ ăn uống hạn chế; mang thai; cho con bú; sử dụng thuốc tránh thai.

Giá trị tham chiếu : Tư thế đứng 4,4 - 46,1 μ IU/ mL

Tư thế nằm 2,8 - 39,9 μ IU / mL

Nồng độ Renin thay đổi trong các trường hợp sau

+ Nồng độ Renin tăng:

- Tăng Aldosterone thứ phát
- Bệnh Addison

- Nồng độ natri trong máu thấp
- Suy thận mãn tính
- Mất muối do bệnh đường tiêu hóa
- Khô u thận sản xuất Renin
- Hẹp động mạch thận
- Hạ kali máu
- Hội chứng Bartter (nồng độ renin cao mà không có tăng huyết áp).

+ Nồng độ Renin giảm:

- Tăng Aldosterone nguyên phát
- Giữ muối do điều trị steroid
- Điều trị bằng Vasopressin (ADH).
- Tăng sản thượng thận bẩm sinh do thiếu 17-hydroxylase

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Lấy máu không đúng kỹ thuật như gây vỡ hồng cầu. Khắc phục: Huấn luyện cán bộ có kỹ năng lấy máu thuần thục.

- Luôn nhớ không làm lạnh mẫu trừ khi đông sâu mẫu ngay.

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Các nghiên cứu về khả năng ảnh hưởng của các yếu tố nhiễu cho thấy việc thực hiện xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi nồng độ bilirubin lên đến 20 mg/dL, hemoglobin lên đến 1000 mg/dL hoặc triglycerides lên đến 3000 mg/dL.

Phản ứng chéo: Sự hiện diện của các phân tử có khả năng phản ứng chéo sau đây gây nhiễu trong xét nghiệm

Thành phần	Nồng độ lên đến ($\mu\text{g/mL}$)	% Phản ứng chéo
Beta2-microglobulin	50	- 7,0
Cathepsin D	1,5	- 6,9
Trypsin	1,6	- 4,2
Plasmin	100	0,8

Bất cứ khi nào mẫu có chứa nồng độ cao chất cần phân tích đều có thể bị ảnh hưởng của hiệu ứng Hook khiến nồng độ có thể thấp hơn so với thực tế. Không có hiệu ứng Hook khi nồng độ Renin lên đến tối đa là 150.000 $\mu\text{IU} / \text{mL}$.

ĐỊNH LƯỢNG SAA (SERUM AMYLOID A) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

SAA là một protein giai đoạn cấp tính trong đáp ứng viêm, nhiễm trùng cũng như các quá trình không viêm nhiễm, nồng độ trong máu tăng mạnh trong vòng vài giờ sau bị bệnh. Mức tăng nồng độ có thể đạt tới 1000 lần nồng độ ban đầu. SAA kết hợp với lipoprotein tỉ trọng cao (HDL) và có thể làm thay đổi sự trao đổi chất của chúng trong suốt quá trình viêm. Một điều đặc biệt quan trọng của SAA là sản phẩm thoái hóa của chính nó có thể tích tụ tại nhiều cơ quan khác nhau như các vi sợi Amyloid A (AA), gây nên biến chứng nghiêm trọng trong các bệnh viêm mạn tính.

Các hạt polystyrene được phủ kháng thể đặc hiệu kháng SAA người sẽ ngưng kết khi được trộn lẫn với mẫu có chứa SAA. Các hạt ngưng kết này làm phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của protein tương ứng trong mẫu. Kết quả được xác định bằng cách so sánh với một chuẩn đã biết nồng độ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

2.2. Hoá chất

Hóa chất chính định lượng SAA: Đóng gói ở dạng đông khô, 3 x → 2 mL. Khi sử dụng cần hoàn nguyên theo cách: Hoàn nguyên với 2mL nước cất. Thuốc thử có thể được sử dụng sau khi hoàn nguyên 15 phút. Lắc nhẹ trước khi sử dụng lần đầu.

Chất chuẩn: Đóng gói: Dạng đông khô, 3 x → 0.5 mL. Khi sử dụng cần hoàn nguyên theo cách: Hòa tan bột đông khô với 0.5 mL nước cất. Lắc nhẹ nhàng để trộn đều. Có thể sử dụng sau khi hoàn nguyên 60 phút.

Chất kiểm tra chất lượng: Dạng đông khô, 4 x → 0.5 mL. Khi sử dụng cần hoàn nguyên theo cách: Hòa tan bột đông khô với 0.5 mL nước cất. Lắc nhẹ nhàng để trộn đều. Có thể sử dụng sau khi hoàn nguyên 60 phút.

Thuốc thử ổn định ở 2 đến 8 °C cho đến ngày hết hạn trên nhãn hộp thuốc. Sau khi mở hộp thuốc/ hoàn nguyên ổn định trong 4 tuần. Không được để đông.

Độ ổn định trên máy: Ít nhất là 5 ngày với mỗi 8 tiếng/ ngày, hoặc khoảng thời gian tương ứng.

3.Người bệnh:

Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4.Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III.CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1.Lấy bệnh phẩm:

Mẫu thích hợp là mẫu huyết thanh và huyết tương heparin, mẫu càng mới càng tốt.

Chỉ ly tâm tách mẫu huyết thanh khi máu đã đông hoàn toàn và sau khi ly tâm, không được chứa hạt hoặc dấu vết của fibrin. Mẫu máu nhiễm mỡ bị đục sau khi đã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15,000 x g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

Mẫu có thể ổn định tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày. Mẫu có thể được lưu dưới -25 °C đến 3 tháng nếu mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu. Không đông / rã đông nhiều lần.

2.Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm SAA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm SAA. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm SAA đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Với nhóm người có CRP huyết thanh ở mức bình thường (5.0 mg/L) thì giá trị tham chiếu của SAA là 6.4 mg/L.

Giống như Protein phản ứng C (CRP), xác định SAA rất hữu ích trong chẩn đoán các quá trình viêm, đánh giá hoạt động của chúng cũng như theo dõi các quá trình này và cách điều trị. Tuy nhiên, xét nghiệm SAA cho nhiều kết luận hơn so với CRP

ở những người bệnh nhiễm virut, phản ứng thải bỏ với ghép thận (đặc biệt đối với người bệnh suy giảm miễn dịch) cũng như ở người bệnh xơ nang điều trị với corticoids. Trong trường hợp người bệnh viêm khớp, SAA được ghi nhận là có mối tương quan mật thiết với hoạt động của căn bệnh này. Xác định đồng thời hai chỉ số CRP và SAA có thể làm tăng độ nhạy cho chẩn đoán. Đối với người bệnh mắc bệnh thoái hóa dạng tinh bột, tình trạng bệnh có thể được cải thiện bởi liệu pháp giúp đưa mức SAA trở về giá trị bình thường.

Kết quả xét nghiệm luôn cần được giải thích kết hợp cùng với tiền sử bệnh lý, biểu hiện lâm sàng và các ghi nhận khác. Do ảnh hưởng bởi chất nền, các mẫu khảo sát liên phòng xét nghiệm và các mẫu kiểm chuẩn có thể cho kết quả khác so với phương pháp khác. Do đó, cần đánh giá kết quả trong mối tương quan với giá trị mục tiêu cụ thể của phương pháp.

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi nồng độ triglycerides lên đến 20 g/L, bilirubin 0.6 g/L và hemoglobin tự do đến 10 g/L.

Sự đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm.

Không sử dụng các mẫu máu bị đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15,000 x g).

ĐỊNH LƯỢNG SALICYLATE

TỔNG QUAN:

Salicylate và các dẫn xuất của nó thuộc nhóm thuốc chống viêm giảm đau được sử dụng khá rộng rãi trên lâm sàng. Việc sử dụng với liều lượng lớn và dùng cho trẻ nhỏ có thể gây ngộ độc. Ngộ độc salicylate có thể gây rối loạn hệ thống thần kinh trung ương, hệ thống tiêu hóa dạ dày, ruột hay suy thận. Quá liều salicylate là một cấp cứu nội khoa và cần thiết phải xác định nhanh, kịp thời nồng độ salicylate trong máu

I. NGUYÊN LÝ

Phương pháp enzymatic

Salicylate hydroxylase xúc tác quá trình chuyển salicylate và NADH thành catechol và NAD^+ với sự tham gia của oxy ở bước sóng 340 nm. Sự giảm nồng độ NADH thành NAD liên quan trực tiếp với nồng độ salicylate trong bệnh phẩm

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

- 1 cán bộ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả;
- 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

2. Phương tiện và hóa chất:

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

2.2. Hóa chất:

- Hóa chất định lượng salicylate
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống

3. Người bệnh: cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch. Ly tâm 3000 vòng/ phút trong 5 phút, tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương. Huyết thanh hoặc huyết tương có thể lưu giữ 14 ngày ở nhiệt độ 4-8 °C, 6 tháng ở -20°C

2. Tiến hành kỹ thuật

- KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG: việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
- Liều điều trị: 15-30 mg/dL (1.09-2.17 mmol/L)

Liều ngộ độc: > 30 mg/dL (> 2.17 mmol/L)

Gây tử vong: > 70 mg/dL (> 5.07 mmol/L)

- Phục vụ mục đích chẩn đoán, kết quả còn được dựa trên tiền sử sử dụng thuốc của người bệnh, các thăm khám lâm sàng và cận lâm sàng khác

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Tuyến tính từ 5.0-100.0 mg/dL
- Với các trường hợp huyết thanh vàng, vỡ hồng cầu hay đục, kết quả có thể giảm 7.5%

ĐỊNH LƯỢNG SẢN PHẨM CHUYỂN HÓA CỦA NICOTINE

I. NGUYÊN LÝ

Việc phát hiện hút thuốc bằng cách định lượng các chất chuyển hóa của nicotine như cotinine hay được sử dụng hơn định lượng các chất khác như carboxyhemoglobin hoặc thiocyanate. Lý do một phần là vì cotinine và các chất chuyển hóa khác của nicotine là đặc trưng cho thuốc lá, trong khi carboxyhemoglobin và thiocyanate có thể là kết quả của việc tiếp xúc với các yếu tố môi trường khác. Hơn nữa, cotinine và các chất chuyển hóa khác của nicotine có thời gian bán thải trong máu lâu hơn 10 giờ, trong khi bản thân nicotine và carboxyhemoglobin có thời gian bán thải ngắn hơn nhiều.

