

Số: 892 /QĐ- BV

Hà Giang, ngày 31 tháng 7 năm 2020

QUYẾT ĐỊNH

**Về việc Ban hành Quy trình chuyên môn khám, chữa bệnh
thuộc chuyên khoa Xét nghiệm, Vi Sinh**

GIÁM ĐỐC BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG

Căn cứ Luật khám chữa bệnh số 40/2009/QH12;

Căn cứ Quyết định số 101/QĐ-BV, ngày 02/02/2018 của Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang về việc ban hành Quy chế làm việc;

Căn cứ Quyết định 4068/QĐ-BYT, ngày 29/7/2016 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành Hướng dẫn biên soạn Quy trình chuyên môn khám bệnh, chữa bệnh;

Căn cứ Quyết định số 1629/QĐ-BV, ngày 13/12/2017 của Giám đốc Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang về việc Ban hành và thực hiện áp dụng hệ thống quản lý chất lượng theo tiêu chuẩn TCVN ISO 9001:2015 vào hoạt động của Bệnh viện;

Xét đề nghị của Trưởng phòng KHTH, trưởng khoa Vi sinh, Xét nghiệm.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo quyết định này **14 quy trình** chuyên môn khám, chữa bệnh là tài liệu hướng dẫn về thực hành quy trình chuyên môn được áp dụng tại khoa Xét nghiệm, Vi sinh và các khoa lâm sàng tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang.

Quy trình 1. QTKT Định lượng Pro - Calcitonin

Quy trình 2. QTKT Xét nghiệm Điện giải niệu

Quy trình 3. QTKT Định lượng Cortisol

Quy trình 4. QTKT Định lượng Prolactin

Quy trình 5. QTKT HBc IgM Miễn dịch tự động

Quy trình 6. QTKT HIV Ab/Ag HT miễn dịch tự động

Quy trình 7. QTKT Anti - HBc miễn dịch tự động

Quy trình 8. QTKT Anti - Hbe miễn dịch tự động

Quy trình 9. QTKT Anti - BHs Plus miễn dịch tự động

Quy trình 10. QTKT Anti - HAV miễn dịch tự động

Quy trình 11. QTKT Test nhanh Giang mai

Quy trình 12. QTKT Test nhanh Sốt xuất huyết

Quy trình 13. QTKT Test nhanh Sốt rét

Quy trình 14. QTKT Chẩn đoán nhiễm Covid - 19 (Sars-CoV-2)

Điều 2. Giao cho khoa Xét nghiệm, Vi Sinh và các khoa lâm sàng, các bộ phận có liên quan chịu trách nhiệm triển khai áp dụng quy trình chuyên môn trong cải tiến chất lượng chẩn đoán, điều trị, chăm sóc tại Bệnh viện.

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

Điều 4. Trưởng phòng KHTH, khoa Xét nghiệm, Vi sinh và các khoa lâm sàng và các bộ phận liên quan căn cứ Quyết định thi hành./.

Nơi nhận:

- Như điều 4;
- Ban Giám đốc;
- Sở Y tế Hà Giang;
- BHXH tỉnh Hà Giang;
- Website Bệnh viện;
- Lưu: VT, KHTH.



GIÁM ĐỐC

K/T GIÁM ĐỐC
PHÒNG GIÁM ĐỐC

Bs CKII. Vũ Hùng Vương

SỞ Y TẾ HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH



QUY TRÌNH

14 Quy trình chuyên môn khám, chữa bệnh

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 892/QĐ-BV, ngày 31/7/2020 của
Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang)*

Tháng 7 năm 2020

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH
KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐIỆN GIẢI NIỆU

Mã số: QTCXNALTY-TG-02-1.0
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCI	TP.KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 K/T GIÁM ĐỐC PHÓ GIÁM ĐỐC Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Lê Việt Quang	Đỗ Văn Nghĩa	

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình này mô tả/hướng dẫn chi tiết thực hiện một xét nghiệm Điện giải niệu trên máy AU680 nhằm đảm bảo chất lượng trước khi trả kết quả cho người bệnh.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Quy trình này được áp dụng tại khoa xét nghiệm sinh hóa khi thực hiện xét nghiệm Điện giải niệu trên máy AU680

3. TRÁCH NHIỆM

* Cán bộ nhân viên kỹ thuật được giao nhiệm vụ thực hiện xét nghiệm Điện giải niệu trên máy AU680 có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình này.

* Phụ trách khoa, kỹ thuật viên trưởng khoa có trách nhiệm giám sát quy trình này tại khoa

4. NGUYÊN LÝ

Module ISE Na⁺, K⁺, và Cl⁻ sử dụng màng điện cực bán thấm cho Na⁺/K⁺ và màng PVC phân tử cho Cl⁻, đặc hiệu với từng điện cực trong mẫu thử. Một điện thế được tính toán theo phương trình Nernst cho từng ion cụ thể. Khi so sánh với một điện cực tham chiếu, điện thế chuyển thành điện áp và sau đó thành nồng độ của các ion trong mẫu.

5. CHUẨN BỊ

*** Người thực hiện**

- 01 Cán bộ đại học chuyên ngành xét nghiệm 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 xét nghiệm tự động tự động.

*** Thiết bị dụng cụ**

- Máy ly tâm KUBOTA 4000, KUBOTA 5100, có tốc độ vòng quay 3000 vòng/phút

- Các máy phân tích miễn dịch như: LIAISON XL

- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC, mẫu bệnh phẩm

- Giá đựng ống nghiệm

- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin, đầu côn xanh và vàng

- Pipét tự động các loại 1000ml, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.

- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động, ống sample cup, sample tuýp

* Hóa chất sinh phẩm

ISE Low/High Urine Standard

Na ⁺	(Low) 50 mmol/L
	(High) 200 mmol/L
K ⁺	(Low) 10 mmol/L
	(High) 100 mmol/L
Cl ⁻	(Low) 50 mmol/L
	(High) 180 mmol/L

ISE Internal Reference

Potassium Chloride	3.3 mol/L
Silver Chloride	Saturated

ISE K⁺ Selectivity Check

K ⁺	5 mmol/L
----------------	----------

Thuốc thử và chất chuẩn sẵn sàng để sử dụng.

* Mẫu bệnh phẩm

Nước tiểu: thu thập nước tiểu 24 giờ mà không có chất phụ gia. Mẫu nước tiểu có cặn nên được làm sạch bằng ly tâm. Thời gian ổn định trong nước tiểu như sau:

Chloride ⁶	1 tuần khi bảo quản ở 2...25°C
Potassium ⁴	2 tháng khi bảo quản ở 2...8°C 45 ngày khi bảo quản ở 15...25°C
Sodium ⁴	45 ngày khi bảo quản ở 2...25°C

Tham khảo tài liệu Young để biết các yếu tố tiền phân tích kết hợp với Sodium, Potassium và Chloride

* Phiếu xét nghiệm:

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, ghi rõ chỉ định tên bác sỹ chỉ định

6. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện đúng quy trình bảo trì bảo dưỡng, quy trình nội ngoại kiểm theo quy định

7. AN TOÀN

Cảnh báo các mối nguy hiểm và các ký hiệu chỉ thị rủi ro.

ISE Buffer, ISE Mid Standard: Gây kích ứng, chứa formaldehyde. R43. Có thể gây kích ứng khi tiếp xúc với da. Ký hiệu an toàn:

S24, S37, S60: Tránh tiếp xúc với da. Mang găng tay. . Các chất thải và các bình chứa nó phải được thu gom như chất thải nguy hiểm. Thu gom các chất thải theo quy định của nơi sử dụng. Xem thêm hướng dẫn hướng dẫn an toàn để biết thêm thông tin.

- Không ăn, uống, hút thuốc và sử dụng mỹ phẩm trong quá trình xét nghiệm.
- Không sử dụng pipet bằng miệng.
- Tránh tiếp xúc trực tiếp với các vật liệu có nguy cơ lây nhiễm bằng cách mặc quần áo bảo hộ, đeo kính bảo vệ và găng tay. Rửa tay kỹ sau mỗi lần xét nghiệm.

8. CÁC BƯỚC THỰC HIỆN

Thực hiện chạy mẫu xét nghiệm theo quy trình máy AU680

9. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Máy sinh hóa Beckman Coulter tự động tính toán giá trị của sodium, potassium và chloride trong mỗi mẫu thử. Gửi ra phần mềm labcom

10. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Các chất ảnh hưởng

Một số thuốc chống đông, chất bảo quản, thuốc và các hợp chất có thể ảnh hưởng đến kết quả điện giải. Tham khảo tài liệu Young để biết thêm thông tin về các chất ảnh hưởng.

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG

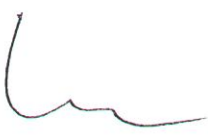
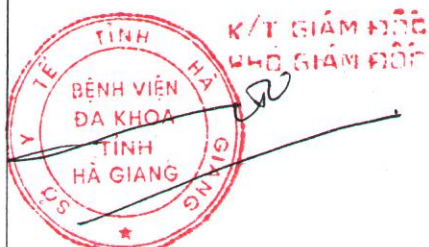


QUY TRÌNH
KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐỊNH LƯỢNG CORTISOL

Mã số: QTCXNALTY-TG-02-1.0

Lần ban hành: 01

Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCKI	TP. KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Lê Việt Quang	Đỗ Văn Nghĩa	

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình này mô tả/hướng dẫn chi tiết thực hiện một xét nghiệm cortisol trên máy Liaison nhằm đảm bảo chất lượng trước khi trả kết quả cho người bệnh.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Quy trình này được áp dụng tại khoa xét nghiệm sinh hóa khi thực hiện xét nghiệm cortisol trên máy Liaison

3. TRÁCH NHIỆM

* Cán bộ nhân viên kỹ thuật được giao nhiệm vụ thực hiện xét nghiệm cortisol trên máy Liaison có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình này.

* Phụ trách khoa, kỹ thuật viên trưởng khoa có trách nhiệm giám sát quy trình này tại khoa

4. NGUYÊN LÝ

Phương pháp định lượng cortisol dựa trên nguyên lý SPALT (kỹ thuật liên kết với kháng nguyên trên pha rắn – Solid Phase Antigen Linked Technique). Một phức hợp cortisol - protein được phủ lên các hạt từ (pha rắn); một kháng thể đơn dòng liên kết với một dẫn xuất của isoluminol (chất cộng hợp kháng thể - isoluminol).

Trong khi ủ, cortisol trong mẫu cạnh tranh với phức hợp cortisol - protein tại các vị trí gắn trên kháng thể trong chất cộng hợp. Sau khi ủ, các vật liệu không gắn sẽ được loại bỏ bằng chu trình rửa.

Sau đó, cơ chất được thêm vào và phản ứng hóa phát quang bắt đầu. Tín hiệu ánh sáng, tương ứng với lượng chất cộng hợp kháng thể - isoluminol, được đo bởi bộ phận nhân quang dưới dạng đơn vị ánh sáng tương đối (RLU) và cho biết nồng độ cortisol có mặt trong chất hiệu chuẩn/ chất kiểm chứng/ mẫu bệnh phẩm.

5. CHUẨN BỊ

*** Người thực hiện**

- 01 Cán bộ đại học chuyên ngành xét nghiệm 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 miễn dịch tự động.

*** Thiết bị dụng cụ**

- Máy ly tâm KUBOTA 4000, KUBOTA 5100, có tốc độ vòng quay 3000 vòng/phút
- Các máy phân tích miễn dịch như: LIAISON XL
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC, mẫu bệnh phẩm
- Giá đựng ống nghiệm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin, đầu côn xanh và vàng
- Pipét tự động các loại 1000ml, 500µl, 100µl, 50µl và 10µl.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động. ống sample cup, sample tuýp

*** Hóa chất sinh phẩm**

Thứ tự các thuốc thử phản ánh thứ tự của các khoang chứa thuốc thử trên khay tích hợp:

Khay thuốc thử tích hợp đủ cho 100 lần xét nghiệm		
2,3 mL	[SORB]	Pha rắn: hạt từ được phủ phức hợp cortisol - protein, albumin huyết thanh bò (BSA), 0,09% natri azid.
1,0 mL	[CAL 1]	Chất hiệu chuẩn 1, mức thấp: cortisol, huyết thanh người (không chứa các hormon steroid khác), 0,09% natri azid.
1,0 mL	[CAL 2]	Chất hiệu chuẩn 2, mức cao: cortisol, huyết thanh người (không chứa các hormon steroid khác), 0,09% natri azid.
7,0 mL	[CONJ]	Chất cộng hợp: kháng thể (chuột, đơn dòng) kháng cortisol được gắn với isoluminol, kháng thể IgG (chuột), BSA, 0,09% natri azid.
23,0 mL	[BUF A]	Dung dịch đệm A: BSA, 0,09% natri azid.

Tất cả các thuốc thử được cung cấp sẵn sàng để sử dụng.

Các vật liệu cần thiết nhưng không được cung cấp (liên quan đến hệ thống)

Máy LIAISON XL	Máy LIAISON
LIAISON Wash/System Liquid (Mã 319100)	LIAISON Wash/System Liquid (Mã 319100)
LIAISON XL Waste Bags (Mã X0025)	LIAISON Waste Bags (Mã 450003)
LIAISON XL Cuvettes (Mã X0016).	LIAISON Module (Mã 319130)
LIAISON XL Starter Kit (Mã 319200)	LIAISON Starter Kit (Mã 319102)
LIAISON XL Disposable Tips (Mã X0015)	hoặc LIAISON XL Starter kit (Mã 319200)
	LIAISON Cleaning Kit (Mã 310990)
	LIAISON Light check 12 (Mã 319150)

Vật liệu yêu cầu bổ sung cho xét nghiệm

LIAISON Endocrinology Diluent (Mã 319133)

*** Mẫu bệnh phẩm**

Lấy mẫu theo các quy trình chuẩn.

Loại mẫu: huyết thanh**, huyết tương** (chống đông bằng EDTA, citrat, heparin), nước tiểu đã được tách chiết bằng methylen clorid (nước tiểu 24 giờ)*.

*Tuân thủ nghiêm ngặt các thận trọng an toàn và các điều kiện bảo quản đối với mẫu nước tiểu đã tách chiết theo quy trình đã chọn. LIAISON Endocrinology Diluent thích hợp để tái hòa tan các cặn của dịch chiết đã khô dùng cho xét nghiệm. Các dữ liệu phục hồi thực tế và dải bình thường đối với mẫu nước tiểu phải được diễn giải chi tiết bởi mỗi phòng xét nghiệm.

** Có thể sử dụng mẫu huyết thanh hoặc huyết tương cho xét nghiệm. Các chất chống đông heparin đã được kiểm tra và có thể sử dụng được với xét nghiệm này. Việc sử dụng mẫu huyết tương có thể làm giảm tín hiệu, dẫn đến việc ước tính kết quả thấp hơn thực tế (khoảng 15%). Mẫu huyết thanh hay huyết tương chứa cortisol ở nồng độ rất cao nên được pha loãng bằng huyết thanh hay huyết tương chứa cortisol ở **nồng độ thấp**. Nồng độ cortisol trong mẫu nên được tính toán sau khi đã bao gồm cả giá trị **nồng độ thấp** của huyết thanh hay huyết tương được dùng như dung dịch pha loãng.

Nếu xét nghiệm không được thực hiện trong cùng ngày lấy mẫu, mẫu huyết thanh/huyết tương nên được phân tách với phần kết tủa phía dưới và bảo quản trong ống riêng.

Bảo quản mẫu ở 2-8°C: ổn định trong 24 giờ.

Để bảo quản mẫu trong khoảng thời gian dài hơn, làm đông mẫu ở nhiệt độ dưới -20°C.

Tránh lặp lại chu trình làm đông – rã đông.

Các mẫu đã được bảo quản nên được trộn kỹ trước khi sử dụng (bằng máy trộn Vortex).

Không sử dụng các mẫu tán huyết, nhiễm mỡ nặng cũng như các mẫu chứa hạt tiểu phân hoặc các có dấu hiệu nhiễm khuẩn để tiến hành xét nghiệm.

Không sử dụng các mẫu có cục đông.

Thể tích mẫu tối thiểu yêu cầu cho một xét nghiệm là 200 µL (50 µL xét nghiệm + 150 µL thể tích chết).

*** Phiếu xét nghiệm:**

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, ghi rõ chỉ định tên bác sỹ chỉ định

6. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện đúng quy trình bảo trì bảo dưỡng, quy trình nội ngoại kiểm theo quy định

7. AN TOÀN

- Không ăn, uống, hút thuốc và sử dụng mỹ phẩm trong quá trình xét nghiệm.
- Không sử dụng pipet bằng miệng.
- Tránh tiếp xúc trực tiếp với các vật liệu có nguy cơ lây nhiễm bằng cách mặc quần áo bảo hộ, đeo kính bảo vệ và găng tay. Rửa tay kỹ sau mỗi lần xét nghiệm.

- Tránh làm bắn hoặc hình thành dạng khí dung khi thao tác với thuốc thử. Tất cả các giọt sinh phẩm cần được loại bỏ bằng dung dịch natri hypoclorit với 0,5% Clo hoạt tính và các dụng cụ đã sử dụng cần được xử lý như chất thải lây nhiễm.

- Tất cả các mẫu và thuốc thử chứa nguyên liệu có nguồn gốc sinh học sử dụng trong xét nghiệm cần được coi như nguồn có nguy cơ lây nhiễm. Phế phẩm phải được xử lý thận trọng và thải bỏ theo hướng dẫn của phòng xét nghiệm và theo quy định pháp lý hiện hành ở mỗi nước.

- Bất cứ nguyên liệu nào được dùng cho mục đích tái sử dụng cũng cần được tiệt trùng theo quy định và hướng dẫn của khu vực. Kiểm tra hiệu lực của chu trình tiệt trùng/khử trùng.

- Không sử dụng bộ thuốc thử hoặc các thành phần đã hết hạn ghi trên nhãn.

8. CÁC BƯỚC THỰC HIỆN

- Thuốc thử tích hợp

Tuần thủ các lưu ý quan trọng dưới đây khi thao tác với thuốc thử:

Tái phân tán hạt từ

Hạt từ phải được tái phân tán hoàn toàn trước khi khay tích hợp được đặt vào trong máy. Làm theo các bước dưới đây để đảm bảo sự phân tán hoàn toàn:

Trước khi loại bỏ niêm phong, xoay bánh xe nhỏ ở phía dưới khoang hạt từ cho tới khi màu của hỗn dịch chuyển sang màu nâu. Trộn từ từ và cẩn thận mặt này sang mặt kia có thể hỗ trợ sự phân tán của các hạt từ (tránh tạo bọt). Kiểm tra trực quan phía dưới khoang hạt từ để xác nhận rằng các hạt từ đã tái phân tán. Lặp lại nếu cần

cho đến khi hạt từ tái phân tán hoàn toàn. Sau khi bỏ niêm phong, lau cẩn thận bề mặt vách ngăn của mỗi khoang để loại bỏ các chất lỏng đọng lại nếu cần.

Tránh tạo bọt

Để đảm bảo hiệu năng tối đa của thuốc thử tích hợp, tránh tạo bọt thuốc thử. Tuân thủ chặt chẽ hướng dẫn dưới đây để tránh quá trình tạo bọt xảy ra:

Kiểm tra trực quan các thuốc thử, đặc biệt là các chất hiệu chuẩn (vị trí thứ hai và ba sau khoang hạt từ), đảm bảo khay tích hợp không có bọt khí trước khi sử dụng. Nếu bọt tạo thành sau khi tái phân tán hạt từ, đặt khay tích hợp vào thiết bị và để bọt tan đi. Thuốc thử sẵn sàng để sử dụng khi bọt đã tan hết, khay tích hợp được duy trì trên máy và trộn.

Nạp thuốc thử tích hợp vào khoang thuốc thử

Máy xét nghiệm LIAISON:

Đặt khay tích hợp vào trong khoang thuốc thử của máy với phần có mã vạch quay về bên trái và để yên khay trong vòng 30 phút trước khi sử dụng. Máy sẽ tự động khuấy và tái phân tán hoàn toàn hạt từ.

Tham khảo tài liệu hướng dẫn sử dụng của thiết bị để nạp mẫu và bắt đầu chạy.

Máy xét nghiệm LIAISON XL:

Máy phân tích LIAISON XL được trang bị bộ phận từ (tương thích với pha rắn) nhằm hỗ trợ quá trình phân tán hạt từ trước khi đặt khay thuốc thử tích hợp vào khoang thuốc thử của máy phân tích. Tham khảo tài liệu hướng dẫn sử dụng của thiết bị để có thông tin chi tiết.

Nạp khay thuốc thử tích hợp vào khe cắm chuyên dụng.

Để khay tích hợp trong bộ phận từ trong ít nhất 30 giây (có thể kéo dài trong vài phút). Lắp lại nếu cần thiết.

Đặt khay thuốc thử tích hợp vào trong khoang thuốc thử của máy với phần có nhãn quay về bên trái và để yên khay trong 15 phút trước khi sử dụng. Máy sẽ tự động khuấy và tái phân tán hoàn toàn hạt từ.

Tham khảo tài liệu hướng dẫn sử dụng của thiết bị để nạp mẫu và bắt đầu chạy. Việc phân tích các chất hiệu chuẩn đặc hiệu với xét nghiệm cho phép xác định các giá trị RLU để hiệu chỉnh lại đường cong chuẩn đã gán. Mỗi chất hiệu chuẩn cho phép thực hiện lên tới 6 lần hiệu chuẩn.

Yêu cầu hiệu chuẩn lặp lại 3 lần mỗi khi có một trong các điều kiện sau:

- Sử dụng lô thuốc thử tích hợp hoặc cơ chất mới.
- 14 ngày kể từ lần hiệu chuẩn trước đó.
- Máy phân tích được bảo dưỡng.
- Giá trị kiểm chứng nằm ngoài dải mong đợi.
- Khi nhiệt độ phòng thay đổi quá 3°C.

Máy LIAISON: Giá trị chất hiệu chuẩn được lưu trong mã vạch trên nhãn khay tích hợp.

- Máy LIAISON XL: Giá trị chất hiệu chuẩn được lưu trong thẻ nhận diện tần số radio (Thẻ RFID).

8.1 QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM

Tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng của thiết bị để đảm bảo hiệu năng của xét nghiệm

Máy LIAISON. Mỗi thông số xét nghiệm được xác định qua mã vạch trên nhãn khay thuốc thử tích hợp. Trong trường hợp máy không thể đọc được mã vạch, khay thuốc thử tích hợp sẽ không thể sử dụng được. Không thải bỏ thuốc thử, liên hệ với hỗ trợ kỹ thuật của DiaSorin tại khu vực để được hỗ trợ.

Máy LIAISON XL. Mỗi thông số xét nghiệm được xác định qua thông tin mã hóa trong thẻ nhận diện tần số Radio (Thẻ RFID) của khay thuốc thử tích hợp. Trong trường hợp máy không thể đọc được thẻ RFID, khay thuốc thử tích hợp sẽ không thể sử dụng được. Không thải bỏ thuốc thử, liên hệ với hỗ trợ kỹ thuật của DiaSorin tại khu vực để được hỗ trợ.

Xét nghiệm yêu cầu kích hoạt các dữ liệu xét nghiệm sau:

Đối với máy LIAISON XL: Cort, CortS và CortU

Đối với máy LIAISON: CortC, CortS và CortU

Để xét nghiệm mẫu, chỉ sử dụng CortS hoặc CortU:

Chọn “CortS” trong hộp thoại nạp mẫu (không chọn “CortU”) với mẫu huyết thanh và huyết tương.

Chọn “CortU” trong hộp thoại nạp mẫu (không chọn “CortS”) với mẫu nước tiểu.

Không chọn “CortS” đối với các mẫu nước tiểu.

Không dùng Cort hoặc CortC.

Máy LIAISON vận hành như sau:

- Phân phối chất hiệu chuẩn/ chất kiểm chứng/ mẫu bệnh phẩm vào mô-đun phản ứng.
- Phân phối hạt từ (pha rắn), đệm A, chất cộng hợp và đệm A.
- Ủ.
- Rửa bằng Wash/System Liquid.
- Thêm cơ chất và đo tín hiệu ánh sáng phát ra.

9. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Máy phân tích LIAISON tự động tính toán nồng độ cortisol cho các mẫu chưa biết nồng độ theo đơn vị $\mu\text{g/dL}$. Để biết thêm thông tin, tham khảo hướng dẫn sử dụng của thiết bị. Các chất hiệu chuẩn và chất kiểm chứng có thể cho các giá trị RLU khác nhau hoặc kết quả khác nhau trên máy LIAISON và LIAISON XL, nhưng kết quả bệnh nhân là tương đương.

9.1. Chuẩn hóa chất phân tích

Hiệu chuẩn xét nghiệm sử dụng các giá trị thu được bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GCMS) được cung cấp bởi Hiệp hội Hóa sinh lâm sàng và Phòng xét nghiệm y học Đức (German United Association for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – DGKL) đối với các mẫu dùng cho các nghiên cứu ở vòng thử nghiệm trên cộng đồng (EQAS).

9.2. Dải đo của xét nghiệm

Dải đo của xét nghiệm LIAISON Cortisol lên tới $80 \mu\text{g/dL}$.

Hệ số chuyển đổi đơn vị tính:

$1 \mu\text{g/dL} \times 27,6 = 27,6 \text{ nmol/L}$
$1 \text{ nmol/L} \times 0,0362 = 0,0362 \mu\text{g/dL}$

9.3. Dải tham chiếu

Dải tham chiếu (tại bách phân vị thứ 2,5 – 97,5 của nhóm chứng tham chiếu)	n (số lần XN)	Cortisol ($\mu\text{g/dL}$)
Mẫu huyết thanh lấy buổi sáng (6-10 giờ)	349	4,5 – 24,0
Mẫu huyết thanh lấy buổi tối (16-20 giờ)	12	1,8 – 6,5
Mẫu nước tiểu 24 giờ đã được tách chiết bằng Methylen chlorid (quy trình được xây dựng tùy theo mỗi phòng xét nghiệm)	50	12,8 - 82,5 $\mu\text{g}/24$ giờ

10. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Chỉ sử dụng thuốc thử trên các máy phân tích miễn dịch tự động LIAISON và LIAISON XL.

Không được hút chuyển các thành phần ra khỏi khay tích hợp.

Không sử dụng bộ thuốc thử tích hợp đã quá hạn in trên nhãn.

Để thu được kết quả đáng tin cậy, yêu cầu kỹ thuật thành thạo và tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng.

Các mẫu nhiễm khuẩn hoặc bất hoạt bởi nhiệt có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

Các mẫu được lấy từ bệnh nhân đang được điều trị bởi prednisolon hoặc prednison có thể cho kết quả nồng độ cortisol cao giả. Cần thận trọng khi thực hiện xét nghiệm cortisol ở các bệnh nhân đang trải qua đợt điều trị sử dụng cortisol hoặc các corticosteroid tổng hợp có liên quan về cấu trúc. Vì vậy, các giá trị nồng độ cortisol chỉ được diễn giải khi kết hợp với các dữ liệu lâm sàng và các quy trình chẩn đoán khác. Bất cứ quyết định điều trị nào đều phải được đưa ra theo từng trường hợp cụ thể.

Các mẫu hoặc chất kiểm chứng chứa các nguyên liệu có có bản chất nhân tạo một phần hoặc có nguồn gốc từ người đã qua xử lý đôi khi có thể cho các kết quả sai lệch so với mong đợi.

Mặc dù các tác nhân hạn chế ảnh hưởng của kháng thể người kháng chuột (HAMA) đã được bổ sung trong thành phần của bộ thuốc thử, nồng độ rất cao HAMA đôi khi vẫn có thể ảnh hưởng đến kết quả của xét nghiệm.

Các mẫu cho kết quả vượt quá dải đo của xét nghiệm có thể được pha loãng theo hướng dẫn tại mục “5.lấy mẫu bệnh phẩm”

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG

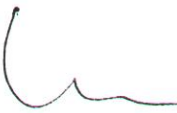


QUY TRÌNH
KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐỊNH LƯỢNG PRO - CALCITONIN

Mã số: QTCXNALTY-TG-02-1.0

Lần ban hành: 01

Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCI	TP. KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 K/T GIÁM ĐỐC PHÓ GIÁM ĐỐC Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Lê Việt Quang	Đỗ Văn Nghĩa	

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình này mô tả/hướng dẫn chi tiết thực hiện một xét nghiệm procalcitonin nhằm đảm bảo chất lượng trước khi trả kết quả cho người bệnh.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Quy trình này được áp dụng tại khoa xét nghiệm sinh hóa khi thực hiện xét nghiệm procalcitonin

3. TRÁCH NHIỆM

* Cán bộ nhân viên kỹ thuật được giao nhiệm vụ thực hiện xét nghiệm procalcitonin có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình này.

* Phụ trách khoa, kỹ thuật viên trưởng khoa có trách nhiệm giám sát quy trình này tại khoa

4. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm định lượng PCT sử dụng phương pháp xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang theo nguyên lý “sandwich”.

Hạt từ (pha rắn) được phủ một kháng thể đơn dòng đặc hiệu; một kháng thể đơn dòng khác (đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên khác của procalcitonin) được gắn với dẫn xuất isoluminol (chất cộng hợp kháng thể - isoluminol).

Trong lần ủ đầu tiên, PCT có mặt trong chất hiệu chuẩn, mẫu bệnh phẩm và chất kiểm chứng sẽ liên kết với kháng thể trong chất cộng hợp. Sau đó pha rắn được thêm vào phản ứng. Cấu trúc “sandwich” chỉ được hình thành khi có mặt phân tử PCT với vai trò là cầu nối liên kết giữa 2 kháng thể. Sau lần ủ thứ 2, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng chu trình rửa.

Sau đó, các cơ chất được thêm vào và phản ứng hóa phát quang xảy ra. Tín hiệu ánh sáng, phản ánh lượng chất cộng hợp kháng thể - isoluminol, được đo bởi bộ phân nhân quang dưới dạng đơn vị ánh sáng tương đối (RLU) và cho biết nồng độ PCT có mặt trong chất hiệu chuẩn, mẫu và chất kiểm chứng.

5. CHUẨN BỊ

*** Người thực hiện**

- 01 Cán bộ đại học chuyên ngành xét nghiệm 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 miễn dịch tự động.

*** Thiết bị dụng cụ**

- Máy ly tâm KUBOTA 4000, KUBOTA 5100, có tốc độ vòng quay 3000 vòng/phút

- Các máy phân tích miễn dịch như: LIAISON XL

- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC, mẫu bệnh phẩm
- Giá đựng ống nghiệm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin, đầu côn xanh và vàng
- Pipét tự động các loại 1000ml, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động. ống sample cup, sample tuýp

*** Hóa chất sinh phẩm**

- Hạt từ (2,5 mL): Hạt từ (hỗn dịch) phủ kháng thể đơn dòng kháng katacalcin, albumin huyết thanh bò (BSA), đệm muối phosphat (PBS), 0,1% natri azide.
- Chất cộng hợp (13 mL): Kháng thể đơn dòng kháng calcitonin cộng hợp với dẫn xuất isoluminol, kháng thể IgG (đa dòng chuột, cừu, bò) không đặc hiệu, BSA, đệm PBS, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất hiệu chuẩn A (1,3 mL): Procalcitonin người tái tổ hợp, đệm PBS, BSA, yếu tố kháng protease (anti-protease). (dạng bột đông khô).

- Chất hiệu chuẩn B (1,3 mL): Procalcitonin người tái tổ hợp, đệm PBS, BSA, yếu tố kháng protease. (dạng bột đông khô).

- Chất kiểm chứng mức 1 (2 x 1,1 mL): Procalcitonin người tái tổ hợp, đệm muối phosphat (PBS), albumin huyết thanh bò (BSA), yếu tố kháng protease (anti-protease). (dạng bột đông khô).

- Chất kiểm chứng mức 2 (2 x 1,1 mL): Procalcitonin người tái tổ hợp, đệm PBS, BSA, yếu tố kháng protease. (dạng bột đông khô).

- Dung dịch pha loãng (2 x 4,7 mL): Huyết tương người/huyết thanh người, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- LIAISON Wash/system liquid: Dung dịch rửa phản ứng

- LIAISON XL Starter: Cơ chất phản ứng

- LIAISON XL Cuvettes: Giếng phản ứng cho máy LIAISON XL

- LIAISON XL Disposable Tips: Đầu côn dùng một lần sử dụng cho máy LIAISON XL.

- LIAISON Light check 12: Dung dịch kiểm tra hệ thống

- LIAISON XL Cleaning tool: Dung dịch bảo dưỡng máy hàng ngày

*** Mẫu bệnh phẩm**

- Mẫu bệnh phẩm có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, khoa phòng. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 3 ngày

- Để bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng (20-25°C). Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ

*** Phiếu xét nghiệm:**

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, ghi rõ chỉ định tên bác sỹ chỉ định

6. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện đúng quy trình bảo trì bảo dưỡng, quy trình nội ngoại kiểm theo quy định

7. AN TOÀN

- Tuân thủ thực hiện quy định an toàn sinh học cấp I-II

8. CÁC BƯỚC THỰC HIỆN

- Dụng đường chuẩn: dựa trên chuẩn 2 điểm với các nồng độ chuẩn khác nhau. Dụng lại đường cong chuẩn mỗi khi sử dụng tích hợp mới. Ngoài ra, cần phải hiệu chuẩn lại trong các trường hợp sau: thay đổi số lot hoá chất, thay thế các bộ phận của máy, QC hàng ngày bị ngoài khoảng tham chiếu.

- Phân tích QC: ở cả 2 nồng độ. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu.

9. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Máy xét nghiệm tự động tính toán nồng độ PCT. Tham khảo hướng dẫn sử dụng thiết bị để biết thông tin chi tiết.

Khi phân tích chất hiệu chuẩn và chất kiểm chứng trên máy LIAISON, LIAISON XL và LIAISON XS, giá trị RLU hoặc nồng độ thu được có thể khác nhau, tuy nhiên, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân trên 2 máy là tương đương.

Dải đo: nồng độ PCT từ 0,020 - 100 ng/mL. Mẫu có nồng độ PCT vượt quá dải đo có thể được pha loãng bằng dung dịch pha loãng ở trong bộ chất kiểm chứng LIAISON Control BRAHMS PCT II gen (mã 318041).

Tiêu chuẩn: Xét nghiệm được hiệu chuẩn theo BRAHMS PCT sensitive KRYPTOR (phương pháp tham chiếu).

Dải kỳ vọng: Theo tài liệu tham khảo (*), kết quả xét nghiệm LIAISON BRAHMS PCT II GEN có thể được diễn giải như sau:

- Kết quả nồng độ PCT < 0,5 ng/mL cho biết có nguy cơ thấp mắc nhiễm khuẩn huyết nặng và sốc do nhiễm khuẩn huyết.