Các sản phẩm chuyển hóa của Nicotine được định lượng theo nguyên lý xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang cạnh tranh.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: IMMULITE 1000 và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

2.2. Hoá chất

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng các sản phẩm chuyển hóa của nicotin. Chất chuẩn, Chất kiểm tra chất lượng các sản phẩm chuyển hóa của nicotin.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người, người nhà người bệnh bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Bệnh phẩm dùng cho xét nghiệm định lượng các sản phẩm chuyển hóa của nicotin có thể là huyết thanh hoặc nước tiểu.

- **Huyết thanh:** Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông. Sau đó ly tâm 4000 vòng/ 5 phút để tách lấy huyết thanh. Chỉ ly tâm tách huyết thanh khi đã hình thành cục máu đông. Ly tâm các mẫu huyết thanh trước khi hình thành cục máu đông hoàn toàn có thể dẫn đến sự xuất hiện tơ huyết.

- **Nước tiểu:** Không sử dụng chất bảo quản khi lấy mẫu nước tiểu. Nước tiểu phải được làm trong bằng cách lọc hoặc ly tâm trước khi sử dụng. Tách riêng phần nước tiểu phía trên khỏi cặn lắng và trộn bằng cách lắc nhẹ.

Pha loãng mẫu nước tiểu: Các mẫu nước tiểu dương tính phải được pha loãng thủ công theo tỷ lệ 1/41 bằng Multi-Diluent 2, ví dụ: thêm 25 μ L mẫu nước tiểu vào 1,0 mL chất pha loãng đã được pha loãng trước (Để pha loãng các mẫu nước tiểu dương tính theo cách thủ công. Sử dụng lọ chứa chất nền dung dịch đậm/protein không phải của người, đậm đặc (2,5 lần), có chất bảo quản. Trước khi sử dụng, pha loãng dung dịch đậm đặc theo tỷ lệ 1/2,5 bằng nước cất, ví dụ: thêm 1 phần chất pha loãng đậm đặc vào 1,5 phần nước cất).

Kết quả của mẫu đã pha loãng phải được nhân với hệ số pha loãng để thu được nồng độ cotinine cuối cùng.

Bảo quản: 30 ngày ở 2–8°C. Để bảo quản lâu hơn, đông đá ở -20°C. Tránh lặp lại nhiều lần các chu kỳ đông đá/rã đông.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm nicotine metabolite. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm nicotine metabolite. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm nicotine metabolite đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

Huyết thanh ≥ 25 ng/mL, Nước tiểu ≥ 500 ng/mL có thể được sử dụng để phân biệt người hút thuốc lá với người không hút thuốc lá.

Đối với mục đích chẩn đoán, các kết quả có được từ xét nghiệm này cần được sử dụng kết hợp với thăm khám lâm sàng, bệnh sử của người bệnh và các phát hiện khác.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Ly tâm các mẫu huyết thanh trước khi hình thành cục máu đông hoàn toàn có thể dẫn đến sự xuất hiện tơ huyết. Để ngăn ngừa trường hợp kết quả sai do sự xuất hiện tơ huyết, hãy đảm bảo quá trình hình thành cục máu đông hoàn toàn đã diễn ra trước khi ly tâm các mẫu. Một số mẫu, đặc biệt là các mẫu từ người bệnh được điều trị bằng thuốc chống đông máu, có thể cần có thời gian lâu hơn để máu đông.

Việc sử dụng một máy siêu ly tâm được khuyến nghị để loại bỏ các mẫu có tăng lipid huyết.

Các mẫu bị tan huyết không được sử dụng và yêu cầu lấy lại bằng mẫu khác.

Ổng thu thập máu của các nhà sản xuất khác nhau có thể cho ra những giá trị khác nhau, tùy thuộc vào vật liệu và phụ gia, bao gồm gel hoặc các rào cản vật lý, chất hoạt hóa đông máu và/hoặc thuốc chống đông máu.

- Kháng thể dị ái trong huyết thanh người có thể phản ứng với các globulin miễn dịch có trong các thành phần của xét nghiệm gây nhiễu các xét nghiệm miễn dịch.

- Các mẫu của các người bệnh tiếp xúc thường xuyên với động vật hoặc các sản phẩm huyết thanh động vật có thể có biểu lộ loại nhiễu này có khả năng gây ra kết quả bất thường. Những thuốc thử này đã được tạo ra để giảm thiểu nguy cơ bị nhiễu; tuy nhiên, có thể xảy ra các tương tác có khả năng xảy ra giữa huyết thanh hiếm gặp và các thành phần xét nghiệm.

ĐỊNH LƯỢNG SIROLIMUS MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Sirolimus (Rapamune, rapamycin, Wyeth Pharmaceuticals, Collegeville, PA) là thuốc ức chế miễn dịch dùng cho điều trị ức chế miễn dịch ở người bệnh cấy ghép thận. Sirolimus là sản phẩm lên men macrocyclic lactone của *Streptomyces hygroscopicus*, được phát hiện lần đầu ở Rapa Nui (Đảo Phục sinh). Nghiên cứu được động học chỉ ra sirolimus được cô lập chủ yếu trong tế bào hồng cầu, do vậy mẫu thích hợp để theo dõi sirolimus là máu toàn phần.

Xét nghiệm ARCHITECT Sirolimus là xét nghiệm miễn dịch trễ một bước để định lượng sirolimus trong máu toàn phần người sử dụng công nghệ CMIA với quy trình xét nghiệm linh hoạt, còn gọi là Chemiflex.

Trước khi thực hiện định lượng tự động trên ARCHITECT, cần tiến hành bước tiền xử lý thủ công, mẫu máu toàn phần được chiết tách với thuốc thử kết tủa, làm nóng và ly tâm. Chất nổi bề mặt được gạn vào ống Transplant Pretreatment Tube, sau đó đặt vào hệ thống ARCHITECT iSystem.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy móc: Architect i2000. i4000...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng Sirolimus, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Sirolimus.

3. Người bệnh:

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Xét nghiệm sử dụng máu toàn phần lấy vào ống có chất chống đông EDTA.
- Bệnh phẩm (mẫu máu toàn phần) ổn định < 7 ngày ở nhiệt 2-8°C, sau 7 ngày cần bảo quản mẫu ở nhiệt độ ≤ -10°C.

- Không nên lặp lại quá trình đông lạnh/rã đông. Nếu bệnh phẩm rã đông phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng và trộn đều để đảm bảo tính đồng nhất của mẫu trước khi phân tích.

- Mẫu có nồng độ sirolimus > 30 ng/mL có thể pha loãng bằng tay với độ pha loãng gợi ý 1:2. Mẫu phải được pha loãng trước khi tiến xử lý:

- Thêm 150 μ L mẫu bệnh phẩm vào 150 μ L ARCHITECT Sirolimus Calibrator A, sau đó thực hiện theo Quy trình tiến xử lý thủ công.
- Người vận hành phải nhập hệ số pha loãng vào màn hình đặt lệnh Mẫu chứng (Control) hay Bệnh phẩm (Patient). Hệ thống sẽ sử dụng hệ số pha loãng này để tự động tính nồng độ mẫu trước khi pha loãng và báo cáo kết quả. Kết quả nên lớn hơn > 3,0 ng/mL trước khi áp dụng hệ số pha loãng.

2. Tiến hành kỹ thuật:

Xét nghiệm Sirolimus yêu cầu có bước tiến xử lý bằng tay, qui trình cụ thể như sau:

1. Trộn đều mỗi mẫu (mẫu bệnh phẩm, mẫu chuẩn hay mẫu chứng) hoàn toàn bằng cách lắc đảo nhẹ nhàng các ống từ **5-10** lần.

Mẫu máu toàn phần đã để lâu sẽ phải trộn trong thời gian lâu hơn. Nên kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo mẫu đã được trộn thích hợp.