- Kết quả nồng độ PCT > 2,0 ng/mL cho biết có nguy cơ cao mắc nhiễm khuẩn huyết nặng và sốc do nhiễm khuẩn huyết

10. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm nên được sử dụng kết hợp với các dữ liệu lâm sàng và xét nghiệm khác để hỗ trợ các bác sỹ trong việc đưa ra các quyết định điều trị trên từng bệnh nhân

- Để thu được kết quả đáng tin cậy, yêu cầu kỹ thuật thành thạo và tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng.

- Mẫu tán huyết, mẫu vàng da hoặc mẫu nhiễm mỡ cũng như các mẫu có chứa các hạt tiểu phân hoặc nhiễm vi sinh không nên thực hiện xét nghiệm này.

- Mẫu nhiễm khuẩn hoặc đông lạnh - rã đông nhiều lần có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

- Không nên bắt hoạt bằng nhiệt đối với các mẫu huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA hoặc mẫu nước tiểu.

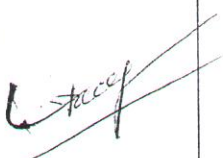
- Không nên trao đổi các tích hợp giữa các dòng máy (LIAISON và LIAISON XL). Khi thuốc thử được sử dụng cho một máy phân tích cụ thể, nó phải luôn được sử dụng trên máy đó cho đến khi sử dụng hết. Do những yêu cầu về việc truy suất nguồn gốc ở trên, việc theo dõi bệnh nhân không được kết luận khi kết hợp các dòng máy khác nhau. Việc kết luận phải được tiến hành ở trên cùng một dòng máy phân tích (LIAISON hoặc LIAISON XL)

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
ĐỊNH LƯỢNG PROLACTIN

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCI	TP.KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			
Họ tên	Lê Việt Quang	Đỗ Văn Nghĩa	

1. MỤC ĐÍCH

- Quy trình này mô tả/hướng dẫn chi tiết thực hiện một xét nghiệm Prolactin nhằm đảm bảo chất lượng trước khi trả kết quả cho người bệnh.

2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Quy trình này được áp dụng tại khoa xét nghiệm sinh hóa khi thực hiện xét nghiệm Prolactin.

3. TRÁCH NHIỆM

* Cán bộ nhân viên kỹ thuật được giao nhiệm vụ thực hiện xét nghiệm Prolactin có trách nhiệm tuân thủ đúng quy trình này.

* Phụ trách khoa, kỹ thuật viên trưởng khoa có trách nhiệm giám sát quy trình này tại khoa.

4. NGUYÊN LÝ

Prolactin là hormone có cấu tạo bởi một chuỗi peptide đơn với 198 axit amin và trọng lượng phân tử khoảng 23 kDa, được tổng hợp trong tế bào ưa acid của thùy trước tuyến yên. Sự bài tiết của hormone này chịu sự kiểm soát của vùng dưới đồi: dopamine hoặc dopaminergic là chất ức chế bài tiết prolactin, trong khi yếu tố kích thích giải phóng prolactin chủ yếu là thyrotropin-releasing hormone (TRH).

Phương pháp xét nghiệm định lượng Prolactin là miễn dịch hóa phát quang kẹp.

Kháng thể đơn dòng chuột có độ đặc hiệu cao được sử dụng để phủ lên pha rắn (hạt từ), kháng thể đơn dòng khác được gắn với dẫn xuất isoluminol (kháng thể liên kết với isoluminol).

Trong thời gian ủ, prolactin có mặt trong dung dịch hiệu chuẩn, kiểm chứng hoặc bệnh phẩm gắn với kháng thể đơn dòng trên pha rắn, và tiếp sau đó kháng thể tích hợp sẽ gắn với các prolactin trực tiếp trên pha rắn.

Sau khi ủ, những nguyên liệu không liên kết được loại bỏ trong chu trình rửa.

Sau đó, cơ chất được thêm vào và phản ứng hóa phát quang được bắt đầu. Tín hiệu ánh sáng được đo bởi bộ phận nhân quang dưới dạng đơn vị quan hệ ánh sáng (RLU) và cho thấy nồng độ prolactin có mặt trong chất chuẩn, chất kiểm chứng và trong mẫu.

5. CHUẨN BỊ

*** Người thực hiện**

- Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành sinh hóa mang đầy đủ trang phục theo quy định.

*** Thiết bị dụng cụ**

- Máy ly tâm KUBOTA 4000, KUBOTA 5100, có tốc độ vòng quay 3000 vòng/phút
- Hệ thống máy xét nghiệm miễn dịch LIAISON
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin.

- Pipet tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.

*** Hóa chất sinh phẩm**

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Prolactin, chất chuẩn Prolactin, chất kiểm tra chất lượng Prolactin.

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Subtrace
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, bông, cồn, găng tay ...

*** Mẫu bệnh phẩm**

- Mẫu bệnh phẩm có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, khoa phòng. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 24h.

- Để bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng (20-25°C). Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ

*** Phiếu xét nghiệm:**

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, ghi rõ chỉ định tên bác sỹ chỉ định

6. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện đúng quy trình bảo trì bảo dưỡng, quy trình nội ngoại kiểm theo quy định

7. AN TOÀN

- Tuân thủ thực hiện quy định an toàn sinh học cấp I

8. CÁC BƯỚC THỰC HIỆN

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Prolactin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Prolactin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Prolactin 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 .

- 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.

9. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nữ:
 - Trong độ tuổi sinh sản: 132 - 498 mIU/L
 - Thời kì mãn kinh: 90 – 392 mIU/L
- Nam: 87 – 392 mIU/L

Xét nghiệm Prolactin thực hiện trên hệ thống Liason có thể đo được Prolactin đến nồng độ 8000 mIU/L.

10. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm:

- Mẫu bệnh phẩm vỡ hồng cầu, huyết thanh đục, bilirubin cao có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Vì vậy nên cân nhắc hướng dẫn bệnh nhân lấy lại máu để kết quả chính xác nhất.

- Khi định lượng prolactin, xét nghiệm cần được thực hiện trong các trường hợp phụ nữ không bị các tình trạng gây nhiễu rõ rệt như :

- Căng thẳng thể chất (đặc biệt là phẫu thuật hoặc khám phụ khoa)
- Căng thẳng tâm lý
- Thuốc (ví dụ như TRH , estrogen, dopamine , một phần insulin)
- Chế độ ăn kiêng (ảnh hưởng của các axit amin thiết yếu)
- Sờ vú và kích ứng vú từ việc cho con bú.

- Nồng độ prolactin bị dương tính giả trong trường hợp nồng độ của macroprolactin cao (syn: pseudohyperprolactinaemia) tham khảo mục 15.1. Nồng độ prolactin huyết thanh cao không thể sử dụng như một bằng chứng rõ ràng cho sự xuất hiện của u tuyến yên nhưng có thể sử dụng trong chuẩn đoán u tuyến thượng thận với các triệu chứng lâm sàng và các quy trình chuẩn đoán khác. Các quyết định lâm sàng cần phải được tiến hành trong từng trường hợp cụ thể.

- Mặc dù các tác nhân trung hòa HAMA đã được thêm vào, tuy nhiên nếu nồng độ HAMA trong mẫu quá cao (kháng thể người kháng chuột) có thể ảnh hưởng đến kết quả.

- Các tích hợp có thể không được trao đổi giữa các dòng máy (LIAISON và LIAISON XL). Khi một tích hợp được giới thiệu cho một loại máy phân tích đặc biệt, nó phải luôn được sử dụng trên máy phân tích cho đến khi sử dụng hết. Do các vấn đề về nguồn gốc phát sinh từ các tuyên bố bên trên, các bệnh nhân theo dõi có thể không được kết luận giữa các loại máy phân tích khác. Nó phải được kết hợp giữa các máy phân tích đặc biệt (như LIAISON hoặc LIAISON XL).

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
HBc IgM MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNG

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCI	TP. KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích: Phát hiện kháng thể IgM kháng HBc trong mẫu huyết tương hoặc huyết thanh người.

2. Phạm vi áp dụng: Quy trình này áp dụng cho nhân viên khoa Vi Sinh, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát theo đúng quy định.

- Trưởng khoa và KTV trưởng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

4. Định nghĩa và viết tắt

- SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)

- KVS = Khoa Vi sinh

- ATSH = An toàn sinh học

5. Nguyên lý :

Dựa trên nguyên lý của kỹ thuật CLIA (miễn dịch hóa phát quang).

6. Trang thiết bị, hóa chất, bệnh phẩm:

6.1 Thiết bị

- Hệ thống máy miễn dịch tự động LIAISON XL

- Bộ lưu điện

- Máy ly tâm thường.

- Tủ lạnh 2 -8 độ C

6.2 Hóa chất

- Pha rắn (1,3 mL): Hạt từ phủ kháng thể IgG (đơn dòng, chuột) kháng IgM (người), albumin huyết thanh bò (BSA), đệm phosphat, 0,1% natri azid..

- Chất hiệu chuẩn 1 (3,3 mL): Kháng thể khảm IgM (đơn dòng, chuột và người) kháng HBc nồng độ thấp, protein động vật, đệm, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản, chất nhuộm (trơ) màu đỏ.

- Chất hiệu chuẩn 2 (3,3 mL): Kháng thể khảm IgM (đơn dòng, chuột và người) kháng HBc nồng độ cao, protein động vật, đệm, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản, chất nhuộm (trơ) màu xanh da trời.

- Chất cộng hợp (1,3 mL) : Kháng nguyên HBcAg (thu được từ *E.coli* bằng công nghệ tái tổ hợp ADN) gắn dẫn xuất isoluminol, BSA, đệm phosphat, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản.

- Dung dịch pha loãng mẫu (15,5ml): Kháng thể IgG người không đặc hiệu (đa dòng), BSA, đệm phosphat, EDTA, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản, chất nhuộm (trơ) màu xanh da trời.

- Đệm E (12ml): Huyết tương/huyết thanh người, BSA, đệm phosphat, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng âm tính(2 x 0,7 ml): Huyết thanh/huyết tương người không chứa kháng thể IgM kháng HBc, albumin huyết thanh bò (BSA), đệm phosphat, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng dương tính (2 x 0,5 ml): Kháng thể khảm IgM (đơn dòng, chuột và người) kháng HBc, protein động vật, đệm, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản, chất nhuộm (trơ) màu vàng.

- LIAISON Wash/system liquid: Dung dịch rửa phản ứng

- LIAISON XL Starter: Cơ chất phản ứng

- LIAISON XL Cuvettes: Giếng phản ứng cho máy LIAISON XL

- LIAISON XL Disposable Tips: Đầu côn dùng một lần sử dụng cho máy LIAISON XL.

- LIAISON Light check 12: Dung dịch kiểm tra hệ thống

- LIAISON XL Cleaning tool: Dung dịch bảo dưỡng máy hàng ngày

6.3 Bệnh phẩm

Huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh

6. Kiểm tra chất lượng

Chất chứng LIAISON nên được chạy mỗi ngày để kiểm soát việc tiến hành xét nghiệm.

(a) Ít nhất một lần 1 ngày trước khi xét nghiệm

(b) Khi thuốc thử tích hợp mới được sử dụng,

(c) Khi lô chất chuẩn mới được sử dụng

(d) Khi có lô cơ chất mới được sử dụng

(e) Để đánh giá hiệu suất của thuốc thử tích hợp ngoài 8 tuần sử dụng sử dụng, hoặc trong sự đồng ý của hướng dẫn hoặc quy định của luật địa phương hay tổ chức ban hành.

Giá trị kiểm chuẩn nằm trong dải mong muốn: khi kiểm chuẩn nằm ngoài dải mong muốn, cần hiệu chuẩn lại và kiểm chuẩn lại. Nếu giá trị kiểm chuẩn sau khi đã hiệu chuẩn thành công vẫn nằm ngoài dải thì cần làm lại quá trình kiểm chuẩn với một lọ kiểm chuẩn mới. Nếu giá trị kiểm chuẩn vẫn nằm ngoài dải, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân không được báo cáo.

Việc thực hiện của các chất hiệu chuẩn khác nên được đánh giá tính tương hợp của xét nghiệm trước khi chúng được sử dụng. Khoảng giá trị nên được thiết lập cho nguyên liệu kiểm chuẩn được sử dụng

7. An toàn

- Phải sử dụng bảo hộ cá nhân khi tiếp xúc với các bệnh phẩm và tránh nhiễm chéo và không lây nhiễm cho nhân viên y tế;

- Xử lý các mẫu bệnh phẩm theo đúng quy trình và thao tác kỹ thuật cẩn thận, không để lây nhiễm ra môi trường;

8. Nội dung thực hiện (các bước tiến hành):

9.1.Lấy bệnh phẩm

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là K3- EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm 4000 vòng trong 10 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2 - 8°C, lâu hơn cần bảo quản ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ được rã 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 2h.

9.2. Tiến hành kỹ thuật

9.2.1 Bật máy:

- Khởi động máy phân tích: Bật công tắc bên phải máy phân tích.

- Khởi động máy tính => từ màn hình máy tính chọn Liaison XL => nhập User (labadmin), Password (labadmin) => OK => Stop => Init => OK => máy chuyển về trạng thái Standby sau 2 phút => Start => Máy chuyển về trạng thái Ready sau khoảng 9 phút => sẵn sàng để chạy mẫu.

9.2.2 Kiểm tra hóa chất, vật tư tiêu hao đầu ngày:

- Vật tư tiêu hao: Từ màn hình chính => Status => Bỏ sung Cuvette, Starter, Wash/System liquid, thay túi thải Module phản ứng, đổ dịch thải.

Lưu ý: Chọn Added Bag sau khi bỏ sung cuvette, chọn Reset sau khi đổ thải rần.

- Từ màn hình chính => Loading => Reagents.

9.2.3 Chạy mẫu bệnh phẩm:

Nạp rack bệnh phẩm lên khu vực khay chứa mẫu. Màn hình chính => Loading > Sample => chọn đúng vị trí bệnh phẩm trên rack => nhập tên bệnh nhân => Schedule => chọn xét nghiệm cần làm => Store > Start.

9.2.4 Xem kết quả:

Màn hình chính => Results > All hoặc Archived (xem các kết quả đã hoàn thành)

9. Diễn giải và báo cáo kết quả

Thiết bị tự động tính toán nồng độ kháng thể IgM kháng HBc theo giá trị index và phân loại kết quả. Tham khảo Hướng dẫn sử dụng của thiết bị để biết thêm thông tin chi tiết.

Khi phân tích trên máy LIAISON và LIAISON XL, giá trị hiệu chuẩn và giá trị kiểm chứng thu được có thể không giống nhau, tuy nhiên, kết quả phân loại bệnh nhân trên hai máy là tương đương.

Giá trị ngưỡng (phân biệt giữa sự tồn tại và không tồn tại của kháng thể IgM kháng HBc) là 1 (index). Kết quả xét nghiệm mẫu cần được diễn giải như sau:

Mẫu có nồng độ IgM kháng HBc nhỏ hơn 0,9 (index) được phân loại là *âm tính*.

Mẫu có nồng độ IgM kháng HBc nằm trong dải từ 0,9 - 1,1 (index) được phân loại là *ngghi ngờ*. Mẫu *ngghi ngờ* được xét nghiệm lại hai lần để xác nhận lại kết quả ban đầu.

Mẫu có nồng độ IgM kháng HBc bằng hoặc lớn hơn 1,1 (index) được phân loại là *dương tính*.

10. Lưu ý

- Kết quả xét nghiệm nên được sử dụng kết hợp với các dữ liệu lâm sàng và xét nghiệm khác để hỗ trợ các bác sĩ trong việc đưa ra các quyết định điều trị trên từng bệnh nhân

- Để thu được kết quả đáng tin cậy, yêu cầu kỹ thuật thành thạo và tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng.

- Mẫu tán huyết, mẫu vàng da hoặc mẫu nhiễm mỡ cũng như các mẫu có chứa các hạt tiểu phân hoặc nhiễm vi sinh không nên thực hiện xét nghiệm này.

- Mẫu nhiễm khuẩn hoặc đông lạnh - rã đông nhiều lần có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

- Không nên bắt hoạt bằng nhiệt đối với các mẫu huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA hoặc mẫu nước tiểu.

- Không nên trao đổi các tích hợp giữa các dòng máy (LIAISON và LIAISON XL). Khi thuốc thử được sử dụng cho một máy phân tích cụ thể, nó phải luôn được sử dụng trên máy đó cho đến khi sử dụng hết. Do những yêu cầu về việc truy suất nguồn gốc ở trên, việc theo dõi bệnh nhân không được kết luận khi kết hợp các dòng máy khác nhau. Việc kết luận phải được tiến hành ở trên cùng một dòng máy phân tích (LIAISON hoặc LIAISON XL)

11. Lưu trữ hồ sơ

- Ghi đầy đủ thông tin bệnh nhân và bệnh phẩm vào sổ theo dõi

12. Tài liệu liên quan

- Quy trình hướng dẫn lấy mẫu bệnh phẩm

13. Tài liệu tham khảo

- Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng ban hành kèm theo quyết định 1539/QĐ-BYT ngày 20/04/2017

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
HIV Ab/Ag HT MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNG

Mã số: VS - QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCKI	TP. KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích: Phát hiện đồng thời kháng thể kháng HIV và kháng nguyên p24 của HIV trong mẫu huyết tương hoặc huyết thanh người.

2. Phạm vi áp dụng: Quy trình này áp dụng cho nhân viên khoa Vi Sinh, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát theo đúng quy định.

- Trưởng khoa và KTV trưởng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

4. Định nghĩa và viết tắt

- SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)

- KVS = Khoa Vi sinh

- ATSH = An toàn sinh học

5. Nguyên lý :

Dựa trên nguyên lý của kỹ thuật CLIA (miễn dịch hóa phát quang).