2. Dùng pipette hút chính xác **150 μ L** mỗi mẫu vào ống ly tâm XSYSTEMS hoặc ống ly tâm polypropylene tương đương (đáy tròn) ngay sau khi lắc trộn. Mỗi mẫu sử dụng một ống khác nhau.

Lưu ý: Phải sử dụng đầu pipette mới mỗi khi hút **150 μ L** mẫu ở mỗi ống. Không được lau đầu tip (đầu côn). Không được hút quá số lượng cần thiết. Không sử dụng lại đầu côn cho các lần chạy lặp lại.

Khuyến cáo không nên sử dụng loại pipette thay dương tính (positive displacement), không được làm ướt đầu pipette, và hút ngược, vì có thể gây ra lỗi và ảnh hưởng lớn đến độ không chính xác của xét nghiệm.

3a. Chính pipette hút chính xác **300 μ L** ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent từ chai có dán nhãn màu vàng.

3b. Thả **300 μ L** thuốc thử ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation vào ống ly tâm đầu tiên, với đầu tip chạm vào thành ống ly tâm.

Lưu ý: Mỗi ống phải được đập nắp và lắc trộn (vortex) ngay sau khi cho Thuốc thử Precipitation vào ống và trước khi cho Thuốc thử Precipitation vào các ống kế tiếp.

3c. **Đóng nắp** ống và lắc trộn (vortex) ngay lập tức.

3d. **Lắc trộn** mạnh từ **5-10** giây ngay sau khi đóng nắp ống tube.

(Cài đặt chế độ lắc trộn lớn nhất).

Lưu ý: Không thực hiện lắc trộn đúng cách sau khi thêm ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent sẽ làm sai kết quả xét nghiệm.

Cần quan sát bằng mắt thường để đảm bảo hỗn hợp mẫu với thuốc thử kết tủa đồng nhất. Dưới ống tube không nên còn lại phần nào chưa trộn lẫn.

Nếu vẫn còn phần chưa trộn lẫn dưới ống tube, lắc đảo ngược ống tube, gõ lên đáy ống và lắc trộn (vortex) lại. Đây là dấu hiệu của quá trình lắc trộn ban đầu không được thực hiện đúng cách. Lắc trộn ngay sẽ giảm thiểu thời gian hình thành khối kết tủa. Không phải tất cả máy vortex đều có thể thực hiện đúng cách.

Lặp lại quá trình "thêm, đóng nắp và lắc trộn" cho mỗi mẫu sau đó. Với mỗi ống, thực hiện nhất quán cùng thời gian lắc trộn và hoàn thành quá trình "thêm, đóng nắp và lắc trộn" trước khi thực hiện ống kế tiếp. Không hút ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent vào tất cả các ống một lần. Mỗi ống tube phải được đập nắp và lắc trộn ngay sau khi thêm ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent vào ống và trước khi cho ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent vào các ống kế tiếp.

4. Đặt mỗi ống vào khối nhiệt và chỉnh ở **42°C**. Ủ trong **10** phút và ly tâm ngay sau khi ủ.

Lưu ý: Ủ mẫu không đúng sẽ làm sai kết quả xét nghiệm.

5. Nạp mỗi ống tube vào máy ly tâm XSYSTEMS Centrifuge hoặc vi ly tâm tương ứng, chú ý sự thăng bằng của rotor. Có thể để thêm ống cân bằng, nếu cần. Chỉ ly tâm được cùng lúc khi số lượng ống tube là số chẵn.

Ly tâm các ống tối thiểu trong 4 phút ở tốc độ > 9500 x g RCF, hoặc 38.500 g-phút.

6. Lấy từng ống ra khỏi máy ly tâm và kiểm tra sự hiện diện rõ của pellet và chất nổi bề mặt.

7. Mở nắp mỗi ống tube và gạn chất nổi bề mặt vào ống Transplant Pretreatment Tube khi ARCHITECT iSystem trong trạng thái sẵn sàng chấp nhận mẫu.

Lưu ý: Mỗi mẫu sử dụng một ống Transplant Pretreatment khác nhau.

Chỉ sử dụng ống Transplant Pretreatment Tubes (LN 1P06) khi thực hiện tiền xử lý mẫu sirolimus sử dụng cho ARCHITECT iSystem. Độ tin cậy của của kết quả xét nghiệm ARCHITECT khác có thể bị ảnh hưởng nếu không sử dụng Transplant Pretreatment Tubes cho xét nghiệm ARCHITECT Sirolimus.

Không khuấy các viên nổi lên. Không hút chất nổi bề mặt vì nó sẽ giúp cho các pellet không bị khuấy động.

8. Lắc trộn ống Transplant Pretreatment Tube trong **5-10** giây.

9. Chuyển ống Transplant Pretreatment Tube vào giá đỡ mẫu ARCHITECT.

Lưu ý: Đặt ống Transplant Pretreatment Tube trên giá đỡ mẫu, để chạm vào đáy của giá đỡ. Loại bỏ các mẫu còn lại để thực hiện tiền xử lý sau khi xét nghiệm kết thúc.

Xét nghiệm ARCHITECT Sirolimus không thể đặt lệnh thực hiện xét nghiệm lại. Xét nghiệm lại yêu cầu thực hiện lại tiền xử lý thủ công.

- Để phân tích mẫu đã tiền xử lý thì trước đó máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Sirolimus. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Sirolimus. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Sirolimus đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm đã tiền xử lý vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khoảng nồng độ tối ưu cho sirolimus khác nhau phụ thuộc vào phương pháp xét nghiệm, vì vậy, nên thiết lập khoảng nồng độ riêng cho mỗi xét nghiệm theo phương pháp. Giá trị thu được từ các phương pháp xét nghiệm khác nhau không thể được sử dụng thay thế cho nhau do sự khác biệt về phương pháp và phản ứng chéo với các chất chuyển hóa, không áp dụng hệ số chuyển đổi. Phòng xét nghiệm nên ghi rõ phương pháp xét nghiệm sử dụng để hỗ trợ cho việc diễn giải kết quả.

Khoảng dao động tối ưu của nồng độ Sirolimus phụ thuộc và tình trạng lâm sàng người bệnh, độ nhạy khác nhau của cá thể và tác động phụ của sirolimus, sử dụng cùng chất ức chế miễn dịch khác, thời gian sau cấy ghép và một số các yếu tố khác. Vì vậy, giá trị sirolimus của cá thể không được sử dụng như dấu hiệu duy nhất cho quyết định thay đổi phác đồ điều trị, mỗi người bệnh nên được thực hiện đánh giá lâm sàng trước khi đưa ra quyết định thay đổi phác đồ điều trị. Mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng dao động nồng độ tối ưu dựa trên xét nghiệm cụ thể sử dụng và các yếu tố liên quan đến quần thể mẫu người bệnh.

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Xét nghiệm bị nhiễu với những chất có nồng độ như sau:

Các chất có khả năng gây nhiễu	Nồng độ
Triglycerides	1500 mg/dL
Hematocrit	≤ 25%, ≥ 55%
Bilirubin	40 mg/dL
Protein toàn phần	3 g/dL
Protein toàn phần	12 g/dL
Cholesterol	500 mg/dL

Uric Acid

20 mg/dL

HAMA

14,5 - 340 ng/mL

RF

20,9 - 445 IU/mL.

ĐỊNH LƯỢNG $TNF\alpha$ (TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA)

I. NGUYÊN LÝ

Yếu tố hoại tử khối u α (cachectin) và yếu tố hoại tử khối u β (lymphotoxin) là hai protein có liên quan mật thiết có tính tương đồng về trình tự chung nhau 34% ở trình tự axit amin. Cả hai chất trung gian hoạt động trên các tế bào đích thông qua cùng thụ thể và vì vậy cho thấy tác dụng sinh học tương tự, nhưng không giống nhau hoàn toàn. Dưới điều kiện không biến tính, $TNF\alpha$ là một protein 17 kDa, không glycosyl hóa. Dạng có hoạt tính sinh học của $TNF\alpha$ là một chất tam trùng phân. Bên cạnh dạng có thể hòa tan của $TNF\alpha$, dạng 28 kDa gắn kết màng có trên bề mặt của tế bào sản xuất TNF, dạng này có thể đóng vai trò như là một nguồn trữ $TNF\alpha$ có thể hòa tan và có thể được cắt khỏi bề mặt tế bào theo cách thủy phân protein. Các tế bào sản sinh ra $TNF\alpha$ như đại thực bào, tế bào T CD4+, ... Ngoài ra, tế bào cơ trơn, bạch cầu trung tính đa nhân, tế bào hình sao, tế bào mô mỡ, từ nội mạc mạch máu và nhiều dòng tế bào khối u khác có thể sản sinh ra $TNF\alpha$. TNF cũng được tạo ra từ đại thực bào trong cơ thể như một tiền hóc môn không hoạt động và được tổng hợp trong các tế bào giết tự nhiên, các tế bào u hắc tố, và một vài dòng tế bào ung thư.

Vì thụ thể $TNF\alpha$ xuất hiện trên hầu hết các tế bào, $TNF\alpha$ có nhiều hoạt động sinh học đa dạng như: tiêu tế bào, kìm các tế bào khối u và hoạt tính hóa hướng động ở các bạch cầu trung tính. $TNF\alpha$ là một yếu tố tăng trưởng của nguyên bào sợi và kích thích việc tổng hợp collagenase và prostaglandin E2 sự tái hấp thụ xương có thể do $TNF\alpha$ gây ra vì nó kích hoạt hủy cốt bào. $TNF\alpha$ thúc đẩy việc phân chia của tế bào T sau khi kích thích bằng IL-2. Khi không có IL-2, $TNF\alpha$ gây cảm ứng quá trình tăng sinh và biệt hóa của tế bào beta. Nồng độ của $TNF\alpha$ trong huyết thanh hoặc huyết tương có thể tăng lên trong nhiễm trùng huyết, các bệnh tự miễn, nhiều bệnh nhiễm trùng khác nhau và thải loại mảnh ghép

- Nguyên lý xét nghiệm

$TNF\alpha$ là một xét nghiệm miễn dịch tự động, 2 chu kỳ và dựa trên nguyên lý hoá phát quang. Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu được ủ với pha rắn là các hạt được phủ kháng thể kháng $TNF\alpha$, sản xuất từ chuột trong 30 phút. Sau đấy, rửa để loại bỏ mẫu cặn. Trong chu kỳ thứ 2, chất cộng hợp là kháng thể đa dòng kháng $TNF\alpha$, sản xuất từ thỏ được cho vào công phản ứng, để tạo nên phức hợp kháng thể-kháng nguyên-kháng thể. Sau đấy, rửa để loại bỏ phản ứng không đặc hiệu. Cuối cùng, cơ chất phát quang được thêm vào ống phản ứng và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhận quang. Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỉ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được. Thời gian ra kết quả: 60 phút.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thâm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy miễn dịch tự động có thể phân tích: IMMULITE 1000, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

2.2. Hoá chất

Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc

- Hóa chất TNF α (pha rắn): các hạt được phủ kháng thể kháng TNF α , sản xuất từ chuột. Ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc.
- Hóa chất TNF α (chất cộng hợp): kháng thể đa dòng kháng TNF α , sản xuất từ thỏ. Ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc.
- Chất hiệu chuẩn TNF α nồng độ thấp & nồng độ cao.

Hóa chất cần thiết nhưng không được cung cấp trong hộp thuốc

- QC các xét nghiệm Cytokine, 2 mức nồng độ, làm từ huyết thanh người
- Cơ chất hóa phát quang
- Dung dịch pha loãng mẫu (trong trường hợp nồng độ vượt quá khoảng tuyệt tính)
- Dung dịch rửa kim hút
- Dung dịch làm sạch kim hút
- Giá chứa cốc đựng mẫu có barcode
- Cốc đựng mẫu (dùng 1 lần)
- Nắp cốc đựng mẫu (tùy chọn)

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin, EDTA,..
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định 2-8⁰C trong 2 ngày hoặc 6 tháng ở -20⁰C

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm TNF α . Máy đã được chuẩn với xét nghiệm TNF α . Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm TNF α đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu

Cut-off: 8.1 pg/mL

- Tăng trong trường hợp

Nồng độ TNF trong huyết tương hoặc huyết thanh tăng cao có thể trong trường hợp nhiễm khuẩn huyết, bệnh tự miễn, các bệnh nhiễm trùng và đào thải ghép tạng.

Trong khi nồng độ TNF cao gây ra các triệu chứng giống sốc, tiếp xúc kéo dài với nồng độ TNF thấp có thể dẫn đến chứng suy nhược, hội chứng lãng phí. Điều này có thể được tìm thấy, ví dụ, ở bệnh nhân ung thư.

- Giảm trong trường hợp

Người bệnh đang dùng thuốc ức chế TNF như Infliximab, Etanercept..

V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu sau khi được ly tâm cần được kiểm tra kỹ để không còn dấu vết của fibrin vì fibrin sẽ ảnh hưởng đến kết quả. Mẫu của người bệnh dùng thuốc chống đông có thể cần thời gian đông dài hơn. Mẫu không đảm bảo yêu cầu cần được loại bỏ và lấy mẫu bệnh phẩm mới để làm xét nghiệm.
- Mẫu bị tan huyết có thể do việc xử lý không đúng cách trước khi gửi tới phòng xét nghiệm do đó kết quả của mẫu cần được phân tích với sự cẩn trọng.

ĐỊNH LƯỢNG TROPONIN I hs MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Troponin tim bao gồm Troponin I và Troponin T (truyền thống) là các dấu ấn sinh học có độ nhạy và độ đặc hiệu tốt hiện nay được sử dụng trong chẩn đoán hội chứng mạch vành cấp không có ST chênh lên. Tuy nhiên, với những người bệnh bị suy giảm chức năng thận, Troponin I có độ đặc hiệu cho tổn thương cơ tim cao hơn Troponin T. Ngưỡng chẩn đoán nhồi máu cơ tim (NMCT) của Troponin tim là nồng độ vượt qua ngưỡng bách phân vị thứ 99 của dân số tham chiếu bình thường (<10% CV). Tuy nhiên các xét nghiệm troponin tim truyền thống không thể đo được Troponin tim ở nồng độ thấp tương ứng với giá trị bách phân vị thứ 99 tham chiếu của người bình thường. Vì vậy, xét nghiệm troponin tim siêu nhạy (High sensitive Troponin-I) được phát triển để đáp ứng được các yêu cầu và giải quyết được các hạn chế của troponin tim truyền thống.

Bệnh lý tim mạch thường gặp trên những người bệnh có rối loạn chức năng thận nặng, nên làm nồng độ Troponin tăng trên các người bệnh này dự báo những biến cố xấu về sau. Tuy nhiên, sự tăng Troponin này có thể không phải do tắc nghẽn mạch vành hay tiên lượng khả năng tử vong do hội chứng vành cấp. Ở người bệnh suy thận mạn đang lọc thận và không có triệu chứng mạch vành cấp, TnT dương tính khoảng 30-70%. TnI cũng tăng trong suy thận mạn nhưng ít hơn TnT (<5%), có thể là do trọng lượng phân tử nhỏ hơn.

Theo nghiên cứu của Twerenbold và cộng sự cho thấy ngay cả khi sử dụng xét nghiệm Troponin siêu nhạy, Troponin T cũng có khuynh hướng tăng nhiều hơn so với Troponin I trên các người bệnh có eGFR < 60 mL/min/1.73 /m², khiến dễ nhầm lẫn với hội chứng vành cấp. Trong khi Troponin I siêu nhạy bị ảnh hưởng không đáng kể, còn Troponin T siêu nhạy để giảm thiểu ảnh hưởng của thận lên sự tăng Troponin cần chỉnh ngưỡng cắt lên gấp 2 lần

High sensitive Troponin-I là xét nghiệm miễn dịch hai bước để xác định sự hiện diện của cTnI trong huyết thanh và huyết tương người sử dụng công nghệ CMIA với quy trình xét nghiệm linh hoạt, Chemiflex.

Bước 1: mẫu, và vi hạt thuận từ phủ anti-troponin I được kết hợp lại. Troponin I tim có trong mẫu gắn với các vi hạt phủ anti-troponin-I.

Bước 2: Sau khi ủ và rửa, chất kết hợp anti-troponin-I có đánh dấu acridinium được cho vào

Bước 3: Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đối (RLU). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng cTnI trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện. Nồng độ của cTnI được đọc tương ứng với đường cong chuẩn được thiết lập với mẫu chuẩn nồng độ cTnI đã biết.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

2. Phương tiện hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy miễn dịch tự động Architect i 1000 SR; i 2000 SR
- Máy ly tâm,
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, ống sample cup

2.2. Hóa chất

- STAT High Sensitive Troponin-I Reagent Kit (Bộ thuốc thử) bao gồm:
 - + Microparticle (vi hạt từ): 1 Chai (6,6 mL/29,0 mL) Anti-troponin I (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định protein (bò). Nồng độ tối thiểu: 0,035% rắn. Chất bảo quản: ProClin 300.
 - + Conjugate (chất gắn kết): 1 Chai (5,9 mL/28,5 mL) Anti-troponin I (kháng thể đơn dòng, thể khảm chuột-người) được đánh dấu Acridinium trong đệm MES với chất ổn định protein (bò) và IgG người. Nồng độ tối thiểu: 0,1 mg/L. Chất bảo quản: ProClin 300..
 - STAT High Sensitive Troponin-I Assay file.
 - STAT High Sensitive Troponin-I Calibrators
 - STAT High Sensitive Troponin-I Controls
 - Pre-Trigger Solution (Dung dịch tiền phản ứng)
 - Trigger Solution (Dung dịch phản ứng)
 - Wash Buffer (Dung dịch đệm rửa)
 - Reaction Vessels (Cống phản ứng)
 - Sample Cups (Cốc đựng mẫu)
 - Septum (Màng ngăn)
 - Replacement Caps (Nắp thay thế)
- Calibrator, IQC ở các mức khác nhau

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin, EDTA.
- Xử lý mẫu trước khi phân tích:
 - + **Mẫu huyết thanh:**
ly tâm ở RCF 3,000 đến 3,500 x g trong 30 phút.
 - + **Mẫu huyết tương:**
ly tâm ở RCF 13,000 đến 13,500 x g trong 30 phút hoặc ly tâm ở RCF 3,000 đến 3,500 x g trong 10 phút. Chuyển phần nổi trên bề mặt vào ống tube ly tâm mới, cẩn thận tránh chuyển các cục nhỏ fibrinogen, và ly tâm lại ở RCF 3,000 đến 3,500 x g trong 10 phút.
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.