6. Trang thiết bị, hóa chất, bệnh phẩm:

6.1 Thiết bị

- Hệ thống máy miễn dịch tự động LIAISON XL

- Bộ lưu điện

- Máy ly tâm thường.

- Tủ lạnh 2 -8 độ C

6.2 Hóa chất

- Pha rắn (2,5 mL): Hạt từ phủ kháng nguyên gp41 của HIV-1 (nhóm M, tái tổ hợp, thu được từ *E.coli*), các peptid gắn biotin của HIV-1 nhóm O và HIV-2, kháng thể (đơn dòng, gắn biotin) kháng kháng nguyên p24 của HIV, albumin huyết thanh bò (BSA), đệm muối phosphat (PBS), < 0,1% natri azid.

- Chất hiệu chuẩn 1 (2,9 mL): Kháng nguyên tái tổ hợp p24 của HIV ở nồng độ thấp (thu được từ *E.coli*), aprotinin bò, casein, đệm PBS, 0,2% ProClin 300, chất nhuộm vàng (dạng tro).

- Chất cộng hợp ((2 x 23 mL) : Các thành phần được gắn dẫn xuất isoluminol: kháng nguyên gp41 của HIV-1 (nhóm M, tái tổ hợp, thu được từ *E.coli*), các peptid của HIV-1 nhóm O và HIV-2, kháng thể đơn dòng kháng p24 HIV và kháng thể đơn dòng kháng fluorescein; huyết thanh cừu, huyết thanh người âm tính, casein, kháng thể IgG không đặc hiệu (đa dòng, chuột), BSA, đệm TRIS, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản.

Dung dịch đệm 1 (10,8 mL): Kháng thể đơn dòng kháng p24 của HIV liên kết với fluorescein, huyết thanh bò, casein, BSA, kháng thể IgG không đặc hiệu (đa dòng, chuột), đệm HEPES, chất tẩy rửa, EDTA, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng âm tính (1 x 4,5 ml): Huyết thanh/ huyết tương người âm tính với xét nghiệm phát hiện kháng nguyên HIV và kháng thể kháng HIV, 0,2% Proclin 300 và chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng dương tính với kháng thể kháng HIV-1 (1 x 4,5 ml): Huyết thanh/ huyết tương người dương tính với xét nghiệm phát hiện kháng thể kháng HIV-1 M, đã bất hoạt, đệm muối phosphat (PBS), albumin huyết thanh bò (BSA), EDTA, 0,2% Proclin 300 và chất nhuộm vàng (dạng tro).

- Chất kiểm chứng dương tính với kháng nguyên p24 của HIV (1 x 4,5 ml): Kháng nguyên HIV p24 tái tổ hợp (thu được từ *E.coli*), đệm PBS, aprotonin bò, casein, 0,2% Proclin 300.

- LIAISON Wash/system liquid: Dung dịch rửa phản ứng

- LIAISON XL Starter: Cơ chất phản ứng

- LIAISON XL Cuvettes: Giếng phản ứng cho máy LIAISON XL

- LIAISON XL Disposable Tips: Đầu côn dùng một lần sử dụng cho máy LIAISON XL.

- LIAISON Light check 12: Dung dịch kiểm tra hệ thống

- LIAISON XL Cleaning tool: Dung dịch bảo dưỡng máy hàng ngày

6.3 Bệnh phẩm

Huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh

6. Kiểm tra chất lượng

Chất chứng LIAISON nên được chạy mỗi ngày để kiểm soát việc tiến hành xét nghiệm.

(a) Ít nhất một lần 1 ngày trước khi xét nghiệm

(b) Khi thuốc thử tích hợp mới được sử dụng,

(c) Khi lô chất chuẩn mới được sử dụng

(d) Khi có lô cơ chất mới được sử dụng

(e) Để đánh giá hiệu suất của thuốc thử tích hợp ngoài 8 tuần sử dụng sử dụng, hoặc trong sự đồng ý của hướng dẫn hoặc quy định của luật địa phương hay tổ chức ban hành.

Giá trị kiểm chuẩn nằm trong dải mong muốn: khi kiểm chuẩn nằm ngoài dải mong muốn, cần hiệu chuẩn lại và kiểm chuẩn lại. Nếu giá trị kiểm chuẩn sau khi đã hiệu chuẩn thành công vẫn nằm ngoài dải thì cần làm lại quá trình kiểm chuẩn với một lọ kiểm chuẩn mới. Nếu giá trị kiểm chuẩn vẫn nằm ngoài dải, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân không được báo cáo.

Việc thực hiện của các chất hiệu chuẩn khác nên được đánh giá tính tương hợp của xét nghiệm trước khi chúng được sử dụng. Khoảng giá trị nên được thiết lập cho nguyên liệu kiểm chuẩn được sử dụng

7. An toàn

- Phải sử dụng bảo hộ cá nhân khi tiếp xúc với các bệnh phẩm và tránh nhiễm chéo và không lây nhiễm cho nhân viên y tế;

- Xử lý các mẫu bệnh phẩm theo đúng quy trình và thao tác kỹ thuật cẩn thận, không để lây nhiễm ra môi trường;

8. Nội dung thực hiện (các bước tiến hành):

9.1.Lấy bệnh phẩm

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là K3- EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm 4000 vòng trong 10 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2 - 8°C, lâu hơn cần bảo quản ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ được rã 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 2h.

9.2. Tiến hành kỹ thuật

9.2.1 Bật máy:

- Khởi động máy phân tích: Bật công tắc bên phải máy phân tích.

- Khởi động máy tính => từ màn hình máy tính chọn Liaison XL => nhập User (labadmin), Password (labadmin) => OK => Stop => Init => OK => máy chuyển về trạng thái Standby sau 2 phút => Start => Máy chuyển về trạng thái Ready sau khoảng 9 phút => sẵn sàng để chạy mẫu.

9.2.2 Kiểm tra hóa chất, vật tư tiêu hao đầu ngày:

- Vật tư tiêu hao: Từ màn hình chính => Status => Bỏ sung Cuvette, Starter, Wash/System liquid, thay túi thải Module phản ứng, đổ dịch thải.

Lưu ý: Chọn Added Bag sau khi bỏ sung cuvette, chọn Reset sau khi đổ thải rần.

- Từ màn hình chính => Loading => Reagents.

9.2.3 Chạy mẫu bệnh phẩm:

Nạp rack bệnh phẩm lên khu vực khay chứa mẫu. Màn hình chính => Loading > Sample => chọn đúng vị trí bệnh phẩm trên rack => nhập tên bệnh nhân => Schedule => chọn xét nghiệm cần làm => Store > Start.

9.2.4 Xem kết quả:

Màn hình chính => Results > All hoặc Archived (xem các kết quả đã hoàn thành)

9. Diễn giải và báo cáo kết quả

Sự có mặt hay vắng mặt của kháng nguyên p24 của HIV và/ hoặc kháng thể kháng HIV trong mẫu được xác định bằng cách so sánh tín hiệu của phản ứng hóa phát quang với giá trị ngưỡng được cung cấp bởi xét nghiệm hiệu chuẩn. Máy phân tích tự động tính toán tỷ lệ tín hiệu đo được/ giá trị ngưỡng (S/CO) cho mỗi lần xét nghiệm, sau đó phân loại kết quả kết hợp cuối cùng. Để biết thêm thông tin chi tiết, tham khảo hướng dẫn sử dụng của thiết bị.

Các kết quả nên được diễn giải như sau:

- Mẫu có tỷ lệ S/CO < 1,00 được coi là *không phản ứng* đối với xét nghiệm phát hiện kháng nguyên p24 của HIV và/ hoặc xét nghiệm phát hiện kháng thể kháng HIV.

- Mẫu có tỷ lệ S/CO $\geq$ 1,00 được coi là *phản ứng* đối với xét nghiệm phát hiện kháng nguyên p24 của HIV và/ hoặc xét nghiệm phát hiện kháng thể kháng HIV.

Các mẫu có kết quả kết hợp ban đầu là *phản ứng* nên được ly tâm và xét nghiệm lặp lại 2 lần. Kết quả *phản ứng* lặp lại cho tiên lượng cao về sự có mặt của kháng nguyên p24 của HIV và/ hoặc kháng thể kháng HIV. Tuy nhiên, như tất cả các xét nghiệm miễn dịch khác, xét nghiệm LIAISON XL murex HIV Ab/Ag HT đôi khi có thể cho các phản ứng không đặc hiệu do các nguyên nhân khác. Do đó, mẫu có kết quả *phản ứng* lặp lại cần được đánh giá sâu hơn với các xét nghiệm HIV bổ sung có độ nhạy cao, ví dụ như xét nghiệm immunoblot (hay Western blot), xét nghiệm kháng nguyên hay xét nghiệm acid nucleic của HIV.

Thuật toán kiểm tra lại trước khi đưa ra kết luận cuối cùng.

Kết quả ban đầu	Yêu cầu	Kết quả kiểm tra lại	Kết luận
<i>Phản ứng</i>	Xét nghiệm lại 2 lần.	Cả 2 kết quả là <i>không phản ứng</i> .	Âm tính.
<i>Phản ứng</i>	Xét nghiệm lại 2 lần.	Một hoặc cả hai kết quả là <i>phản ứng</i> .	Dương tính, cần thực hiện thêm xét nghiệm bổ sung.
<i>Không phản ứng</i>	Không cần xét nghiệm lại.	-	Âm tính.

10. Lưu ý

- Kết quả xét nghiệm nên được sử dụng kết hợp với các dữ liệu lâm sàng và xét nghiệm khác để hỗ trợ các bác sĩ trong việc đưa ra các quyết định điều trị trên từng bệnh nhân

- Để thu được kết quả đáng tin cậy, yêu cầu kỹ thuật thành thạo và tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng.

- Mẫu tán huyết, mẫu vàng da hoặc mẫu nhiễm mỡ cũng như các mẫu có chứa các hạt tiểu phân hoặc nhiễm vi sinh không nên thực hiện xét nghiệm này.

- Mẫu nhiễm khuẩn hoặc đông lạnh - rã đông nhiều lần có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

- Không nên bất hoạt bằng nhiệt đối với các mẫu huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA hoặc mẫu nước tiểu.

- Không nên trao đổi các tích hợp giữa các dòng máy (LIAISON và LIAISON XL). Khi thuốc thử được sử dụng cho một máy phân tích cụ thể, nó phải luôn được sử dụng trên máy đó cho đến khi sử dụng hết. Do những yêu cầu về việc truy xuất nguồn gốc ở trên, việc theo dõi bệnh nhân không được kết luận khi kết hợp các dòng máy khác nhau. Việc kết luận phải được tiến hành ở trên cùng một dòng máy phân tích (LIAISON hoặc LIAISON XL)

11. Lưu trữ hồ sơ

- Ghi đầy đủ thông tin bệnh nhân và bệnh phẩm vào sổ theo dõi

12. Tài liệu liên quan

- Quy trình hướng dẫn lấy mẫu bệnh phẩm

13. Tài liệu tham khảo

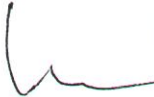
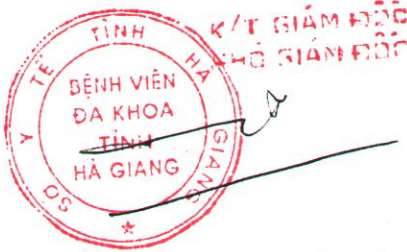
- Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng ban hành kèm theo quyết định 1539/QĐ-BYT ngày 20/04/2017

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
Anti -HBc MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNG

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCKI	TP. KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích :

Phát hiện kháng thể kháng HBc trong mẫu huyết tương hoặc huyết thanh người.

2. Phạm vi áp dụng

Quy trình này áp dụng cho nhân viên khoa Vi Sinh, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát theo đúng quy định.

- Trưởng khoa và KTV trưởng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

4. Định nghĩa và viết tắt

- SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)
- KVS = Khoa Vi sinh
- ATSH = An toàn sinh học

5. Nguyên lý :

Dựa trên nguyên lý của kỹ thuật CLIA (miễn dịch hóa phát quang).

6. Trang thiết bị, hóa chất, bệnh phẩm:

6.1 Thiết bị

- Hệ thống máy miễn dịch tự động LIAISON XL
- Bộ lưu điện
- Máy ly tâm thường.
- Tủ lạnh 2 -8 độ C

6.2 Hóa chất

- Pha rắn (2,3 mL): Hạt từ phủ HBcAg thu được từ *E. coli* bằng công nghệ ADN tái tổ hợp, albumin huyết thanh bò (BSA), đệm phosphat, < 0,1% natri azid.

- Chất hiệu chuẩn 1 (1,4 mL): Huyết thanh bê chứa kháng thể kháng HBc nồng độ cao, ProClin 300 0,2%, chất bảo quản.

- Chất hiệu chuẩn 2 (1,4 mL): Huyết thanh/huyết tương người không chứa kháng thể anti-HBc, ProClin 300 0,2%, chất bảo quản, chất nhuộm (trơ) màu xanh.

- Chất cộng hợp (23 mL) : Kháng thể (chuột, đơn dòng) kháng HBcAg, cộng hợp với dẫn xuất isoluminol, huyết thanh/huyết tương người, huyết thanh bê sơ sinh, đệm phosphat, EDTA, ProClin 300 0,2%, chất bảo quản, chất nhuộm (trơ) màu xanh.

- Chất kiểm chứng âm tính (2 x 4,0 ml): Huyết thanh/ huyết tương người không chứa kháng thể kháng HBc, đệm TRIS, 0,2% Proclin 300 và chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng dương tính (2 x 1,8 ml): Huyết thanh/ huyết tương người chứa kháng thể (người) kháng HBc, 0,2% Proclin 300 và chất bảo quản.

- Đệm F (11ml): Đệm Acetat.

- LIAISON Wash/system liquid: Dung dịch rửa phản ứng
- LIAISON XL Starter: Cơ chất phản ứng
- LIAISON XL Cuvettes: Giếng phản ứng cho máy LIAISON XL
- LIAISON XL Disposable Tips: Đầu côn dùng một lần sử dụng cho máy LIAISON XL.

- LIAISON Light check 12: Dung dịch kiểm tra hệ thống
- LIAISON XL Cleaning tool: Dung dịch bảo dưỡng máy hàng ngày

6.3 Bệnh phẩm

Huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh

6. Kiểm tra chất lượng

Chất chứng LIAISON nên được chạy mỗi ngày để kiểm soát việc tiến hành xét nghiệm.

- (a) Ít nhất một lần 1 ngày trước khi xét nghiệm
- (b) Khi thuốc thử tích hợp mới được sử dụng,
- (c) Khi lô chất chuẩn mới được sử dụng
- (d) Khi có lô cơ chất mới được sử dụng
- (e) Để đánh giá hiệu suất của thuốc thử tích hợp ngoài 8 tuần sử dụng sử dụng, hoặc trong sự đồng ý của hướng dẫn hoặc quy định của luật địa phương hay tổ chức ban hành.

Giá trị kiểm chuẩn nằm trong dải mong muốn: khi kiểm chuẩn nằm ngoài dải mong muốn, cần hiệu chuẩn lại và kiểm chuẩn lại. Nếu giá trị kiểm chuẩn sau khi đã hiệu chuẩn thành công vẫn nằm ngoài dải thì cần làm lại quá trình kiểm chuẩn với một lọ kiểm chuẩn mới. Nếu giá trị kiểm chuẩn vẫn nằm ngoài dải, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân không được báo cáo.

Việc thực hiện của các chất hiệu chuẩn khác nên được đánh giá tính tương hợp của xét nghiệm trước khi chúng được sử dụng. Khoảng giá trị nên được thiết lập cho nguyên liệu kiểm chuẩn được sử dụng

7. An toàn

- Phải sử dụng bảo hộ cá nhân khi tiếp xúc với các bệnh phẩm và tránh nhiễm chéo và không lây nhiễm cho nhân viên y tế;
- Xử lý các mẫu bệnh phẩm theo đúng quy trình và thao tác kỹ thuật cẩn thận, không để lây nhiễm ra môi trường;

8. Nội dung thực hiện (các bước tiến hành):

9.1.Lấy bệnh phẩm

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là K3- EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm 4000 vòng trong 10 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2 - 8°C, lâu hơn cần bảo quản ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ được rã 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 2h.

9.2. Tiến hành kỹ thuật

9.2.1 Bật máy:

- Khởi động máy phân tích: Bật công tắc bên phải máy phân tích.

- Khởi động máy tính => từ màn hình máy tính chọn Liaison XL => nhập User (labadmin), Password (labadmin) => OK => Stop => Init => OK => máy chuyển về trạng thái Standby sau 2 phút => Start => Máy chuyển về trạng thái Ready sau khoảng 9 phút => sẵn sàng để chạy mẫu.

9.2.2 Kiểm tra hóa chất, vật tư tiêu hao đầu ngày:

-Vật tư tiêu hao: Từ màn hình chính => Status => Bổ sung Cuvette, Starter, Wash/System liquid, thay túi thải Module phản ứng, đổ dịch thải.

Lưu ý: Chọn Added Bag sau khi bổ sung cuvette, chọn Reset sau khi đổ thải rắn.

- Từ màn hình chính => Loading => Reagents.

9.2.3 Chạy mẫu bệnh phẩm:

Nạp rack bệnh phẩm lên khu vực khay chứa mẫu. Màn hình chính =>Loading>Sample => chọn đúng vị trí bệnh phẩm trên rack => nhập tên bệnh nhân =>Schedule => chọn xét nghiệm cần làm => Store>Start.

9.2.4 Xem kết quả:

Màn hình chính => Results>All hoặc Archived (xem các kết quả đã hoàn thành)

9. Diễn giải và báo cáo kết quả

Thiết bị tự động tính toán nồng độ anti-HBc theo giá trị index và phân loại kết quả. Tham khảo Hướng dẫn sử dụng của thiết bị để biết thêm thông tin chi tiết.