Bảo quản mẫu

- + Mẫu tách riêng huyết thanh, huyết tương có thể được bảo quản đến 8 giờ ở nhiệt độ phòng hay đến 24 giờ ở 2-8°C. hoặc 72 ngày khi bảo quản đông lạnh ở -10°C.
- + Chỉ rã đông mẫu một lần.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Troponin I hs. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Troponin I hs. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Troponin I hs đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1.1. Giá trị tham chiếu

Có sự khác biệt giữa nam và nữ:

Với nam giới là: ≤ 34.2 ng/L (pg/mL). ở nữ là $\leq 15,6$ ng/L (ng/L)

1.2. Tăng trong trường hợp

- Tổn thương do thiếu máu cơ tim nguyên phát (NMCT type 1)
- Tổn thương do mất cân bằng cung/cầu ôxy cơ tim (NMCT type 2)
- Tổn thương không liên quan thiếu máu cơ tim
- Tổn thương cơ tim do đa yếu tố hay không xác định được

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

- Nếu thời gian thực hiện xét nghiệm ≥ 2 giờ kể từ khi lấy mẫu bảo quản trong tủ lạnh hay tủ đông, các nghiên cứu đã chứng minh được độ khác nhau trung bình $< 20\%$. ở nồng độ được quan sát trong điều kiện sau:
 - + Có hoặc không có huyết khối, hồng cầu hay gel phân tách ở nhiệt độ $2-8^{\circ}\text{C}$ từ 24 đến 72 giờ.
 - + Không có huyết khối, hồng cầu hay gel phân tác đông lạnh ở nhiệt độ -10°C hoặc thấp hơn đến 31 giờ.
- Mẫu huyết tương có thể được bảo quản ở nhiệt độ -70°C hoặc lạnh hơn ổn định đến 5 năm.

ĐỊNH LƯỢNG UIBC (Unsaturated Iron Binding Capacity) MÁU

Bảng viết tắt:

UIBC - khả năng liên kết sắt không bão hòa

I. NGUYÊN LÝ

Thông thường, sắt được hấp thụ từ thức ăn và vận chuyển khắp cơ thể nhờ transferin. Transferin được sản xuất tại gan. Khoảng 70% sắt được vận chuyển đến tủy xương và kết hợp với Hemoglobin trong hồng cầu. Phần còn lại được lưu trữ tại ferritin hoặc hemosiderin. Lượng transferin trong máu phụ thuộc vào chức năng gan và tình trạng dinh dưỡng. Trong điều kiện bình thường, 1/3 transferin được bão hòa sắt, 2/3 còn lại được lưu trữ tại các mô. UIBC xác định khả năng dự trữ của transferin, tức là phần transferin chưa được gắn với sắt. UIBC có thể đo trực tiếp hoặc tính toán gián tiếp qua TIBC (khả năng kết hợp sắt toàn phần) và sắt: $UIBC = TIBC - \text{sắt}$

Fe^{2+} trong thuốc thử 1 phản ứng với Nitroso-PSAP trong thuốc thử 2 tạo thành 1 phức hợp màu xanh. Nếu thêm bệnh phẩm vào, toàn bộ hoặc một phần ion sắt sẽ kết hợp với transferin tại vị trí kết hợp không bão hòa trong môi trường kiềm. Npa làm thay đổi phản ứng màu với Nitroso-PSAP. Sự thay đổi mật độ quang đo được tỷ lệ với UIBC.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

1 người có trình độ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả; 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

2. Phương tiện và hóa chất:

2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

2.2. Hóa chất:

- Hóa chất định lượng của các công ty có thể đáp ứng yêu cầu VD: Beckman Coulter, ...
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống của Beckman Coulter

3. Người bệnh: cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương. Không sử dụng ống chống đông bằng EDTA, oxalat, citrat. Lấy 3 ml máu tĩnh mạch. Ly tâm 3000 vòng/phút trong 5 phút, tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương ngay khi có thể. Bệnh phẩm bảo quản ở 2-8⁰C trong 3 tuần, 15-25⁰C trong 7 ngày. Không được vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm lấy lúc đói

2. Tiến hành kỹ thuật

- KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG: việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Khoảng tham chiếu:

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
- Người lớn trưởng thành:
Bình thường trong huyết thanh hoặc huyết tương: 27.8 – 63.6 $\mu\text{mol/L}$ (155 – 355 $\mu\text{g/dL}$)

2. Tăng trong: Thiếu sắt

3. Giảm trong: Hemochromatosis, thiếu máu huyết tán hoặc một số bệnh mạn tính, suy dinh dưỡng, bệnh thận, hội chứng thận hư ...

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Tuyến tính từ 10 đến 100 $\mu\text{mol/L}$ (55-550 $\mu\text{g/dL}$). Cần pha loãng bệnh phẩm nếu vượt ngưỡng này.
- Kết quả có thể bị ảnh hưởng bởi vỡ hồng cầu.

ĐỊNH LƯỢNG Zn (KẼM) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Kẽm (Zn) là vi chất quan trọng đối với sức khỏe. Khi thiếu kẽm, đặc biệt là ở trẻ em dưới 5 tuổi sẽ gây nhiều hậu quả nghiêm trọng như rối loạn hệ thống miễn dịch, suy dinh dưỡng, tiêu chảy, viêm phổi Khi lưu hành trong máu, kẽm được liên kết với protein vận chuyển và một phần rất nhỏ kẽm ở dưới dạng tự do. Vì vậy sự thiếu hụt protein máu nói chung và protein vận chuyển kẽm nói riêng sẽ làm giảm lượng kẽm huyết thanh. Kẽm hỗ trợ hệ thống miễn dịch, cần thiết cho vết thương lành lại, giúp bảo vệ vị giác và khứu giác, cần thiết cho sự tổng hợp DNA. Kẽm cũng hỗ trợ cho việc tăng trưởng và phát triển bình thường của thai nhi trong bụng mẹ, thời kỳ ấu thơ và thiếu niên.

Zn trong bệnh phẩm kết hợp dưới dạng chelat với 5-Br-PAPS2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino)-phenol trong thuốc thử. Phức hợp được tạo thành đo được ở bước sóng 560 nm

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 1 cán bộ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả;
- 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

2. Phương tiện và hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

2.2. Hóa chất:

- Hóa chất định lượng kẽm phù hợp VD của công ty Randox
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống của Randox

3. Người bệnh: cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1.Lấy bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương hoặc nước tiểu. Không sử dụng ống chống đông bằng EDTA. Lấy 3 ml máu tĩnh mạch. Ly tâm 3000 vòng/ phút trong 5 phút, tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương ngay khi có thể.

2.Tiến hành kỹ thuật

- KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG: việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1.Khoảng tham chiếu:

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
- Người lớn trưởng thành:
Bình thường trong huyết thanh hoặc huyết tương: 9.18 - 18.4 $\mu\text{mol/L}$ (60.0 - 120.0 $\mu\text{g/dL}$); trong nước tiểu: 3.83 - 13.0 $\mu\text{mol/L}$ (25.0 - 85.0 $\mu\text{g/dL}$)
- Ở trẻ em: 11.5 - 15.3 $\mu\text{mol/L}$ (75.0 - 100.0 $\mu\text{g/dL}$)

2.Tăng trong: tăng kẽm huyết thanh

3.Giảm trong: phụ nữ có thai, thiếu kẽm huyết thanh, hội chứng thận hư, tiêu chảy kéo dài...

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Tuyến tính đến 103 $\mu\text{mol/L}$ (672 $\mu\text{g/dL}$). Cần pha loãng bệnh phẩm nếu vượt ngưỡng này.

ĐO HOẠT ĐỘ LIPASE DỊCH CHỌC DÒ

I. NGUYÊN LÝ

Lipase là enzyme thủy phân lipid.

Hoạt độ của enzym Lipase trong dịch chọc dò của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

Lipase

1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) ester =>

1,2-O-dilauryl-rac-glycerol + glutaric acid-(6-methylresorufin) ester

Glutaric acid-(6-methylresorufin) ester => glutaric acid + methylresorufin

Cường độ màu (màu đỏ) hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ Lipase và có thể đo được ở bước sóng 570 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện:

- Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640, AU 5800....
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Lipase, chất chuẩn Lipase, chất kiểm tra chất lượng Lipase.

3. Người bệnh

Người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy dịch chọc dò để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml dịch chọc dò vào ống nghiệm. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 7 ngày ở 15°C đến 25°C, 1 năm ở -15°C đến -25°C.
- Sau khi lấy dịch chọc dò, đem ly tâm nếu thấy dịch đục.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Lipase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Lipase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Lipase đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- + Trị số bình thường: không có lipase trong dịch chọc dò
- + Lipase trong dịch chọc dò tăng khi : Bệnh tụy viêm tụy cấp hoại tử. các bệnh như thủng, u đường tiêu hóa nhất là có liên quan đến tụy.

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- + Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

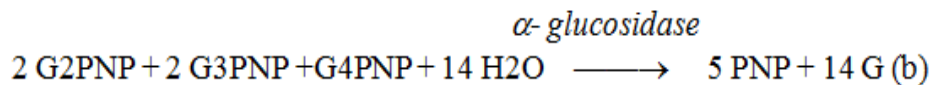
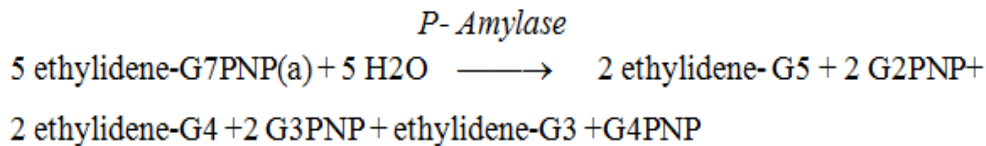
- dịch màu vàng: Bilirubin 1026 $\mu\text{mol/L}$ (< 60 mg/dL)
- dịch màu đỏ: Hemoglobin < 500 mg/dL.
- dịch đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

ĐO HOẠT ĐỘ P- AMYLASE (Pancreatic amylase) MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Trong cơ thể có 2 loại α - amylase là α - amylase tụy (P. amylase) và α -amylase nước bọt (Salivary Amylase). Trong khi P. amylase hầu như chỉ có ở tuyến tụy và vì thế đặc hiệu cho cơ quan này, thì loại S.Amylase có thể có ở nhiều nơi. Ngoài tuyến nước bọt, loại S.amylase còn được thấy trong nước mắt, mồ hôi, sữa mẹ, dịch ối, phổi, tinh hoàn và biểu mô của ống dẫn trứng. Vì các bệnh của tuyến tụy ít có các triệu chứng lâm sàng đặc trưng nên việc xác định enzym là rất quan trọng trong chẩn đoán bệnh ở tụy. Ưu điểm của xét nghiệm này là xác định α -amylase đặc hiệu cho tụy thay vì xác định amylase toàn phần. P- Amylase được xác định hoạt độ theo nguyên lý sau:



a) PNP p-nitrophenol

b) G Glucose

Tỷ lệ sự tạo thành p-nitrophenol tỷ lệ thuận với hoạt tính xúc tác của α -amylase tụy. Nó được xác định bằng cách đo sự gia tăng của độ hấp thụ bằng phương pháp đo quang.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất:

Phương tiện

- Máy có thể phân tích: COBAS C, AU...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyên mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

Hoá chất

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử xác định hoạt độ P-amylase. Chất chuẩn, Chất kiểm tra chất lượng P-amylase.

3. Người bệnh:

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (Li-Heparin) hoặc nước tiểu để thực hiện xét nghiệm này. Lấy 3mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là Li-Heparin. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút, tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Bệnh phẩm là huyết thanh, huyết tương ổn định 7 ngày ở 15- 25 °C, 1 tháng ở 2-8 °C

Lấy mẫu nước tiểu không dùng dung chất bảo quản. Độ ổn định: 2 ngày ở 15 - 25 °C, 10 ngày ở 2- 8 °C. α - amylase tụy không ổn định trong nước tiểu acid nên cần tiến hành xét nghiệm ngay hoặc chỉnh pH về khoảng kiềm (pH khoảng 7) trước khi bảo quản.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm P-amylase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm P-amylase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm P-amylase đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Giá trị tham chiếu của P- amylase như sau

- Huyết thanh/huyết tương (chung cho cả nam và nữ): 13- 53 U/L

- Nước tiểu Nam: 7-356 U/L, Nữ: 13-319 U/L

- Tỷ số α - amylase tụy/ creatinine Nam: 35- 199 U/g Nữ: 52- 259 U/g

Nên xác định tỷ số α - amylase tụy/creatinine để khắc phục dao động hoạt độ α - amylase tụy trong nước tiểu. Để làm điều này, xác định hoạt độ α -amylase tụy và nồng độ creatinine trong nước tiểu sau đó tính tỷ số của chúng.

Xác định hoạt độ α - amylase tụy thích hợp cho việc chẩn đoán và theo dõi viêm tụy cấp và các đợt cấp trong viêm tụy mạn. Về mặt độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng, giá trị chẩn đoán của α -amylase tụy tương đương với giá trị chẩn đoán của lipase, emzym đặc hiệu cho tụy. Độ nhạy của α -amylase tụy cao hơn so với độ nhạy của α -amylase toàn phần trong chẩn đoán viêm tụy cấp.

V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Với mẫu huyết thanh/huyết tương

- Trong một số hiếm trường hợp, hoạt tính α -amylase nước bọt quá cao có thể làm tăng kết quả đo của α -amylase tụy .

- Không hút thuốc thử hay bệnh phàm bằng miệng, và đảm bảo rằng thuốc thử không tiếp xúc với da do nước bọt và mồ hôi có chứa α -amylase.

- Huyết thanh vàng: Không ảnh hưởng đáng kể với nồng độ bilirubin ≤ 1026 $\mu\text{mol/L}$ hoặc ≤ 60 mg/dL.

- Tán huyết: Không ảnh hưởng đáng kể với nồng độ hemoglobin ≤ 124 $\mu\text{mol/L}$ hoặc 200 mg/dL.

- Huyết thanh đục: Không ảnh hưởng đáng kể với chỉ số L tối đa đến 1500.

Không ảnh hưởng đáng kể với acid ascorbic tối đa đến 5.68 mmol/L (100 mg/dL). Thuốc có Icodextrin có thể làm giảm giá trị amylase.

Trong một số ít trường hợp: bệnh gammaglobulin, đặc biệt tít IgM (bệnh tăng macroglobulin Waldenström), có thể cho kết quả nhiễu.

Người bệnh bị macroamylase cho kết quả amylase tụy cao hơn.

+ *Với mẫu nước tiểu*

Các nhóm các thuốc thông thường với nồng độ trị liệu không ảnh hưởng đáng kể đến kết quả xét nghiệm P- amylase nước tiểu .

ĐO HOẠT ĐỘ THYMIDINE KINASE MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Thymidin Kinase (TK) tham gia vào việc tổng hợp DNA và xúc tác cho quá trình phosphoryl hóa của thymidine thành thymidine monophosphate. Hoạt tính của TK tăng đáng kể trong pha S của chu trình tế bào. Hoạt động của nó đã được chứng minh là một chỉ tố đáng tin cậy của quá trình tăng sinh của các tế bào ung thư. TK trong tế bào người có hai dạng đồng phân, một là cytosolic (TK 1) và dạng ty thể (TK2). Trong đó chỉ có nồng độ của TK1 là ảnh hưởng đến chu trình tế bào.

Xét nghiệm xác định hoạt độ Thymidine Kinase là xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang cạnh tranh hai bước gián tiếp để định lượng TK trong máu.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất:

Phương tiện

- Máy có thể phân tích: LIAISON và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

Hoá chất

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử xác định hoạt độ thymidine kinase. Chất chuẩn, bảo quản ở -20°C ,
Chất kiểm tra chất lượng thymidine kinase.

3. Người bệnh:

Cần giải thích cho người, người nhà người bệnh bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương EDTA để thực hiện xét nghiệm này.

Nên lấy máu lúc đói nhưng đây không phải điều kiện bắt buộc. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông EDTA. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương. Bệnh phẩm ổn định trong vòng 7 ngày nếu bảo quản ở 2-8°C, nếu để lâu hơn cần bảo quản đông lạnh (-20°C hoặc thấp hơn). Tránh rã đông nhiều lần.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Thymidin Kinase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Thymidin Kinase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Thymidin Kinase đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu cho Thymidine Kinase như sau:

Quần thể (n)	Giá trị TK trung bình	Độ đặc hiệu 5 – 95%
Người khỏe mạnh (n=98)	4.3 U/L	2.0 – 7.5 U/L

Các giới hạn này được cân nhắc như một nguồn tài liệu tham khảo. Mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập dải giá trị của riêng mình.