Khi phân tích chất hiệu chuẩn và chất kiểm chứng trên máy LIAISON và LIAISON XL, giá trị RLU và giá trị nồng độ thu được có thể khác nhau, tuy nhiên, khi phân tích mẫu bệnh nhân, kết quả thu được là tương đương.

Giá trị ngưỡng phân biệt giữa sự có mặt và vắng mặt của anti-HBc là 1 (index). Kết quả phân tích mẫu cần được diễn giải như sau:

Mẫu có nồng độ anti-HBc bằng hoặc lớn hơn 1 (index) được coi là *không phản ứng* đối với xét nghiệm.

Mẫu có nồng độ anti-HBc nhỏ hơn 1 (index) được coi là *phản ứng* đối với xét nghiệm.

Mẫu có nồng độ anti-HBc trong dải +/- 10% giá trị ngưỡng cần được phân tích lặp lại hai lần để xác nhận lại kết quả ban đầu. Mẫu có kết quả *phản ứng* lặp lại (ít nhất 2 trong 3 lần phân tích) được coi là *phản ứng*. Mẫu có kết quả *không phản ứng* lặp lại (ít nhất 2 trong 3 lần phân tích) được coi là *không phản ứng*.

10. Lưu ý

- Kết quả xét nghiệm nên được sử dụng kết hợp với các dữ liệu lâm sàng và xét nghiệm khác để hỗ trợ các bác sĩ trong việc đưa ra các quyết định điều trị trên từng bệnh nhân

- Để thu được kết quả đáng tin cậy, yêu cầu kỹ thuật thành thạo và tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng.

- Mẫu tán huyết, mẫu vàng da hoặc mẫu nhiễm mỡ cũng như các mẫu có chứa các hạt tiểu phân hoặc nhiễm vi sinh không nên thực hiện xét nghiệm này.

- Mẫu nhiễm khuẩn hoặc đông lạnh - rã đông nhiều lần có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

- Không nên bắt hoạt bằng nhiệt đối với các mẫu huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA hoặc mẫu nước tiểu.

- Không nên trao đổi các tích hợp giữa các dòng máy (LIAISON và LIAISON XL). Khi thuốc thử được sử dụng cho một máy phân tích cụ thể, nó phải luôn được sử dụng trên máy đó cho đến khi sử dụng hết. Do những yêu cầu về việc truy suất nguồn gốc ở trên, việc theo dõi bệnh nhân không được kết luận khi kết hợp các dòng máy khác nhau. Việc kết luận phải được tiến hành ở trên cùng một dòng máy phân tích (LIAISON hoặc LIAISON XL)

11. Lưu trữ hồ sơ

- Ghi đầy đủ thông tin bệnh nhân và bệnh phẩm vào sổ theo dõi

12. Tài liệu liên quan

- Quy trình hướng dẫn lấy mẫu bệnh phẩm

13. Tài liệu tham khảo

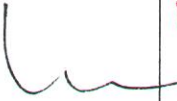
- Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng ban hành kèm theo quyết định 1539/QĐ-BYT ngày 20/04/2017

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
Anti -HBe MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNG

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCKI	TP.KHITH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích :

Phát hiện định tính kháng thể toàn phần kháng kháng nguyên e của virus viêm gan B (anti-HBe) trong mẫu huyết tương hoặc huyết thanh người.

2. Phạm vi áp dụng

Quy trình này áp dụng cho nhân viên khoa Vi Sinh, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát theo đúng quy định.

- Trưởng khoa và KTV trưởng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

4. Định nghĩa và viết tắt

- SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)

- KVS = Khoa Vi sinh

- ATSH = An toàn sinh học

5. Nguyên lý :

Dựa trên nguyên lý của kỹ thuật CLIA (miễn dịch hóa phát quang).

6. Trang thiết bị, hóa chất, bệnh phẩm:

6.1 Thiết bị

- Hệ thống máy miễn dịch tự động LIAISON XL

- Bộ lưu điện

- Máy ly tâm thường.

- Tủ lạnh 2 -8 độ C

6.2 Hóa chất

- Pha rắn (2,3 mL): Hạt từ phủ kháng thể (chuột, đơn dòng) kháng HBeAg, albumin huyết thanh bò (BSA), đệm phosphat, < 0,1% natri azid.

- Chất hiệu chuẩn 1 (1,2 mL): Huyết thanh bào thai bê chứa nồng độ cao kháng thể anti-HBe (người), 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất hiệu chuẩn 2 (1,2 mL): Huyết thanh/huyết tương người không chứa kháng thể anti-HBe, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản, thuốc nhuộm (trơ) màu xanh da trời.

- Chất cộng hợp (8,0 mL) : Kháng thể (chuột, đơn dòng) kháng HBeAg, cộng hợp với dẫn xuất isoluminol, huyết thanh bào thai bê, đệm phosphat, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng âm tính (2 x 4,0 ml): Huyết thanh/huyết tương người không chứa anti-HBe (kháng thể kháng kháng nguyên e của virus viêm gan B), đệm TRIS, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng dương tính (2 x 4,0 ml): Huyết thanh bào thai bê, kháng thể anti-HBe (người) mức nồng độ cao, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản và chất nhuộm tro màu da cam.

- LIAISON Wash/system liquid: Dung dịch rửa phản ứng
- LIAISON XL Starter: Cơ chất phản ứng
- LIAISON XL Cuvettes: Giếng phản ứng cho máy LIAISON XL
- LIAISON XL Disposable Tips: Đầu côn dùng một lần sử dụng cho máy LIAISON XL.

- LIAISON Light check 12: Dung dịch kiểm tra hệ thống
- LIAISON XL Cleaning tool: Dung dịch bảo dưỡng máy hàng ngày

6.3 Bệnh phẩm

Huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh

6. Kiểm tra chất lượng

Chất chứng LIAISON nên được chạy mỗi ngày để kiểm soát việc tiến hành xét nghiệm.

- (a) Ít nhất một lần 1 ngày trước khi xét nghiệm
- (b) Khi thuốc thử tích hợp mới được sử dụng,
- (c) Khi lô chất chuẩn mới được sử dụng
- (d) Khi có lô cơ chất mới được sử dụng
- (e) Để đánh giá hiệu suất của thuốc thử tích hợp ngoài 8 tuần sử dụng sử dụng, hoặc trong sự đồng ý của hướng dẫn hoặc quy định của luật địa phương hay tổ chức ban hành.

Giá trị kiểm chuẩn nằm trong dải mong muốn: khi kiểm chuẩn nằm ngoài dải mong muốn, cần hiệu chuẩn lại và kiểm chuẩn lại. Nếu giá trị kiểm chuẩn sau khi đã hiệu chuẩn thành công vẫn nằm ngoài dải thì cần làm lại quá trình kiểm chuẩn với một lọ kiểm chuẩn mới. Nếu giá trị kiểm chuẩn vẫn nằm ngoài dải, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân không được báo cáo.

Việc thực hiện của các chất hiệu chuẩn khác nên được đánh giá tính tương hợp của xét nghiệm trước khi chúng được sử dụng. Khoảng giá trị nên được thiết lập cho nguyên liệu kiểm chuẩn được sử dụng

7. An toàn

- Phải sử dụng bảo hộ cá nhân khi tiếp xúc với các bệnh phẩm và tránh nhiễm chéo và không lây nhiễm cho nhân viên y tế;
- Xử lý các mẫu bệnh phẩm theo đúng quy trình và thao tác kỹ thuật cẩn thận, không để lây nhiễm ra môi trường;

8. Nội dung thực hiện (các bước tiến hành):

9.1.Lấy bệnh phẩm

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là K3- EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm 4000 vòng trong 10 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2 - 8°C, lâu hơn cần bảo quản ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ được rã 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 2h.

9.2. Tiến hành kỹ thuật

9.2.1 Bật máy:

- Khởi động máy phân tích: Bật công tắc bên phải máy phân tích.
- Khởi động máy tính => từ màn hình máy tính chọn Liaison XL => nhập User (labadmin), Password (labadmin) => OK => Stop => Init => OK => máy chuyển về trạng thái Standby sau 2 phút => Start => Máy chuyển về trạng thái Ready sau khoảng 9 phút => sẵn sàng để chạy mẫu.

9.2.2 Kiểm tra hóa chất, vật tư tiêu hao đầu ngày:

- Vật tư tiêu hao: Từ màn hình chính => Status => Bỏ sung Cuvette, Starter, Wash/System liquid, thay túi thải Module phản ứng, đổ dịch thải.

Lưu ý: Chọn Added Bag sau khi bỏ sung cuvette, chọn Reset sau khi đổ thải rắn.

- Từ màn hình chính => Loading => Reagents.

9.2.3 Chạy mẫu bệnh phẩm:

Nạp rack bệnh phẩm lên khu vực khay chứa mẫu. Màn hình chính => Loading > Sample => chọn đúng vị trí bệnh phẩm trên rack => nhập tên bệnh nhân => Schedule => chọn xét nghiệm cần làm => Store > Start.

9.2.4 Xem kết quả:

Màn hình chính => Results > All hoặc Archived (xem các kết quả đã hoàn thành)

9. Diễn giải và báo cáo kết quả

- Máy phân tích tự động tính toán nồng độ anti-Hbe theo giá trị index và thực hiện phân loại kết quả. Tham khảo Hướng dẫn sử dụng của thiết bị để có thêm thông tin chi tiết.

Khi phân tích chất hiệu chuẩn và chất kiểm chứng trên máy LIAISON và LIAISON XL, các kết quả thu được (giá trị RLU và giá trị nồng độ) có thể không giống nhau. Tuy nhiên, kết quả xét nghiệm mẫu bệnh phẩm bệnh nhân trên cả hai máy phân tích là tương đương.

Giá trị ngưỡng phân biệt sự có mặt/ vắng mặt của anti-HBe là 1 (index). Diễn giải kết quả theo khuyến cáo sau:

Mẫu có nồng độ anti-HBe bằng hoặc lớn hơn 1,1 (index) được phân loại là âm tính.

Mẫu có nồng độ anti-HBe nằm trong khoảng từ 0,9 tới 1,1 (index) được phân loại là nghi ngờ. Các mẫu nghi ngờ phải được xét nghiệm lặp lại hai lần để xác nhận kết quả ban đầu.

Mẫu có nồng độ anti-HBe nhỏ 0,9 (index) được phân loại là dương tính.

10. Lưu ý

- Kết quả xét nghiệm nên được sử dụng kết hợp với các dữ liệu lâm sàng và xét nghiệm khác để hỗ trợ các bác sĩ trong việc đưa ra các quyết định điều trị trên từng bệnh nhân

- Để thu được kết quả đáng tin cậy, yêu cầu kỹ thuật thành thạo và tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng.

- Mẫu tán huyết, mẫu vàng da hoặc mẫu nhiễm mỡ cũng như các mẫu có chứa các hạt tiểu phân hoặc nhiễm vi sinh không nên thực hiện xét nghiệm này.

- Mẫu nhiễm khuẩn hoặc đông lạnh - rã đông nhiều lần có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

- Không nên bất hoạt bằng nhiệt đối với các mẫu huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA hoặc mẫu nước tiểu.

- Không nên trao đổi các tích hợp giữa các dòng máy (LIAISON và LIAISON XL). Khi thuốc thử được sử dụng cho một máy phân tích cụ thể, nó phải luôn được sử dụng trên máy đó cho đến khi sử dụng hết. Do những yêu cầu về việc truy suất nguồn gốc ở trên, việc theo dõi bệnh nhân không được kết luận khi kết hợp các dòng máy khác nhau. Việc kết luận phải được tiến hành ở trên cùng một dòng máy phân tích (LIAISON hoặc LIAISON XL)

11. Lưu trữ hồ sơ

- Ghi đầy đủ thông tin bệnh nhân và bệnh phẩm vào sổ theo dõi

12. Tài liệu liên quan

- Quy trình hướng dẫn lấy mẫu bệnh phẩm

13. Tài liệu tham khảo

- Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng ban hành kèm theo quyết định 1539/QĐ-BYT ngày 20/04/2017

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
Anti –HBs Plus MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNG

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCKI	TP.KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 K/T GIÁM ĐỐC CHỖ GIÁM ĐỐC Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích :

Phát hiện định lượng kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B (anti-HBs) trong mẫu huyết tương hoặc huyết thanh người.

2. Phạm vi áp dụng

Quy trình này áp dụng cho nhân viên khoa Vi Sinh, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát theo đúng quy định.

- Trưởng khoa và KTV trưởng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

4. Định nghĩa và viết tắt

- SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)

- KVS = Khoa Vi sinh

- ATSH = An toàn sinh học

5. Nguyên lý :

Dựa trên nguyên lý của kỹ thuật CLIA (miễn dịch hóa phát quang).

6. Trang thiết bị, hóa chất, bệnh phẩm:

6.1 Thiết bị

- Hệ thống máy miễn dịch tự động LIAISON XL

- Bộ lưu điện

- Máy ly tâm thường.

- Tủ lạnh 2 -8 độ C

6.2 Hóa chất

- Pha rắn (2,5 mL): Hạt từ phủ kháng nguyên HBsAg thu được từ tế bào của động vật có vú (mammalian cells) bằng kỹ thuật tái tổ hợp ADN (ad và ay cân bằng), albumin huyết thanh bò (BSA), đệm PBS, < 0,1% natri azid.

- Chất hiệu chuẩn 1 (2,3 mL): Huyết thanh/huyết tương (người) chứa anti-HBs nồng độ thấp, huyết thanh bào thai bê, EDTA, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản. Nồng độ chất hiệu chuẩn (mIU/mL) được tham chiếu theo Chất chuẩn quốc tế thứ 2 của WHO cho globulin miễn dịch (người) kháng HBs (WHO Second International Standard for anti-hepatitis B surface antigen) (mã NIBSC: 07/164, 2008).

- Chất hiệu chuẩn 2 (2,3 mL): Huyết thanh/huyết tương (người) chứa anti-HBs nồng độ cao, huyết thanh bào thai bê, 0,2% EDTA, ProClin 300, chất bảo quản, chất nhuộm tro màu xanh. Nồng độ chất hiệu chuẩn (mIU/mL) được tham chiếu theo Chất chuẩn quốc tế thứ 2 của WHO cho globulin miễn dịch (người) kháng HBs (WHO Second International Standard for anti-hepatitis B surface antigen) (mã NIBSC: 07/164, 2008).

- Chất cộng hợp (20 mL) : Kháng nguyên HBsAg người được xử lý nhiệt (ad và ay cân bằng), gắn dẫn xuất isoluminol, BSA, đệm PBS, EDTA, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản, chất nhuộm trợ màu đỏ.

- Chất kiểm chứng âm tính (2 x 2,5 ml): Huyết thanh/huyết tương người không chứa kháng thể kháng HBs, đệm TRIS, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng dương tính (2 x 2,5 ml): Huyết thanh/huyết tương người có chứa kháng thể (người) kháng HBs, huyết thanh bào thai bê, EDTA, 0,2% ProClin 300 và chất bảo quản.

- LIAISON Wash/system liquid: Dung dịch rửa phản ứng

- LIAISON XL Starter: Cơ chất phản ứng

- LIAISON XL Cuvettes: Giếng phản ứng cho máy LIAISON XL

- LIAISON XL Disposable Tips: Đầu côn dùng một lần sử dụng cho máy LIAISON XL.

- LIAISON Light check 12: Dung dịch kiểm tra hệ thống

- LIAISON XL Cleaning tool: Dung dịch bảo dưỡng máy hàng ngày

6.3 Bệnh phẩm

Huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh

6. Kiểm tra chất lượng

Chất chứng LIAISON nên được chạy mỗi ngày để kiểm soát việc tiến hành xét nghiệm.

(a) Ít nhất một lần 1 ngày trước khi xét nghiệm

(b) Khi thuốc thử tích hợp mới được sử dụng,

(c) Khi lô chất chuẩn mới được sử dụng

(d) Khi có lô cơ chất mới được sử dụng

(e) Để đánh giá hiệu suất của thuốc thử tích hợp ngoài 8 tuần sử dụng sử dụng, hoặc trong sự đồng ý của hướng dẫn hoặc quy định của luật địa phương hay tổ chức ban hành.

Giá trị kiểm chuẩn nằm trong dải mong muốn: khi kiểm chuẩn nằm ngoài dải mong muốn, cần hiệu chuẩn lại và kiểm chuẩn lại. Nếu giá trị kiểm chuẩn sau khi đã hiệu chuẩn thành công vẫn nằm ngoài dải thì cần làm lại quá trình kiểm chuẩn với một lọ kiểm chuẩn mới. Nếu giá trị kiểm chuẩn vẫn nằm ngoài dải, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân không được báo cáo.

Việc thực hiện của các chất hiệu chuẩn khác nên được đánh giá tính tương hợp của xét nghiệm trước khi chúng được sử dụng. Khoảng giá trị nên được thiết lập cho nguyên liệu kiểm chuẩn được sử dụng

7. An toàn

- Phải sử dụng bảo hộ cá nhân khi tiếp xúc với các bệnh phẩm và tránh nhiễm chéo và không lây nhiễm cho nhân viên y tế;

- Xử lý các mẫu bệnh phẩm theo đúng quy trình và thao tác kỹ thuật cẩn thận, không để lây nhiễm ra môi trường;

8. Nội dung thực hiện (các bước tiến hành):

9.1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là K3- EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm 4000 vòng trong 10 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2 - 8°C, lâu hơn cần bảo quản ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ được rã 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 2h.

9.2. Tiến hành kỹ thuật

9.2.1 Bật máy:

- Khởi động máy phân tích: Bật công tắc bên phải máy phân tích.

- Khởi động máy tính => từ màn hình máy tính chọn Liaison XL => nhập User (labadmin), Password (labadmin) => OK => Stop => Init => OK => máy chuyển về trạng thái Standby sau 2 phút => Start => Máy chuyển về trạng thái Ready sau khoảng 9 phút => sẵn sàng để chạy mẫu.

9.2.2 Kiểm tra hóa chất, vật tư tiêu hao đầu ngày:

- Vật tư tiêu hao: Từ màn hình chính => Status => Bỏ sung Cuvette, Starter, Wash/System liquid, thay túi thải Module phản ứng, đổ dịch thải.

Lưu ý: Chọn Added Bag sau khi bỏ sung cuvette, chọn Reset sau khi đổ thải rần.

- Từ màn hình chính => Loading => Reagents.

9.2.3 Chạy mẫu bệnh phẩm:

Nạp rack bệnh phẩm lên khu vực khay chứa mẫu. Màn hình chính => Loading>Sample => chọn đúng vị trí bệnh phẩm trên rack => nhập tên bệnh nhân => Schedule => chọn xét nghiệm cần làm => Store>Start.

9.2.4 Xem kết quả:

Màn hình chính => Results>All hoặc Archived (xem các kết quả đã hoàn thành)

9. Diễn giải và báo cáo kết quả

Dải phân tích của xét nghiệm LIAISON XL murex Anti-HBs Plus: 3 – 90.000 mIU/mL anti-HBs.

Các mẫu chứa nồng độ kháng thể cao hơn dải phân tích của xét nghiệm có thể được pha loãng trước bởi chức năng pha loãng của máy xét nghiệm và xét nghiệm lại (hệ số pha loãng được khuyến cáo là 1:50 và 1:90, chỉ dành cho xét nghiệm LIAISON XL murex Anti-HBs Plus). Kết quả sẽ được tự động nhân với hệ số pha loãng để thu được nồng độ kháng thể trong mẫu bệnh phẩm ban đầu. Dung môi pha loãng mẫu có sẵn trong thuốc thử tích hợp đủ cho 100 lần pha loãng với hệ số 1:50 và 55 lần với hệ số 1:90.

Nồng độ anti-HBs lớn hơn 10 mIU/mL thường là dấu hiệu cho thấy bệnh nhân đã từng bị nhiễm virus viêm gan B trong quá khứ hoặc có đáp ứng miễn dịch với vắc-xin. Trong cả 2 trường hợp này, có thể giả định bệnh nhân có đáp ứng miễn dịch với virus viêm gan B. Nồng độ kháng thể dưới 10 mIU/mL được cho là không có đáp ứng miễn dịch, nồng độ 10 mIU/ml được coi như giới hạn dưới của đáp ứng miễn dịch.

Nồng độ anti-HBs giảm theo thời gian sau khi tiêm mũi đầu tiên của vắc-xin virus viêm gan B. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng, nồng độ dưới mức phát hiện vẫn còn tác dụng bảo vệ trong nhiều năm, ít nhất là 10-15 năm ở bệnh nhân đã được tiêm vắc-xin miễn dịch – những người đáp ứng đầy đủ với lần tiêm chủng đầu tiên. Trên thực tế, tác dụng bảo vệ lâu dài phụ thuộc vào trí nhớ miễn dịch (immunological memory).

Do đó, hầu hết các quốc gia ngừng khuyến cáo tiêm chủng nhắc lại trên các cá thể có đáp ứng miễn dịch đầy đủ trong vòng ít nhất 15 năm sau khi tiêm chủng sơ sinh, mặc dù một vài quốc gia vẫn tiếp tục khuyến cáo. Do đó, cần tham khảo các quy định và hướng dẫn hiện hành của từng quốc gia về tần suất xét nghiệm nồng độ kháng thể cũng như lựa chọn có tiến hành tiêm chủng nhắc lại hay không

10. Lưu ý

- Kết quả xét nghiệm nên được sử dụng kết hợp với các dữ liệu lâm sàng và xét nghiệm khác để hỗ trợ các bác sĩ trong việc đưa ra các quyết định điều trị trên từng bệnh nhân

- Để thu được kết quả đáng tin cậy, yêu cầu kỹ thuật thành thạo và tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng.

- Mẫu tán huyết, mẫu vàng da hoặc mẫu nhiễm mỡ cũng như các mẫu có chứa các hạt tiểu phân hoặc nhiễm vi sinh không nên thực hiện xét nghiệm này.

- Mẫu nhiễm khuẩn hoặc đông lạnh - rã đông nhiều lần có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

- Không nên bắt hoạt bằng nhiệt đối với các mẫu huyết thanh, huyết tương

chống đông bằng EDTA hoặc mẫu nước tiểu.

- Không nên trao đổi các tích hợp giữa các dòng máy (LIAISON và LIAISON XL). Khi thuốc thử được sử dụng cho một máy phân tích cụ thể, nó phải luôn được sử dụng trên máy đó cho đến khi sử dụng hết. Do những yêu cầu về việc truy suất nguồn gốc ở trên, việc theo dõi bệnh nhân không được kết luận khi kết hợp các dòng máy khác nhau. Việc kết luận phải được tiến hành ở trên cùng một dòng máy phân tích (LIAISON hoặc LIAISON XL)

11. Lưu trữ hồ sơ

- Ghi đầy đủ thông tin bệnh nhân và bệnh phẩm vào sổ theo dõi

12. Tài liệu liên quan

- Quy trình hướng dẫn lấy mẫu bệnh phẩm

13. Tài liệu tham khảo

- Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng ban hành kèm theo quyết định 1539/QĐ-BYT ngày 20/04/2017

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
Anti -HAV MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNG

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BCKI	TP.KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích :

Phát hiện định tính kháng thể toàn phần của virus viêm gan A (anti -HAV) trong mẫu huyết tương hoặc huyết thanh người.

2. Phạm vi áp dụng

Quy trình này áp dụng cho nhân viên khoa Vi Sinh , Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát theo đúng quy định.

- Trưởng khoa và KTV trưởng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

4. Định nghĩa và viết tắt

- SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)

- KVS = Khoa Vi sinh

- ATSH = An toàn sinh học

5. Nguyên lý :

Dựa trên nguyên lý của kỹ thuật CLIA (miễn dịch hóa phát quang).

6. Trang thiết bị, hóa chất, bệnh phẩm:

6.1 Thiết bị

- Hệ thống máy miễn dịch tự động LIAISON XL

- Bộ lưu điện

- Máy ly tâm thường.

- Tủ lạnh 2 -8 độ C

6.2 Hóa chất

- Pha rắn (2,3 mL): Hạt từ phủ kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng HAV, albumin huyết thanh bò (BSA), đệm phosphat, < 0,1% natri azid.

- Chất hiệu chuẩn 1 (1,2 mL): Huyết thanh bào thai bê, anti-HAV (nồng độ cao), 0,2% ProClin 300, chất bảo quản. Nồng độ chất hiệu chuẩn được tham chiếu theo chất chuẩn quốc tế lần thứ 2 đối với globulin miễn dịch kháng virus viêm gan A của Tổ chức y tế thế giới (WHO Anti-Hepatitis A Immunoglobulin 2nd International Standard) (1998)

- Chất hiệu chuẩn 2 (1,2 mL): Huyết thanh/huyết tương người, 0,2% Proclin 300, chất bảo quản, chất nhuộm (trơ) màu xanh da trời.

- HAV (8,0 mL): HAV, huyết thanh/huyết tương người, IgG không đặc hiệu (chuột, đơn dòng), BSA, đệm HEPES, EDTA, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản, chất nhuộm trơ màu đỏ.

- Chất cộng hợp (8,0 mL): Kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng HAV liên kết với dẫn xuất isoluminol, huyết thanh/huyết tương người, huyết thanh bào thai bê, đệm phosphat, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng âm tính (2 x 3,5 ml): Huyết thanh/ huyết tương người không chứa kháng thể anti-HAV, 0,2% ProClin 300, chất bảo quản.

- Chất kiểm chứng dương tính (2 x 3,5 ml): Huyết thanh/ huyết tương người có chứa kháng thể anti-HAV (người), huyết thanh bào thai bê, 0,2% Proclin 300 và chất bảo quản.

- LIAISON Wash/system liquid: Dung dịch rửa phản ứng

- LIAISON XL Starter: Cơ chất phản ứng

- LIAISON XL Cuvettes: Giếng phản ứng cho máy LIAISON XL

- LIAISON XL Disposable Tips: Đầu côn dùng một lần sử dụng cho máy LIAISON XL.

- LIAISON Light check 12: Dung dịch kiểm tra hệ thống

- LIAISON XL Cleaning tool: Dung dịch bảo dưỡng máy hàng ngày

6.3 Bệnh phẩm

Huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh

6. Kiểm tra chất lượng

Chất chứng LIAISON nên được chạy mỗi ngày để kiểm soát việc tiến hành xét nghiệm.

(a) Ít nhất một lần 1 ngày trước khi xét nghiệm

(b) Khi thuốc thử tích hợp mới được sử dụng,

(c) Khi lô chất chuẩn mới được sử dụng

(d) Khi có lô cơ chất mới được sử dụng

(e) Để đánh giá hiệu suất của thuốc thử tích hợp ngoài 8 tuần sử dụng sử dụng, hoặc trong sự đồng ý của hướng dẫn hoặc quy định của luật địa phương hay tổ chức ban hành.

Giá trị kiểm chuẩn nằm trong dải mong muốn: khi kiểm chuẩn nằm ngoài dải mong muốn, cần hiệu chuẩn lại và kiểm chuẩn lại. Nếu giá trị kiểm chuẩn sau khi đã hiệu chuẩn thành công vẫn nằm ngoài dải thì cần làm lại quá trình kiểm chuẩn với một lọ kiểm chuẩn mới. Nếu giá trị kiểm chuẩn vẫn nằm ngoài dải, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân không được báo cáo.

Việc thực hiện của các chất hiệu chuẩn khác nên được đánh giá tính tương hợp của xét nghiệm trước khi chúng được sử dụng. Khoảng giá trị nên được thiết lập cho nguyên liệu kiểm chuẩn được sử dụng

7. An toàn

- Phải sử dụng bảo hộ cá nhân khi tiếp xúc với các bệnh phẩm và tránh nhiễm chéo và không lây nhiễm cho nhân viên y tế;

- Xử lý các mẫu bệnh phẩm theo đúng quy trình và thao tác kỹ thuật cẩn thận, không để lây nhiễm ra môi trường;

8. Nội dung thực hiện (các bước tiến hành):

9.1.Lấy bệnh phẩm

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là K3- EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm 4000 vòng trong 10 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2 - 8°C, lâu hơn cần bảo quản ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ được rã 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 2h.

9.2. Tiến hành kỹ thuật

9.2.1 Bật máy:

- Khởi động máy phân tích: Bật công tắc bên phải máy phân tích.
- Khởi động máy tính => từ màn hình máy tính chọn Liaison XL => nhập User (labadmin), Password (labadmin) => OK => Stop => Init => OK => máy chuyển về trạng thái Standby sau 2 phút => Start => Máy chuyển về trạng thái Ready sau khoảng 9 phút => sẵn sàng để chạy mẫu.

9.2.2 Kiểm tra hóa chất, vật tư tiêu hao đầu ngày:

- Vật tư tiêu hao: Từ màn hình chính => Status => Bỏ sung Cuvette, Starter, Wash/System liquid, thay túi thải Module phản ứng, đổ dịch thải.

Lưu ý: Chọn Added Bag sau khi bỏ sung cuvette, chọn Reset sau khi đổ thải rần.

- Từ màn hình chính => Loading => Reagents.

9.2.3 Chạy mẫu bệnh phẩm:

Nạp rack bệnh phẩm lên khu vực khay chứa mẫu. Màn hình chính
=>Loading>Sample => chọn đúng vị trí bệnh phẩm trên rack => nhập tên bệnh nhân
=>Schedule => chọn xét nghiệm cần làm => Store>Start.

9.2.4 Xem kết quả:

Màn hình chính => Results>All hoặc Archived (xem các kết quả đã hoàn thành)

9. Diễn giải và báo cáo kết quả

Máy phân tích tự động tính toán nồng độ anti-HAV theo giá trị index và phân loại kết quả. Tham khảo Hướng dẫn sử dụng của thiết bị để có thêm thông tin chi tiết.

Khi phân tích chất hiệu chuẩn và chất kiểm chứng trên máy LIAISON và LIAISON XL, giá trị giá trị RLU hoặc nồng độ thu được có thể khác nhau, tuy nhiên, kết quả bệnh nhân trên 2 máy là tương đương.

Giá trị ngưỡng (cut-off) phân biệt giữa sự tồn tại và không tồn tại của anti-HAV là 1 (index). Kết quả xét nghiệm nên được diễn giải như sau:

Mẫu có nồng độ anti-HAV bằng hoặc lớn hơn 1,1 (index) được phân loại là âm tính.

Mẫu có nồng độ anti-HAV nằm trong khoảng 0,9 – 1,1 (index) được phân loại là nghi ngờ. Các mẫu nghi ngờ phải được xét nghiệm lại (lặp lại 2 lần) để xác nhận lại kết quả ban đầu.

Mẫu có nồng độ anti-HAV nhỏ hơn 0,9 (index) được phân loại là dương tính

10. Lưu ý

- Kết quả xét nghiệm nên được sử dụng kết hợp với các dữ liệu lâm sàng và xét nghiệm khác để hỗ trợ các bác sĩ trong việc đưa ra các quyết định điều trị trên từng bệnh nhân

- Để thu được kết quả đáng tin cậy, yêu cầu kỹ thuật thành thạo và tuân thủ nghiêm ngặt theo hướng dẫn sử dụng.

- Mẫu tán huyết, mẫu vàng da hoặc mẫu nhiễm mỡ cũng như các mẫu có chứa các hạt tiểu phân hoặc nhiễm vi sinh không nên thực hiện xét nghiệm này.

- Mẫu nhiễm khuẩn hoặc đông lạnh - rã đông nhiều lần có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

- Không nên bất hoạt bằng nhiệt đối với các mẫu huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA hoặc mẫu nước tiểu.

- Không nên trao đổi các tích hợp giữa các dòng máy (LIAISON và LIAISON XL). Khi thuốc thử được sử dụng cho một máy phân tích cụ thể, nó phải luôn được sử dụng trên máy đó cho đến khi sử dụng hết. Do những yêu cầu về việc truy suất nguồn gốc ở trên, việc theo dõi bệnh nhân không được kết luận khi kết hợp các dòng máy khác nhau. Việc kết luận phải được tiến hành ở trên cùng một dòng máy phân tích (LIAISON hoặc LIAISON XL)

11. Lưu trữ hồ sơ

- Ghi đầy đủ thông tin bệnh nhân và bệnh phẩm vào sổ theo dõi

12. Tài liệu liên quan

- Quy trình hướng dẫn lấy mẫu bệnh phẩm

13. Tài liệu tham khảo

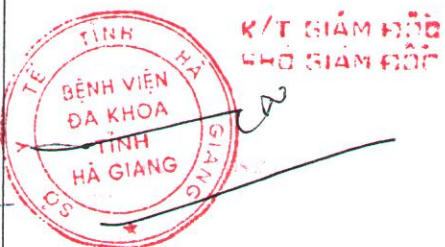
- Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng ban hành kèm theo quyết định 1539/QĐ-BYT ngày 20/04/2017

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
TEST NHANH GIANG MAI
(Malaria Pf/Pv)

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCKI	TP. KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích

Phát hiện kháng thể bao gồm IgG, IgM và IgA kháng *Treponema pallidum* (Tp) trong huyết thanh hoặc huyết tương của người. Được sử dụng để sàng lọc và hỗ trợ chẩn đoán nhiễm Tp. Bất kỳ mẫu phẩm nào có phản ứng với kit thử OnSite Syphilis Ab Rapid Test phải được khẳng định lại bằng phương xét nghiệm thay thế khác như TPHA và các biểu hiện lâm sàng

2. Phạm vi áp dụng

- Quy trình này áp dụng cho tất cả các cán bộ tại khoa Vi sinh - Bệnh viện đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát tài liệu theo đúng quy định.

- Trưởng khoa, hoặc người được ủy quyền chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình và nhận định kết quả xét nghiệm.

4. Định nghĩa và từ viết tắt

Tp: *Treponema pallidum* (xoắn khuẩn giang mai)

5. Nguyên lý:

Kit thử OnSite Syphilis Ab Rapid Test là xét nghiệm sắc ký miễn dịch hoạt động theo nguyên lý dòng chảy một chiều, que thử bao gồm: 1) vùng cộng hợp có màu đỏ tía được phủ sẵn cộng hợp vàng kháng nguyên Tp tái tổ hợp (cộng hợp Tp) và cộng hợp vàng IgG-thỏ. 2) một màng nitrocellulose chứa một vạch kết quả (vạch T) và một vạch chứng (vạch C). Vạch T được phủ sẵn kháng nguyên Tp tái tổ hợp và vạch C được phủ sẵn kháng thể dê kháng IgG-thỏ kiểm soát

6. Thiết bị và vật tư, sinh phẩm

6.1. Thiết bị, dụng cụ:

- Tủ an toàn sinh học cấp II.
- Giá/khay đựng ống nghiệm
- Ống nghiệm
- Bút kính
- Pipet
- Thiết bị đo thời gian

6.3. Sinh phẩm: Kit thử OnSite Syphilis Ab Rapid Test

7. Tiến hành kỹ thuật:

7.1 Nhận mẫu/lấy mẫu và bảo quản

Mẫu phẩm của bệnh nhân phải được xem như nguồn lây nhiễm, thực hành đúng các quy trình chuẩn về an toàn sinh học khi tiếp xúc với mẫu phẩm.