Người bệnh với bệnh máu ác tính:

Quần thể (n)	Giá trị TK trung bình	Độ đặc hiệu 5 – 95%
Lympho không Hodgkin		
- Tổng số (n = 172)	24.8 U/L	0.9 – 101 U/L
- Không đau (n = 33)	9.9 U/L	1.5 – 26.0 U/L
- Tiến triển (n = 54)	38.4 U/L	< 0.5 – 227 U/L
Thở tủy (n=95)	20.5 U/L	<0.5 – 104 U/L
MGUS (n=17)	2.6 U/L	<0.5 – 6.9 U/L
U lympho Hodgkin (n = 23)	12.8 U/L	3.3 -45.9 U/L
Bệnh nhiễm khuẩn lành tính (n = 43)	7.3 U/L	2.9 – 17.9 U/L
Bệnh lành tính (n = 20)	5.3 U/L	1.1 – 10.8 U/L

MGUS: bệnh gamma đơn dòng có ý nghĩa không xác định

Các giới hạn này được cân nhắc như một nguồn tài liệu tham khảo. Mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập dải giá trị của riêng mình.

Nhiều nghiên cứu khoa học đã báo cáo rằng nồng độ của TK tăng trong rất nhiều khối u. Tuy nhiên, trong hầu hết các nghiên cứu, TK được sử dụng để tiên lượng và theo dõi điều trị cho bệnh máu ác tính. Nghiên cứu chỉ ra rằng hoạt độ TK

trong huyết thanh tăng cho thấy rõ nguy cơ cao đối với sự tiến triển bệnh của u lympho không Hodgkin và bệnh bạch cầu mạn. Trong bệnh bạch cầu mạn, TK dường như cung cấp đầy đủ thông tin tiên lượng độc lập với hệ thống phân loại Binet. TK bổ sung độc lập thông tin tiên lượng với các tiêu chí xác định tiềm tàng của bệnh bạch cầu mạn. Hơn nữa, hoạt độ TK trong huyết thanh tương quan với các giai đoạn lâm sàng và đưa ra được thông tin tiên lượng. Giá trị TK cao đã được báo cáo ở các người bệnh bệnh bạch cầu cấp. Các nghiên cứu chỉ ra rằng hoạt độ TK trong huyết thanh có thể cho thấy sự tiến triển của các tế bào máu và tiên lượng đáp ứng điều trị với thời gian sống của người bệnh.

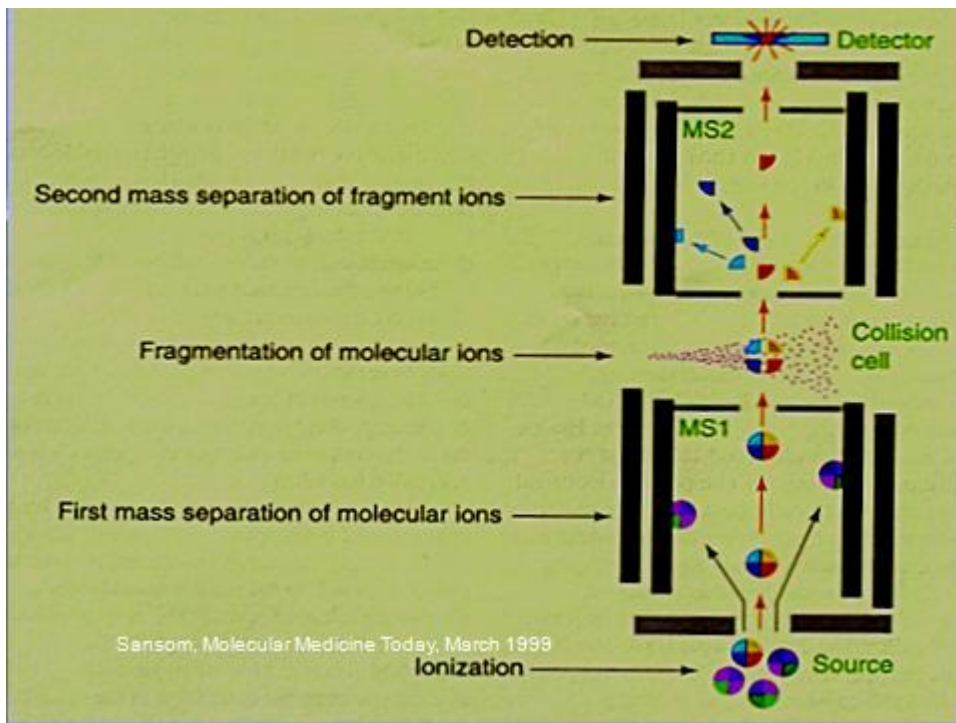
V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Các nghiên cứu kiểm soát các chất gây nhiễu cho thấy xét nghiệm được thực hiện không bị ảnh hưởng bởi cholesterol (tối đa 500 mg/dL tức 12.95 mmol/L), mẫu tán huyết (tối đa 500 mg/dL), bilirubin (tối đa 20 mg/dL tức 342 μ mol/L), và triglyceride (tối đa 3000 mg/dL tức 33.9 mmol/L)

SÀNG LỌC CÁC BỆNH RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA BẨM SINH BẰNG MSMS

I. NGUYÊN LÝ

MSMS là thiết bị sử dụng để phân tách và định lượng các ion dựa trên tỷ số khối lượng/ điện tích của chúng (mass/charge ratio). MSMS tạo ra các phân tử tích điện từ mẫu cần phân tích, sau đó sử dụng điện và từ trường để phân tách và đo lường khối lượng của các phân tử tích điện. Bộ phận phát hiện sẽ tạo ra đồ thị phổ khối của các đỉnh có thể định lượng được bằng các chuẩn nội để xác định lượng mỗi chất có mặt trong mẫu.



MSMS gồm 2 MS nối với nhau bởi một bộ phận gọi là collision cell. Trước khi đi vào MS thứ nhất, mẫu được ion hoá bằng fast atom bombardment hoặc electrospray. (FAB-MS/MS hoặc ES-MS/MS). Quá trình này tạo điện tích nhưng không phân cắt các hợp chất hữu cơ trong mẫu.

MS thứ nhất phân tách các ion gốc (parent ions) theo trình tự số khối (mass/charge ratio) và chuyển sang bộ collision chamber.

Bộ phận collision chamber phân cắt các ion gốc chuyển các mảnh ion sang MS thứ hai. Mẫu hình của các mảnh ion của mỗi ion gốc được phân tích và so sánh với phổ đã biết của các chất chuẩn nội. Toàn bộ quá trình ion hoá và phân tích kết quả mất khoảng 2 phút.

MS/MS là một công cụ hiệu quả giúp sàng lọc các rối loạn chuyển hoá acid béo, acid amin và acid hữu cơ niệu.

Định lượng acid amin, carnitine tự do và acylcarnitine bằng NeoMass AAAC kit đòi hỏi phải tách chiết mẫu máu thấm khô bằng dung dịch chứa nội chuẩn đồng vị ổn định (Stable isotope labeled internal standards) và phân tích trên MSMS. Tín hiệu của mỗi chất phân tích trong mẫu so với nội chuẩn tỷ lệ với nồng độ của chất phân tích trong mẫu. Dữ liệu được thu nhận bằng phương pháp MRM (Multiple Reaction Monitoring). Trong phương pháp này, sản phẩm của mỗi chất phân tích sau khi qua bộ phận va chạm (collision cell) được đo lường. Dữ liệu được thu và xử lý bởi phần mềm cung cấp cho hệ thống.

Hệ thống MS ba tứ cực (triple quadrupole) sử dụng cho phép đo lường này được kiểm soát bằng máy tính, phát hiện các phân tử ion hoá trong mẫu theo số khối (m/z). Mẫu tách chiết được đưa vào bộ ion hoá bằng tia điện (electrospray ionization- ESI) của MS nhờ hệ thống sắc ký lỏng (LC), bao gồm bơm mẫu tự động, bơm, khí của dung môi. ESI tạo sự ion hoá nhẹ, nơi mà các ion được tạo thành khi dung môi bay hơi. ESI tạo các phân tử proton hoá hoặc khử proton, được lựa chọn để đưa vào máy phân tích khối để phát hiện.

Trong hệ thống MSMS, các ion được lựa chọn của các chất phân tích được phân tách trong tứ cực thứ nhất (Q1), chuyển sang tứ cực thứ 2 (Collision cell) nơi mà khí trơ có áp lực cao gây phân mảnh đặc hiệu. Một ion sản phẩm của mỗi chất phân tích được lựa chọn đưa vào Q3 và phát hiện bởi đầu dò.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:

- Hệ thống LCMSMS 8040 của Shimadzu
- Máy đục lỗ giọt máu thấm khô DBS 100 của ...
- Máy lắc
- Tủ hệt, máy ly tâm và các trang thiết bị PXN

- Hóa chất:

Hóa chất	Chuẩn bị	Độ bền sau khi mở/pha loãng (ở +2° C đến +8°C)
Mẫu kiểm tra chất lượng (QC samples)	Sẵn sàng để sử dụng	1 tháng
Chất nội chuẩn Aminoacids (AA)	Hòa tan/pha loãng	1 tháng
Chất nội chuẩn Acylcarnitines (AC)	Hòa tan/pha loãng	1 tháng

Chất nội chuẩn Succinylacetone (SUAC)	Hòa tan/pha loãng	1 tháng
Chất nội chuẩn Argininosuccinic acid (ASA)	Hòa tan/pha loãng	1 tháng
Dung dịch chiết (Extraction Solution)	Sẵn sàng để sử dụng	1 tháng
Dung dịch rửa giải (Elution Solution)	Sẵn sàng để sử dụng	1 tháng

3. Người bệnh: người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu máu thấm khô (Dry blood spot).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị các dung dịch chuẩn nội gốc (ISTD stock solutions) (chỉ làm lần đầu tiên sử dụng bộ kit):

1. Để lọ chất nội chuẩn và dung dịch chiết về nhiệt độ phòng (18 đến 25°C)
2. Thêm vào lọ chất nội chuẩn acid amin (AA) 1 mL dung dịch chiết và lắc kỹ đến khi tan hết trong 30 phút bằng máy lắc. Dung dịch này bền trong 30 ngày khi đóng kín và bảo quản trong tủ lạnh (+2 đến +8°C).
3. Thêm vào lọ chất nội chuẩn acylcarnitines (AC) 1 mL dung dịch chiết và lắc kỹ đến khi tan hết trong 30 phút bằng máy lắc. Dung dịch này bền trong 30 ngày khi đóng kín và bảo quản trong tủ lạnh (+2 đến +8°C).