7.1.1 Huyết tương

1. Lấy mẫu máu từ tĩnh mạch vào ống nghiệm có nắp màu tím nhạt, xanh da trời hoặc màu xanh lá cây (có chứa EDTA, citrate hoặc heparin).
2. Tách huyết tương bằng cách ly tâm.
3. Cẩn thận thu lấy huyết tương vào ống nghiệm mới đã ghi nhãn.

7.1.2 Huyết thanh

1. Lấy mẫu máu từ tĩnh mạch vào ống nghiệm có nắp màu đỏ (ống Vacutainer® không chứa thuốc chống đông máu).
2. Để cho máu đông cục lại.
3. Tách huyết thanh bằng cách ly tâm.
4. Cần thận thu lấy huyết thanh vào ống nghiệm mới đã ghi nhãn.

Tiến hành xét nghiệm sau khi lấy mẫu càng nhanh càng tốt. Nếu không thể xét nghiệm ngay, mẫu phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2-8°C với thời gian tối đa 5 ngày. Để bảo quản lâu hơn, các mẫu phẩm phải được làm đông băng ở nhiệt độ -20°C.

Tránh đông băng và rã tan mẫu nhiều lần. Trước khi làm xét nghiệm, phải để mẫu tan ra hoàn toàn và lắc nhẹ. Mẫu chứa hạt nhìn thấy được cần phải làm sạch bằng ly tâm trước khi thử nghiệm. Không dùng những mẫu bị tán huyết (hemolysis) hoặc lipid huyết (gross lipemia) để tránh ảnh hưởng đến diễn giải kết quả.

7.2 Tiến hành: Đọc kỹ hướng dẫn có trong mỗi hộp sinh phẩm

Bước 1: Để mẫu phẩm, các thành phần của test thử đạt nhiệt độ phòng nếu bảo quản trong tủ lạnh hoặc đông băng. Khi rã đông, lắc đều mẫu phẩm trước khi tiến xét nghiệm.

Bước 2: Lấy ít nhất 150-200µL hoặc 3-4 giọt huyết thanh hoặc huyết tương vào dụng cụ đựng mẫu phẩm.

Bước 3:

*** *Kit thử đóng gói dạng lọ:***

- a. Với lọ mới sử dụng lần đầu, ghi ngày tháng mở nắp lọ và ngày hết hạn sử dụng lên nhãn dán trên thân lọ.
- b. Khi đã sẵn sàng làm xét nghiệm, lấy ra một lượng test thử theo nhu cầu cần dùng từ trong lọ.
- c. Ngay lập tức đóng chặt nắp lọ để ngăn ngừa nhiễm bẩn và độ ẩm. Que thử trong lọ phải được sử dụng trong vòng 30 ngày kể từ ngày lọ được mở lần đầu tiên.

*** *Kit thử đóng gói dạng hộp:***

- a. Lấy ra một lượng test thử theo nhu cầu sử dụng từ trong hộp
- b. Khi đã sẵn sàng làm xét nghiệm, lấy test thử ra khỏi túi đựng sản phẩm.

Bước 4: Nhúng test thử vào mẫu phẩm ít nhất 10 giây. Không để mẫu phẩm vượt quá vạch lấy mẫu (vạch MAX) hình mũi tên trên que thử. Trong lúc đó, bắt đầu tính thời gian.

Bước 5: Lấy que thử ra khỏi mẫu phẩm và đặt lên bề mặt phẳng, khô.

Bước 6: Đọc kết quả trong vòng 5-10 phút. Kết quả dương tính có thể xuất hiện trong vòng 1 phút.

Không đọc kết quả sau 10 phút. Để tránh nhầm lẫn, hủy test thử sau khi đọc kết quả

8. Diễn giải kết quả

ÂM TÍNH: Xuất hiện chỉ một vạch chứng C, thông báo không có kháng thể kháng Tp trong mẫu phẩm. Kết quả là âm tính hoặc không phản ứng

DƯƠNG TÍNH : Xuất hiện một vạch chứng C và một vạch kết quả T, thông báo có kháng thể kháng Tp trong mẫu phẩm. Kết quả là dương tính hoặc có phản ứng

Mẫu phẩm có kết quả dương tính phải được khẳng định lại bằng phương pháp xét nghiệm khác như xét nghiệm TPHA cùng với biểu hiện lâm sàng trước khi đưa ra chẩn đoán.

KẾT QUẢ KHÔNG CÓ GIÁ TRỊ: Nếu không thấy xuất hiện vạch chứng C, kết quả không có giá trị dù xuất vạch màu tại vạch kết quả T. Làm lại thí nghiệm với một kit thử mới

9 . Lưu ý và thận trọng

Đọc kỹ hướng dẫn sử dụng trước khi thực hiện xét nghiệm. Thao tác sai có thể cho kết quả không chính xác.

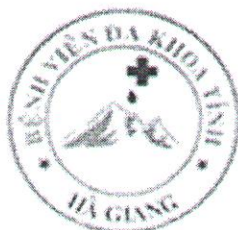
2. Chỉ lấy test thử ra khỏi túi khi đã sẵn sàng làm xét nghiệm.
3. Không sử dụng kit thử đã hết hạn sử dụng.
4. Tất cả thuốc thử phải để cho cân bằng với nhiệt độ phòng (15-30°C) trước khi sử dụng.
5. Không dùng chung thành phần của bộ kit thử này với bộ kit thử khác.
6. Không sử dụng mẫu máu bị tán huyết.
7. Mặc đồ bảo hộ và sử dụng găng dùng một lần khi thao tác với thuốc thử và mẫu lâm sàng. Rửa tay thật sạch sau khi làm xét nghiệm.
8. Người sử dụng phải tuân thủ nghiêm túc các quy định US CDC nhằm tránh lây nhiễm HIV, viêm gan B (HBV) và các mầm bệnh lây truyền qua đường máu khác.
9. Không hút thuốc, ăn uống trong khu vực xét nghiệm.
10. Tiêu hủy mẫu phẩm và các thành phần của kit thử như với các loại rác thải sinh học.
11. Thận trọng khi tiếp xúc với dung dịch chứng âm và chứng dương như với mẫu phẩm của bệnh nhân.
12. Test thử phải được đọc kết quả trong vòng 10 phút sau khi cho mẫu phẩm vào vùng nhận mẫu của kit thử. Đọc kết quả sau 10 phút có thể cho kết quả sai.
13. Không thực hiện xét nghiệm ở những nơi có luồng **gió mạnh (như dưới quạt hoặc điều hòa...).**

10. Lưu trữ hồ sơ:

- Kết quả được ghi đầy đủ, rõ ràng vào sổ giấy.
- Thời gian lưu: Sổ ghi kết quả được lưu tại khoa 1 năm, sau đó nộp lên phòng KHTH của bệnh viện.

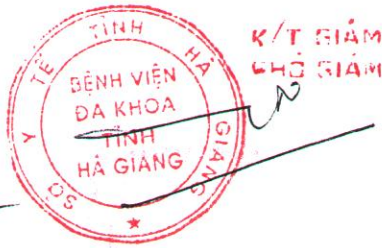
11. Tài liệu liên quan: Hướng dẫn thực hiện của nhà sản xuất

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
TEST NHANH SỐT XUẤT HUYẾT

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCKI	TP. KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích:

Định tính phát hiện kháng nguyên Dengue NS1 (DEN1, 2, 3, 4) trong huyết thanh, huyết tương máu toàn phần, của người. Được sử dụng như một cách kiểm tra sàng lọc bởi người có chuyên môn và cho kết quả xét nghiệm sơ bộ ban đầu, hỗ trợ chẩn đoán nhiễm vi-rút sốt xuất huyết Dengue.

2. Phạm vi áp dụng

- Quy trình này áp dụng cho tất cả các cán bộ tại khoa Vi sinh - Bệnh viện đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát tài liệu theo đúng quy định.

- Trưởng khoa, hoặc người được ủy quyền chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình và nhận định kết quả xét nghiệm.

4. Định nghĩa và từ viết tắt: Không

5. Nguyên lý:

Kit thử OnSite Dengue Ag Rapid Test là xét nghiệm sắc ký miễn dịch, hoạt động theo nguyên lý dòng chảy một chiều, que thử trong khay gồm: 1) vùng cộng hợp có màu đỏ tía được phủ sẵn cộng hợp kháng thể kháng kháng nguyên dengue NS1 (cộng hợp dengue Ab) và một cộng hợp kháng thể để kiểm chứng. 2) một màng nitrocellulose chứa một vạch kết quả (vạch T) và một vạch chứng (vạch C). Vạch T phủ sẵn kháng thể kháng kháng nguyên dengue NS1 và vạch chứng C được phủ sẵn một kháng thể kiểm chứng. Kháng thể kháng dengue NS1 nhận dạng được kháng nguyên từ tất cả 4 típ huyết thanh của vi rút dengue.

Kit thử OnSite Dengue Ag Rapid Test phát hiện protein NS1 trong cả 4 típ huyết thanh của vi rút dengue I, II, III và IV. Ngưỡng phát hiện là 0.25 ng/mL, được xác định dựa trên kháng nguyên NS1 tái tổ hợp từ típ huyết thanh DEN2.

6. Thiết bị và vật tư, sinh phẩm

6.1. Thiết bị, dụng cụ:

- Tủ an toàn sinh học cấp II.
- Giá/khay đựng ống nghiệm
- Ống nghiệm
- Bút kính
- Pipet
- Thiết bị đo thời gian

6.2. Sinh phẩm: Bộ kit thử

7. Kiểm soát chất lượng:

7.1 Nội kiểm: Kit thử có chức năng tự kiểm tra - vạch chứng C. Sự xuất hiện vạch chứng C chứng tỏ lượng mẫu phẩm đã đủ và quy trình thao tác xét nghiệm đúng. Nếu vạch C không xuất hiện, kiểm tra lại quy trình thao tác và xét nghiệm lại với một kit thử mới.

7.2 Ngoại kiểm: Có thể tiến hành kiểm định dương tính, âm tính tại các phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn trong các trường hợp sau:

- a. Lần đầu sử dụng kit thử, trước khi tiến hành xét nghiệm với mẫu phẩm.
- b. Sử dụng một lô kit thử mới.
- c. Hàng mới nhập về.
- d. Nhiệt độ trong quá trình bảo quản nằm ngoài khoảng 2-30°C.
- e. Nhiệt độ khu vực thực hiện xét nghiệm nằm ngoài khoảng 15-30°C.
- f. Khi số lượng kết quả dương tính hoặc âm tính cao hơn kết quả kỳ vọng thường xảy ra.
- g. Điều tra nguyên nhân gây ra việc liên tục gặp các kết quả không có giá trị.

8. Tiến hành kỹ thuật:

8.1 Nhận mẫu/lấy mẫu: Mẫu phẩm của bệnh nhân phải được xem như nguồn lây nhiễm, thực hành đúng các quy trình chuẩn về an toàn sinh học khi tiếp xúc với mẫu phẩm.

8.1.1 Huyết tương/Huyết thanh

Bước 1: Lấy mẫu máu từ tĩnh mạch vào ống nghiệm có chứa EDTA, citrate với mẫu huyết tương hoặc ống nghiệm không chứa thuốc chống đông máu với mẫu huyết thanh..

Bước 2: Tách huyết tương bằng cách ly tâm và cẩn thận thu lấy huyết tương vào ống nghiệm mới đã ghi nhãn.

Bước 3: Tách huyết thanh bằng cách ly tâm và cẩn thận thu lấy huyết thanh vào ống nghiệm mới đã ghi nhãn. Tiến hành xét nghiệm sau khi lấy mẫu càng nhanh càng tốt. Nếu không thể xét nghiệm ngay, mẫu phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2-8°C với thời gian tối đa 5 ngày. Để bảo quản lâu hơn, các mẫu phẩm phải được làm đông băng ở nhiệt độ -20°C.

Tránh đông băng và rã tan mẫu nhiều lần. Trước khi làm xét nghiệm, phải để mẫu tan ra hoàn toàn và lắc nhẹ. Mẫu chứa hạt nhìn thấy được cần phải làm sạch bằng ly tâm trước khi thử nghiệm.

Không dùng những mẫu bị tán huyết (hemolysis) hoặc lipid huyết (gross lipemia) để tránh ảnh hưởng đến diễn giải kết quả.

8.1.2 Máu toàn phần

+ Lấy máu toàn phần từ tĩnh mạch vào ống nghiệm có chứa chất chống đông máu EDTA, citrate hoặc heparin. Máu máu toàn phần có thể lấy từ tĩnh mạch hoặc từ đầu ngón tay.

+ **Mẫu máu phải được xét nghiệm trong vòng 24 tiếng đồng hồ sau khi lấy mẫu.**

Mẫu phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2-8°C với thời gian tối đa 3 ngày. Để bảo quản lâu hơn, các mẫu phẩm phải được làm đông băng và giữ ở nhiệt độ dưới -20°C. Tránh đông băng và ra tan mẫu nhiều lần.

+ Ống bệnh phẩm phải được ghi đầy đủ thông tin như họ tên, tuổi, số giường, buồng, khoa/phòng

+ Chỉ định phù hợp, cần ghi rõ thời gian lấy mẫu, nhiệt độ người bệnh lúc lấy mẫu

+ Chú ý: Không sử dụng mẫu máu đã bị tan huyết

8.2 Tiến hành: Đọc kỹ hướng dẫn có trong mỗi hộp sinh phẩm

Bước 1: Để mẫu phẩm, các thành phần của test thử đạt nhiệt độ phòng nếu bảo quản trong tủ lạnh hoặc đông băng. Khi rã đông, lắc đều mẫu phẩm trước khi tiến xét nghiệm.

Bước 2: Khi đã sẵn sàng xét nghiệm, lấy test thử ra khỏi túi đựng sản phẩm và đặt test thử trên mặt phẳng nằm ngang khô và sạch.

Bước 3: Đánh dấu test thử tương ứng với mã bệnh nhân.

Bước 4: Lấy mẫu phẩm vào ống nhỏ giọt.

Giữ ống nhỏ giọt thẳng đứng, nhỏ 2 giọt (khoảng 60 μ L) huyết thanh/huyết tương hoặc 2 giọt máu toàn phần (khoảng 70 μ L) vào ô nhận mẫu, chắc chắn không có bọt khí.

Tiếp theo giữ lọ dung dịch pha mẫu thẳng đứng và nhỏ ngay 1 giọt (khoảng 30-40 μ L) dung dịch pha mẫu vào ô nhận mẫu.

Bước 5: Bắt đầu tính thời gian.

9. Diễn giải kết quả

ÂM TÍNH: Xuất hiện chỉ một vạch chứng C. Thông báo không có kháng nguyên dengue NS1 trong mẫu phẩm. Kết quả là âm tính hoặc không phản ứng.

DƯƠNG TÍNH: Xuất hiện một vạch chứng C và một vạch kết quả T: Thông báo có kháng nguyên dengue NS1 trong mẫu phẩm. Kết quả là dương tính hoặc có phản ứng. Mẫu phẩm có kết quả dương tính phải được khẳng định lại bằng phương pháp xét nghiệm khác cùng với biểu hiện lâm sàng trước khi đưa ra chẩn đoán.

KẾT QUẢ KHÔNG CÓ GIÁ TRỊ: Nếu không thấy xuất hiện vạch chứng C, kết quả không có giá trị dù xuất hiện vạch kết quả G, M, T màu đỏ tía như hình minh họa bên dưới. Làm lại thí nghiệm với một kit thử mới.

10 . Lưu ý và thận trọng

Chỉ sử dụng kit thử cho xét nghiệm chẩn đoán In-vitro

Hướng dẫn sử dụng phải được đọc trọn vẹn trước khi thực hiện xét nghiệm. Thao tác sai có thể cho kết quả không chính xác.

Chỉ lấy test thử ra khỏi túi khi đã sẵn sàng làm xét nghiệm.

Không sử dụng kit thử đã hết hạn sử dụng.

Tất cả thuốc thử phải để cho cân bằng với nhiệt độ phòng (15-30°C) trước khi sử dụng.

Không dùng chung thành phần của bộ kit thử này với bộ kit thử khác.

Không sử dụng mẫu máu bị tán huyết.

Mặc đồ bảo hộ và sử dụng găng dùng một lần khi thao tác với thuốc thử và mẫu lâm sàng. Rửa tay thật sạch sau khi làm xét nghiệm.

Người sử dụng phải tuân thủ nghiêm túc các quy định US CDC nhằm tránh lây nhiễm

HIV, viêm gan B (HBV) và các mầm bệnh lây truyền qua đường máu khác.

Không hút thuốc, ăn uống trong khu vực xét nghiệm.

Tiêu hủy mẫu phẩm và các thành phần của kit thử như với các loại rác thải sinh học khác để tránh nguy cơ lây nhiễm.

Thận trọng khi tiếp xúc với dung dịch chứng âm và chứng dương như với mẫu phẩm của bệnh nhân.

Kết quả phải được đọc trong vòng 20-25 phút sau khi cho mẫu phẩm vào kit thử. Mọi kết quả đọc ngoài khoảng 20-25 phút đều được xem là không có giá trị và phải làm lại xét nghiệm.

Không thực hiện xét nghiệm ở những nơi có luồng gió mạnh (như dưới quạt hoặc điều hòa...)

11. Lưu trữ hồ sơ:

- Kết quả được ghi đầy đủ, rõ ràng vào sổ giấy.
- Thời gian lưu: Sổ ghi kết quả được lưu tại khoa 1 năm, sau đó nộp lên phòng KHTH của bệnh viện.