Ngay sau khi sử dụng, bảo quản ở -20°C.

2.2. Chuẩn bị dung dịch làm việc hàng ngày (daily working solution)

- Các dung dịch làm việc hàng ngày được chuẩn bị bằng cách pha loãng các dung dịch chất nội chuẩn đã hòa tan ở trên theo tỉ lệ 1: 100 (v/v) bằng dung dịch chiết.





Ví dụ: dùng pipet lấy 100 µl dung dịch axit amin và 100 µl dung dịch acylcarnitine vào 9,8 mL dung dịch chiết, lắc đều. Lượng này đủ dung cho đĩa 96 giếng.


- Dung dịch làm việc hàng ngày này bền trong 2 tuần khi được bảo quản trong tủ lạnh ở 2 đến 8°C trong lọ thủy tinh kín.

- Hàng ngày dựa trên lượng mẫu, tính toán để pha lượng thuốc thử vừa đủ. Nên pha hàng ngày.

2.3. Chuẩn bị mẫu:

Các lọ dung dịch hóa chất, nội chuẩn được để ở nhiệt độ phòng (20°C đến 25°C) ít nhất 30 phút trước khi bắt đầu làm xét nghiệm.

Các bước thực hiện	
1. Sử dụng máy đục lỗ DBS 100, cắt hình tròn đường kính 3 mm từ mẫu máu thấm khô của người bệnh vào các giếng tương ứng trên khay có đáy chữ U	
2. Cắt hình tròn đường kính 3 mm của ba mẫu QC ba mức vào các giếng tương ứng trên khay có đáy chữ U, lặp lại mỗi mức QC hai giếng	
3. Thêm 100 uL thuốc thử hàng ngày (chứa nội chuẩn) vào mỗi giếng có mẫu máu thấm khô.	
4. Đậy khay bằng tấm dính và ủ trên máy lắc 20 phút với tốc độ lắc 650 vòng/ phút. Chú ý đảm bảo sau khi xong chuyển ngay sang bước tiếp theo.	

5. Chuyển 70 uL dịch chiết từ mỗi giếng chữ U sang giếng tương ứng của khay đáy chữ V. Đậy khay bằng tấm nhôm để tránh bay hơi.	
6. Đưa khay đã được đậy tấm nhôm vào bộ phận bơm mẫu tự động máy LCMSMS 8040	

2.4. Vận hành MSMS

Khởi động phần mềm ứng dụng trên hệ thống, tạo worklist sử dụng nồng độ nội chuẩn thích hợp.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm giúp phát hiện các bất thường bẩm sinh. Danh sách các bệnh Sàng lọc bằng kit NeoMass

T T	Bệnh RLCH	Chỉ điểm 1	Chỉ điểm 2	Tỷ lệ	Các bệnh cùng chỉ điểm
1	Argininosuccinic acidemia	Asa↑	Cit ↑		CIT typ I, typ II
2	Citrullinemia type I	Cit↑		Cit/Arg	ASA
3	Homocystine niệu (thiếu CBS)	Met↑		Met/Phe	–
4	Bệnh siro niệu	Val ↑, Leu↑		Val/Phe, (Ile+Leu)/Phe, (Ile+Leu)/Ala	–
5	Phenylketon niệu kinh điển	Phe↑	Tyr ↓/ bt	Phe/Tyr	–
6	Tyrosinemia type I	Succinyl acetone ↑	Tyr bt/ ↑	Tyr/Cit	–
7	Argininemia	Arg↑		–	–

8	Tăng phenylalanine máu lạnh tính	Phe↑		Phe/Tyr	PKU
9	Citrullinemia type II	Cit↑		Cit/Arg	ASA, CIT typ I
10	Giảm sinh tổng hợp cofactor biopterin	Phe↑		Phe/Tyr	PKU
11	Rối loạn tái sinh cofactor biopterin.	Phe↑		Phe/Tyr	PKU
12	Tăng methionine máu	Met↑		Met/Phe	HCY
13	Tyrosinemia type II	Tyr↑		Tyr/Cit	TYR I, III
14	Tyrosinemia type III	Tyr↑		Tyr/Cit	TYR I, II
15	Tăng glycine máu không nhiễm ceton	Gly↑		Gly/Ala	–
16	Thiếu hụt Pyruvate carboxylase	Cit↑		Cit/Arg	ASA
17	Khiếm khuyết hấp thu carnitine	C0↓, C16- C18↓		(C0+C2+C3+C16+C18:1/CIT	GA I, 3MCC(mat)
18	Thiếu enzyme Long-chain 3-OH acyl-CoA dehydrogenase	C16:1-OH, C16-OH, C18:1-OH, C18-OH,		C16-OH/C16	TFP
19	Thiếu enzyme Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase	C6, C8, C10:1, C10		C8/C2, C8/C10	GA2, MCKAT
20	Thiếu Trifunctional protein	C16:1-OH, C16-OH, C18:1-OH, C18-OH,		C16-OH/C16	LCHAD

21	Thiếu enzyme Very long-chain acyl-CoA dehydrogenase.	C14:2, C14:1, C14		C14:1/C16	
22	Thiếu Dienoyl reductase	C10:2		C10:2/C10	
23	Thiếu Carnitine palmitoyl-transferase Ia (L)	C0 (high), C16 (low), C18(low)		C0/(C16+C18)	–
24	Thiếu Carnitine palmitoyl-transferase II	C16, C18:2, C18:1, C18		C0/(C16+C18)	CAC
25	Glutaric acidemia type II	C4–C18 saturated and unsaturated species		All ratios applicable to the primary markers	SCAD, IBG, EE
26	Thiếu enzyme Medium/short-chain 3-OH acyl-CoA dehydrogenase	C4OH		–	–
27	Thiếu enzyme Medium-chain ketoacyl-CoA dehydrogenase	C8		C8/C2, C8/C10	–
28	Thiếu enzyme Short-chain acyl-CoA dehydrogenase	C4		C4/C2, C4/C3, C4/C8	GA II, IBG, EE
29	Thiếu carnitine Acyl-translocase	C16, C18:2, C18:1, C18		C0/(C16+C18)	CPT II

30	Thiếu 3-Methyl crotonyl-CoA carboxylase	C5OH		C5OH/C8, C5OH/C0	MCD, BKT, 3MGA	HMG, 2M3HBA,
31	Chứng 3-Hydroxy 3-methyl Glutaric niệu	C5OH, C6DC		C5OH/C8	MCD, BKT, 3MGA	MCD, 2M3HBA,
32	Thiếu Beta-ketothiolase	C5:1, C5OH		C5OH/C8	3MCC, HMG, 3MGA	MCD, 2M3HBA,
33	Glutaric acidemia type I	C5DC		C5DC/C5OH, C5DC/C8, C5DC/C16	GA 2	
34	Isovaleric acidemia	C5		C5/C0, C5/C2, C5/C3	2MBG, GA2, EE	
35	Methylmalonic acidemia (A,B)	C3		C3/C2, C3/C16	MUT PA, Cbl C,D	
36	Methylmalonic acidemia (Mut)	C3		C3/C2, C3/C16	Cbl A,B PA	
37	Thiếu Multiple carboxylase	C5OH		C5OH/C8	3MCC	
38	Propionic acidemia	C3		C3/C2, C3/C16	MUT	
39	Chứng 2-Methyl 3 hydroxy butyric niệu	C5OH		C5OH/C8	3MCC	
40	Thiếu 2-Methylbutyryl CoA dehydrogenase	C5		C5/C0, C5/C2, C5/C3	IVA	
41	Chứng 3-Methyl glutaconic niệu	C5OH		C5OH/C8	3MCC	
42	Thiếu Isobutyryl-CoA dehydrogenase	C4		C4/C2, C4/C3, C4/C8	-	

43	Chứng Malonic niệu	C3DC		C3DC/C10	–
44	Methylmalonic acidemia (C,D)	C3		C3/C2,, C3/C16, C3/Met	MUT
45	Bệnh não do Ethylmalonic	C4, C5		All ratios applicable to the primary markers	IVA

V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