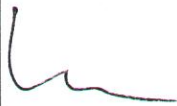
12. Tài liệu liên quan: Hướng dẫn thực hiện của nhà sản xuất

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT TEST NHANH SỐT RÉT
(Malaria Pf/Pv)

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCI	TP.KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 K/T GIÁM ĐỐC PHÒNG GIÁM ĐỐC Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích

- Phát hiện ký sinh trùng sốt rét trong máu

2. Phạm vi áp dụng

- Quy trình này áp dụng cho tất cả các cán bộ tại khoa Vi sinh - Bệnh viện đa khoa tỉnh Hà Giang.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát tài liệu theo đúng quy định.
- Trưởng khoa, hoặc người được ủy quyền chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình và nhận định kết quả xét nghiệm.

4. Định nghĩa và từ viết tắt

- Pf/pv: Plasmodium falciparum/plasmodium vivax
- P. falciparum: Plasmodium falciparum
- P. vivax: plasmodium vivax

5. Nguyên lý:

Kit thử OnSite Malaria Pf/Pv Rapid Test là dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, theo nguyên lý dòng chảy một chiều, định tính phát hiện đồng thời và phân biệt kháng nguyên các chủng ký sinh trùng P. falciparum và/ hoặc P. vivax trong máu toàn phần gây bệnh sốt rét. Được sử dụng như một cách kiểm tra sàng lọc, hỗ trợ chẩn đoán nhiễm vi-rút gây bệnh sốt rét. Mọi mẫu bệnh phẩm có phản ứng với kit thử OnSite Malaria Pf/Pv Rapid Test phải được khẳng định lại bằng phương pháp xét nghiệm khác cùng với biểu hiện lâm sàng.

6. Thiết bị và vật tư, sinh phẩm

6.1. Thiết bị, dụng cụ:

- Tủ an toàn sinh học cấp II.
- Giá/khay đựng ống nghiệm
- Ống nghiệm
- Bút kính
- Pipet
- Thiết bị đo thời gian

6.3. Sinh phẩm: Kit thử OnSite Malaria Pf/Pv Rapid Test

7. Tiến hành kỹ thuật:

7.1 Nhận mẫu/lấy mẫu:

- + Lấy máu toàn phần từ tĩnh mạch vào ống nghiệm có chứa chất chống đông máu EDTA, citrate hoặc heparin. Máu máu toàn phần có thể lấy từ tĩnh mạch hoặc từ đầu ngón tay.

+ Mẫu phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2-8°C với thời gian tối đa 3 ngày. Để bảo quản lâu hơn, các mẫu phẩm phải được làm đông băng và giữ ở nhiệt độ dưới -20°C. Tránh đóng băng và ra tan mẫu nhiều lần.

+ Ống bệnh phẩm phải được ghi đầy đủ thông tin như họ tên, tuổi, số giường, buồng, khoa/phòng

+ Chỉ định phù hợp, cần ghi rõ thời gian lấy mẫu, nhiệt độ người bệnh lúc lấy mẫu

7.2 Tiến hành: Đọc kỹ hướng dẫn có trong mỗi hộp sinh phẩm

Bước 1: Để mẫu phẩm, các thành phần của test thử đạt nhiệt độ phòng nếu bảo quản trong tủ lạnh hoặc đông băng. Khi rã đông, lắc đều mẫu phẩm trước khi tiến xét nghiệm.

Bước 2: Khi đã sẵn sàng xét nghiệm, lấy test thử ra khỏi túi đựng sản phẩm và đặt test thử trên mặt phẳng nằm ngang khô và sạch.

Bước 3: Đánh dấu test thử tương ứng với mã bệnh nhân.

Bước 4: Lấy mẫu phẩm (máu toàn phần) vào dụng cụ lấy mẫu (khuyến lấy mẫu, ống nhỏ giọt, ống hút mao dẫn), mẫu không vượt quá vạch lấy mẫu như hình minh họa. Lượng mẫu khoảng 5 μ L.

Bước 5: Bắt đầu tính thời gian.

Bước 6: Đọc kết quả trong vòng 30 phút. Có thể cần đến hơn 20 phút để có thể quan sát rõ vùng đọc kết quả.

Lưu ý: Thực hành thao tác lấy mẫu vài lần trước khi tiến hành xét nghiệm nếu bạn chưa sử dụng thành thạo dụng cụ lấy mẫu. Để lấy mẫu chính xác hơn, truyền 5 μ L mẫu phẩm bằng pipette định lượng. Cầm dụng cụ lấy mẫu (khuyến lấy mẫu, ống nhỏ giọt, ống hút mao dẫn) thẳng đứng và truyền toàn bộ mẫu phẩm vào ô nhận mẫu (S) của test thử. Tiếp tục nhỏ ngay 2 giọt dung dịch li giải (khoảng 50-100 μ L) vào ô nhận dung dịch li giải (B).

8. Diễn giải kết quả

ÂM TÍNH: Xuất hiện chỉ một vạch chứng C. Không thấy xuất hiện vạch kết quả (Pf và Pv) màu đỏ tía, thông báo không có kháng nguyên plasmodium trong mẫu phẩm. Kết quả là âm tính

DƯƠNG TÍNH Pv:

Xuất hiện một vạch chứng C và một vạch kết quả Pv, thông báo có kháng nguyên Pv-LDH trong mẫu phẩm. Kết quả là dương tính Pv.

DƯƠNG TÍNH Pf:

Xuất hiện một vạch chứng C và một vạch kết quả Pf. Thông báo có kháng nguyên pHRP-II trong mẫu phẩm. Kết quả là dương tính Pf.

DƯƠNG TÍNH Pv & Pf:

Xuất hiện một vạch chứng C, một vạch kết quả Pv và một vạch kết quả Pf, thông báo có cả kháng nguyên Pv-LDH và pHPR-II trong mẫu phẩm. Kết quả là dương tính Pv & Pf. Mẫu phẩm có kết quả dương tính phải được khẳng định lại bằng phương pháp xét nghiệm khác cùng với biểu hiện lâm sàng trước khi đưa ra chẩn đoán.

KẾT QUẢ KHÔNG CÓ GIÁ TRỊ: Nếu không thấy xuất hiện vạch chứng C, kết quả không có giá trị dù xuất hiện bất kỳ vạch kết quả nào màu đỏ tía như hình minh họa bên dưới.

9. Lưu ý và thận trọng

- Chỉ sử dụng kit thử cho xét nghiệm chẩn đoán In-vitro
- Hướng dẫn sử dụng phải được đọc trọn vẹn trước khi thực hiện xét nghiệm.

Thao tác sai có thể cho kết quả không chính xác.

- Chỉ lấy test thử ra khỏi túi khi đã sẵn sàng làm xét nghiệm.
- Không sử dụng kit thử đã hết hạn sử dụng.
- Tất cả thuốc thử phải để cho cân bằng với nhiệt độ phòng (15-30°C) trước khi sử dụng.
- Không dùng chung thành phần của bộ kit thử này với bộ kit thử khác.
- Không sử dụng mẫu máu bị tán huyết.
- Mặc đồ bảo hộ và sử dụng găng dùng một lần khi thao tác với thuốc thử và mẫu lâm sàng. Rửa tay thật sạch sau khi làm xét nghiệm.
- Người sử dụng phải tuân thủ nghiêm túc các quy định US CDC nhằm tránh lây nhiễm HIV, viêm gan B (HBV) và các mầm bệnh lây truyền qua đường máu khác.
- Không hút thuốc, ăn uống trong khu vực xét nghiệm.
- Tiêu hủy mẫu phẩm và các thành phần của kit thử như với các loại rác thải sinh học khác để tránh nguy cơ lây nhiễm.
- Thận trọng khi tiếp xúc với dung dịch chứng âm và chứng dương như với mẫu phẩm của bệnh nhân.
- Kết quả xét nghiệm phải được trong vòng 30 phút sau khi cho mẫu phẩm vào kit thử. Đọc kết quả sau 30 phút có thể cho kết quả sai.
- Không thực hiện xét nghiệm ở những nơi có luồng gió mạnh (như dưới quạt hoặc điều hòa...).

- Bảo quản sinh phẩm

11. Lưu trữ hồ sơ:

- Kết quả được ghi đầy đủ, rõ ràng vào sổ giấy.
- Thời gian lưu: Sổ ghi kết quả được lưu tại khoa 1 năm, sau đó nộp lên phòng KHTH của bệnh viện.

12. Tài liệu liên quan: Hướng dẫn thực hiện của nhà sản xuất

SỞ Y TẾ TỈNH HÀ GIANG
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG



QUY TRÌNH KỸ THUẬT
CHẨN ĐOÁN NHIỄM COVID-19 (SARS-CoV-2)

Mã số: VS – QTKT - 03
Lần ban hành: 01
Ngày ban hành: 31/7/2020

Trách nhiệm	Soạn thảo	Soát xét	Phê duyệt
Chức vụ	BSCI	TP.KHTH	GIÁM ĐỐC
Chữ ký			 Bs CKII. Vũ Hùng Vương
Họ tên	Nguyễn Thị Hoài Linh	Đỗ Văn Nghĩa	

1. Mục đích :

Quy trình xét nghiệm chẩn đoán COVID-19 (SARS-CoV-2) đưa ra tiêu chuẩn xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền COVID 19 (SARS-CoV-2) bằng phương pháp chẩn đoán sinh học phân tử Realtime RT-PCR sử dụng sinh phẩm WizDx CrystalMix PCR KIT hãng WIZBIOSOLUTION (hàn quốc).

2. Phạm vi áp dụng

- Quy trình này áp dụng cho toàn bộ nhân viên khoa vi sinh.
- Quy trình này áp dụng cho mẫu bệnh phẩm đường hô hấp được thu thập từ bệnh nhân nghi nhiễm COVID-19.

3. Trách nhiệm

- Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát theo đúng quy định và đảm bảo an toàn sinh học cấp 2.
- Trưởng khoa và KTV trưởng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình.

4. Định nghĩa và viết tắt

- SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)
- KVS= Khoa Vi sinh
- ATSH = An toàn sinh học

5. Nguyên lý :

Sinh phẩm WizDx CrystalMix PCR KIT của hãng WIZBIOSOLUTION (hàn quốc) là sinh phẩm Realtime RT-PCR đông khô chứa primer và probe đặc hiệu để khuếch đại gen E và gen RdRp của SARS-CoV-2. Để chẩn đoán SARS-CoV-2 cần sử dụng cả 2 loại sinh phẩm phát hiện gen E và gen RdRp.

6. Trang thiết bị, hóa chất, bệnh phẩm:

6.1.Trang thiết bị:

- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Tủ lạnh lưu mẫu chứng dương -20°C
- Máy Spindown
- Máy Vortex
- Pipet 10-100µl
- Pipet 0.5-10µl
- Đầu tip 10µl
- Đầu tip 200µl
- Đồ bảo hộ (quần áo, mũ, kính, khẩu trang, găng tay) sử dụng 1 lần
- Hệ thống WizDx™ F-50 PCR hãng WIZBIOSOLUTION (hàn quốc)

6.2. Hóa chất sinh phẩm:

- WizDx™ COVID-19 (E) CrystalMix PCR kit phát hiện gen E gồm :

- COVID-19 (E) CrystalMix : 24 ống
- Chứng dương COVID-19 (E) : 01 ống
- Nước cất không chứa Rnase : 01 ống
- Dung dịch A : 24 ống
- Dung dịch B : 24 ống
- PCR chip : 05 chip

- WizDx™ COVID-19 (RdRp) CrystalMix PCR kit phát hiện gen RdRp gồm:

- COVID-19 (RdRp) CrystalMix : 24 ống
- Chứng dương COVID-19 (RdRp) : 01 ống
- Nước cất không chứa Rnase : 01 ống
- Dung dịch A : 24 ống
- Dung dịch B : 24 ống
- PCR chip : 05 chip

6.3. Bệnh phẩm:

Bệnh phẩm đường hô hấp là que tăm bông ngoáy họng hoặc tỵ hầu

7. Kiểm tra chất lượng

Hộp sinh phẩm được đóng gói cẩn thận, không bị rách, hở, thiếu sinh phẩm, đảm bảo về hạn sử dụng và quy cách bảo quản.

8. An toàn

Thực hiện kỹ thuật hoàn toàn trong tủ an toàn sinh học cấp 2

9. Nội dung thực hiện (các bước tiến hành)

9.1. Chuẩn bị phản ứng:

- Chuẩn bị sơ đồ phản ứng, ghi tên các mẫu cần chạy trên 1 PCR chip theo từng vị trí tương ứng với số giếng trên chip.

- Tăm bông chứa bệnh phẩm được đưa vào dung dịch A, cắt phần cán tăm bông thừa bỏ đi. Đóng nắp, trộn đều bằng máy vortex hoặc lắc đảo ngược 15 lần.

- Để dung dịch A đã có bệnh phẩm 5 phút ở nhiệt độ phòng.

- Chuyển 200 μ l hỗn hợp ở dung dịch A sang dung dịch B, đóng nắp, trộn đều bằng cách lắc đảo ngược 15 lần

- Chuyển 10 μ l ở dung dịch B vào tuýp sinh phẩm đông khô, trộn đều bằng pipet cho tới khi hòa tan hoàn toàn

- Chuyển 10 µl dung dịch từ tuýp sinh phẩm đông khô đã hòa tan vào giếng trên chip

- Mẫu chứng âm: nhỏ 10 µl nước cất không chứa Rnase vào tuýp sinh phẩm đông khô rồi làm tương tự như đối với RNA bệnh phẩm (Thực hiện sau khi nhỏ hết các mẫu bệnh phẩm cần phân tích rồi nhỏ tới mẫu chứng âm lên giếng của PCR chip).

- Mẫu chứng dương:

o Trước khi sử dụng mẫu chứng dương: thêm 50 µl nước cất vào dung dịch chứa mẫu chứng dương, trộn đều để hòa tan hoàn toàn mẫu chứng dương. Sau khi sử dụng bảo quản ở nhiệt độ - 20°C.

o Sau khi pha mẫu chứng dương xong : nhỏ 10 µl mẫu chứng dương vào tuýp sinh phẩm đông khô rồi làm tương tự như với mẫu RNA bệnh phẩm (**khi nhỏ mẫu chứng dương cần làm ở khu vực khác so với khi làm mẫu bệnh phẩm và mẫu chứng âm**).

- Tiếp tục thực hiện lại các bước của que tăm bông chứa bệnh phẩm cho tới khi nhỏ hết dung dịch chứa bệnh phẩm vào các giếng trên PCR chip.

- Dán Chip bằng miếng dán đi kèm trong bộ sinh phẩm sao cho góc khuyết của miếng dán tương ứng với vị trí số 1 trên Chip.

9.2. Thực hiện phản ứng:

- Bật công tắc nguồn của máy WizDx™ F-50 PCR

- Mở khay chứa Chip, đưa Chip vào máy, đóng khay chứa Chip.

- Mở chương trình “WizDx Recorder” trên máy tính => “ setting” => “ Device port 1” => “ Chip Monitor”

- Trên máy PCR : dùng nút tròn bấm chọn “ set Chip”, khi đó màn hình sẽ hiện “ LED ON”

- Trên máy tính điều chỉnh các ô chữ nhật màu đỏ vào vị trí mong muốn, tránh nơi có bọt khí bằng cách click chuột phải vào ô màu đỏ và di chuyển khi đó ô màu đỏ sẽ chuyển sang màu xanh, sau đó click chuột phải để kết thúc. Làm tương tự với các ô còn lại. sau khi kết thúc điều chỉnh , nhấn “STOP” => “CLOSE” để đóng cửa sổ setting

- Trên máy PCR bấm nút tròn để trở thành “ LED OFF”

- Kiểm tra tín hiệu “Device Connected” máy tính và máy PCR kết nối với nhau thể hiện ở tín hiệu nhấp nháy màu đỏ của “Device Connected”

- Đổi tên mẫu trên máy tính tương ứng với sơ đồ phản ứng

- Trên máy PCR bấm nút tròn để chọn “Load Protocol” => “P 01: PCR” để kiểm tra chu trình nhiệt => bấm “START/STOP” khi đó đèn ở nút tròn chuyển sang màu đỏ
- Nhập tên mẫu vào chương trình trên máy tính
- Xem thời gian trên máy PCR để biết thời gian chạy phản ứng, khi kết thúc phản ứng sẽ có tiếng “Bip” báo hiệu.
- Kết quả được hiển thị trên máy tính.

10. Diễn giải và báo cáo kết quả

- Đọc giá trị “Ct” trên chương trình “WizDx Recorder” trên máy tính của chứng âm và chứng dương
- Đọc giá trị “Ct” trên chương trình “WizDx Recorder” trên máy tính của mẫu bệnh phẩm :
 - o Nếu Ct = 0 : âm tính
 - o Nếu Ct > 0 : dương tính

11. Lưu ý

Thực hiện toàn bộ kỹ thuật trong tủ an toàn sinh học cấp 2

12. Lưu trữ hồ sơ

Lưu kết quả sẽ chạy trên máy tính, ghi kết quả ra sơ đồ phản ứng

13. Tài liệu liên quan

14. Tài liệu tham khảo

- Hướng dẫn sử dụng hệ thống WizDx™ F- 50 PCR của hãng WIZBIOSOLUTION (hàn quốc)
- Quy trình chẩn đoán nhiễm COVID-19 (SARS-CoV-2) bằng sinh phẩm WizDx CrystalMix PCR KIT hãng WIZBIOSOLUTION (hàn quốc) từ mẫu bệnh phẩm lâm sàng.

